

THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE DE NANTES

ECOLE DOCTORALE N° 605

Biologie Santé

Spécialité : Physiopathologie, microbiologie, nutrition

Par

Amélie LÊ

« Étude de l'impact d'une supplémentation anténatale en prébiotiques sur le développement d'une colite et des fonctions intestinales associées dans un modèle murin »

Thèse présentée et soutenue à Nantes, le 10/12/2021

Unité de recherche : Inserm UMR 1235 – TENS

Rapporteurs avant soutenance :

François BLACHIER DR, Université Paris-Saclay/AgroParisTech/INRAE, Paris
Muriel THOMAS DR, Micalis/INRAE, Paris

Composition du Jury :

Président : Sophie BROUARD
Examineurs : Sophie BROUARD
Harry SOKOL

DR, Université de Nantes/Inserm/ITUN/CHU-CRTI, Nantes
DR, Université de Nantes/Inserm/ITUN/CHU-CRTI, Nantes
PU-PH, INRAE Micalis/Inserm/Sorbonne Université, Paris

Dir. de thèse : Malvyne ROLLI-DERKINDEREN
Co-enc. de thèse : Marie BODINIER

DR, Inserm UMR 1235-TENS, Nantes
DR, INRAE UR 1268, Nantes

Invité(s)

Michel Neunlist

DR, Inserm UMR 1235-TENS, Nantes

Remerciements

Je suis arrivée à Nantes il y a près de 3 ans, heureuse d'occuper une nouvelle niche écologique au sein du laboratoire Inserm TENS et de manière transitoire au laboratoire INRAE BIA. Je n'oublierai pas les interactions que j'ai eues avec chacun des membres de ces communautés, dont la bienveillance, l'entraide, et les qualités humaines m'ont permis d'évoluer à la fois sur le plan scientifique et humain.

Je tiens à remercier Malvyne, Marie, Michel, i.e. les trois organismes prépondérants (dits M³) de mon encadrement. Ensemble, nous avons relevé le défi d'appréhender ce projet à multiples acteurs, où l'organisation et la communication en son sein se sont avérées complexes. Je remercie en particulier Malvyne, pour m'avoir toujours poussée à aller au bout de ma réflexion, et pour sa disponibilité à n'importe quel horaire. Un grand merci à Marie pour m'avoir fait découvrir des méthodologies de travail différentes et pour ses corrections exhaustives. De même, *vielen Dank* à Michel pour ses conseils et sa prise de recul, qui permettent une réflexion globale pertinente sur le projet.

Mes remerciements vont également à Carine, sans qui je ne serais pas là (#INSA), qui m'a toujours épaulée et qui m'a fait découvrir le monde merveilleux de la vulgarisation scientifique. Un grand merci à mes camarades MiBioGate Aurélie, Alexandre, Eléonore et Johanna pour avoir partagé avec moi cette aventure.

Milles mercis à Amandine, pour ton soutien et ta présence sans faille lors des intensives protocoles expérimentaux. Ta joie de vivre et ton humour ont rendu ces soirées studieuses plus lumineuses. Merci infiniment à Philippe Aubert, dont la rigueur et l'organisation ont été la clé de voûte de tous mes protocoles. Je suis aussi très reconnaissante de l'aide que m'ont apporté mes stagiaires, Cécile et Edwige, à mon projet. Je remercie vivement toute l'équipe/famille Inserm TENS, toujours dans l'entraide et la bonne humeur, et en particulier ma petite équipe avec Emilie et Marine pour leur soutien déterminant. Un très grand merci à Katy et Karelle pour leur punch et leur aide si précieuse. J'ai découvert aussi à l'INRAE des personnes pleines d'énergie que je remercie chaudement, dont Carole, Anaïs, Marion, Gregory et Barbara.

Mon homéostasie a été assurée par tous les bons moments (et goûters) passés avec les jeunes du laboratoire, dont les anciens : Julie, Lucille, Morgane LG, Marie, Anaïs, Claire, Camille, Nora, Michelle, Alice ; et les actuels : Morgane LD, Killian, Chloé, Rodrigue, Adrien, Lisa. Un grand merci à Jacques, qui sous un air faussement détaché, m'a toujours aidé. *Grazie mille* Martina, pour ton amitié et ta confiance au-delà des frontières. Je remercie aussi Elise, ma première amie sur Nantes, pour avoir contribué à me faire sentir chez moi ici, pour ses *fun scientific facts* et nos soirées jeux.

Je remercie grandement mes amis probiotiques commensaux de France et d'ailleurs, qui me permettent d'avancer, qu'importent les attaques de pathogènes ou les stimuli négatifs. Votre écoute dépourvue de jugement, votre force et vos encouragements m'ont permis de garder confiance. En cela, je remercie en particulier Rachel et Perle. Ma reconnaissance va à ma famille, pour leur amour et pour m'avoir appris le sens du travail et des valeurs morales. Et bien évidemment, merci à Olivier. Ma symbiose, mon évidence, merci pour toutes les couleurs que tu apportes à ma vie.

Sommaire

Sommaire	2
Liste des publications, communications orales et posters	5
Liste des activités complémentaires.....	6
Abréviations.....	7
Liste des figures	9
Introduction générale.....	11
Etude bibliographique.....	12
1. Définition générale des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.....	12
A. Caractéristiques générales	12
B. Diagnostic et suivi d'une MICI.....	14
C. Epidémiologie.....	15
D. Impact psychosocial et sociétal	17
1) Impact psychosocial des MICI.....	17
2) Coûts	18
2. Physiopathologie.....	19
A. Physiologie générale de l'intestin.....	19
1) Organisation générale	19
2) Fonction principale de l'intestin : la digestion et l'absorption	20
B. Barrière épithéliale intestinale	21
1) Composition	21
2) Fonctions de la BEI.....	32
3) Dégradation de la BEI dans les MICI.....	37
C. Microbiote intestinal	40
1) Organisation spatiale du microbiote intestinal : focus sur les bactéries	41
2) Composition du microbiote intestinal.....	41
3) Mise en place du microbiote intestinal bactérien.....	49
4) Fonctions, focus sur le côlon.....	51
5) Dysbiose dans les MICI.....	60
D. Système immunitaire intestinal.....	65
1) Composition	65
2) Système immunitaire inné.....	68
3) Système immunitaire adaptatif.....	71
4) Modification du système immunitaire en MICI.....	74

E. Système nerveux entérique.....	78
1) Innervation extrinsèque : axe intestin-cerveau.....	78
2) Composition du SNE.....	79
3) Fonctions du SNE.....	80
4) Dérégulation du SNE dans les MICI	83
3. Étiologie des MICI.....	85
A. Facteurs génétiques et épigénétiques	86
1) Facteurs génétiques.....	86
2) Facteurs épigénétiques.....	87
B. Facteurs environnementaux.....	88
1) Généralités	88
2) Alimentation.....	89
C. Importance des facteurs environnementaux à un stade précoce de la vie dans l'induction d'une MICI : concept de DOHaD.....	89
1) DOHaD.....	89
2) Reprogrammation in utero	89
3) Alimentation maternelle.....	90
4) Modèle « Triple Environmental Hit » dans les MICI	90
4. Stratégies thérapeutiques	91
A. Arsenal thérapeutique actuel	91
1) Médicaments.....	91
2) Chirurgie.....	93
B. Modulation du microbiote intestinal pour les MICI	93
Revue sur les pre-, pro-, syn- or probiotics.....	95
ABSTRACT.....	96
INTRODUCTION.....	97
MICROBIOTA-BASED INTERVENTIONS	99
PREBIOTICS	100
PROBIOTICS.....	111
POSTBIOTICS.....	121
SYNBIOTICS.....	145
DIET	152
GENERAL CONCLUSION.....	160
BIBLIOGRAPHY.....	162
Objectifs.....	181

Résultats.....	181
A. Résumé de l'article.....	181
B. Article	183
Discussion et perspectives	225
1. L'essentiel des objectifs et résultats	225
2. Un retour sur les concepts clés de la littérature	226
3. Les hypothèses mécanistiques de l'empreinte et de la colite exacerbée.....	229
4. Aux limites de l'étude.....	233
A. Choix de la modulation du microbiote	233
B. Choix du modèle animal de MICI	234
C. Système biologiques impactés dans les MICI	236
5. Les perspectives	236
Conclusion.....	239
Références	240

Liste des publications, communications orales et posters

Liste des publications, communications orales et posters

Publications

- Article « Maternal exposure to prebiotics exacerbates colitis development in offspring mice », soumis à « Journal of Crohn's and Colitis », 2021
- Revue « Inflammatory bowel disease therapeutic strategies by modulation of the microbiota: how and when to introduce pre-, pro-, syn- or postbiotics? », proposé à « The American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology », 2021

Titres associés aux communications orales et posters

- « Maternal exposure to GOS/inulin sensitizes male offspring to colitis development in mice »
- « Maternal exposure to a mixture of prebiotics fosters colitis development in offspring mice »

Communications orales

- « Journée de Laënnec » : 2019 (Nantes). Prix de la meilleure communication dans la catégorie scientifique.
- Congrès MiBioGate : 2019, 2020, 2021 (Nantes + distanciel)
- Congrès GFNG : 2019, 2021 (Toulouse, Rennes)

Posters

- Congrès UEGW : 2019 (Barcelone)
- Congrès FNM2020 : 2021 (distanciel)
- Congrès Gastronauts : 2021 (distanciel)
- Congrès IHMC : 2021 (distanciel)

Liste des activités complémentaires

Diffusion de la culture scientifique (vulgarisation)

- Bénévole à la « Fête de la Science » : 2018, 2019, 2020 (Nantes)
→ Animation de stand, intervention auprès de collégiens sur les thématiques d'étude du laboratoire Inserm UMR1235.
- Bénévole aux « Utopiales » : 2018, 2019 (Nantes)
→ Animation de stand sur l'intestin avec une vidéo en réalité virtuelle.
- Nuit blanche des chercheurs 2021 :
→ Vidéo teaser par Magenta Films et podcast par le Labo des savoirs sur le thème de l'imprévu.
- Labo des savoirs pour MiBioGate 2021 :
→ Podcast format « table ronde » sur effectuer un doctorat et ses implications.

Encadrement de stagiaires

« Impact d'un enrichissement en prébiotiques à la mère sur le développement de colite de la descendance ».

- Cécile Chatras, étudiante en L3 (~140 heures, 2020).
- Edwige Pinsard, étudiante en M1 (~2 mois, 2021).

Abréviations

5-ASA : 5-aminosalicylique	GDNF : neurotrophique dérivé des cellules gliales
5-HT : 5-hydroxytryptamine	GF : germ-free
ACh : acétylcholine	GFAP : protéine acide fibrillaire gliale
ACSL : acyl-coenzyme A synthétase à longue chaîne	GI : gastro-intestinal
ADN : acide désoxyribonucléique ss- pour simples brins et ds pour doubles brins	GLUT2 : transporteur de glucose 2
AGCC : acides gras à chaîne courte	GOS : galacto-oligosaccharide
AGPI : acides gras polyinsaturés	GPCR : récepteurs couplés aux protéines G
AHR : récepteur d'aryl hydrocarbène	Gsdmd : gasdermine D
AIEC : adhérente-invasive <i>Escherichia coli</i>	GTP : guanosine triphosphate
AMP : adénosine monophosphate	HAT : histone acétyltransférase
APC : cellule présentatrice d'antigène	HBD1 : gène codant la β -défensine 1 humaine
ARN : acide ribonucléique -r pour ribosomal, -m pour messenger	HDAC : histone désacétylase
ASCA : anticorps anti- <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	HMGB1 : high mobility group box 1
BEI : barrière épithéliale intestinale	HMO : oligosaccharides du lait humain
BMP2 : protéine morphogénétique osseuse 2	IDO-1 : indoleamine 2,3-dioxygénase
BMPR : récepteur de la protéine morphogénétique osseuse	Ig : immunoglobuline
Breg : B régulateur (lymphocyte)	IL : interleukine
CARD9 : protéine 9 contenant le domaine de recrutement des caspases	ILC : cellule lymphoïde innée
CD : cluster de différenciation	ILF : follicule lymphoïde isolé
CDAI : Crohn's Disease Activity Index	iNK : NK invariant (lymphocyte)
CEE : cellule entéro-endocrine	iNOS : forme inductible de l'oxyde nitrique synthase
CEI : cellule épithéliale intestinale	IPAN : neurones afférents primaires
CGRP : peptide relié au gène de la calcitonine	ITS : espaceur interne transcrit
ChAT : choline acétyltransférase	JAM : molécule d'adhésion jonctionnelle
CRAMP : cathelicidin-related antimicrobial peptide	JNK : c-Jun N-terminal kinase
Csf1 : facteur de stimulation des colonies 1	KIR : récepteurs de type immunoglobuline tueur
DAI : disease activity index	KO : knock-out
DAMP : motifs moléculaires associés aux dégâts cellulaires	LGR5 : récepteur couplé à une protéine G contenant des répétitions riches en leucine 5
DC : cellule dendritique	LIE : lymphocytes intra-épithéliaux
DNBS : acide sulfonique dinitrobenzène	LPS : lipopolysaccharide
DSS : dextran sulfate sodium	LRRK2 : leucine-rich repeat kinase 2
FABP : protéine de liaison d'acides gras	LTi : cellule inductrice des tissus lymphoïdes
Fcgbp : protéine de liaison Fcg	M3R : récepteur d'ACh muscarinique M3
FGF2 : facteur de croissance de fibroblastes	MAIT : lymphocyte T invariant associé à la muqueuse
Foxp3 : forkhead box 3	MALDI-TOF : Matrix Assisted Laser Desorption Ionization/Time Of Flight
GALT : tissu lymphoïde associé à l'intestin	MAMP : motif moléculaire associé aux microbes
GAP : passage d'antigènes associés aux cellules caliciformes	MAPK : protéine kinase activée par des agents mitogènes

MARVEL : myelin and lymphocyte protein, and related protein for vesicle trafficking and membrane link

MC : maladie de Crohn

MCT1 : transporteur 1 de monocarboxylate

MICI : maladie inflammatoire chronique de l'intestin

MLCK : kinase de la chaîne légère de la myosine

MMP9 : métalloprotéase de la matrice 9

mTOR : cible de la rapamycine chez les mammifères

Muc : mucine

MyD88 : facteur de différenciation myéloïde 88

NE : noradrénaline ou norépinéphrine

NF- κ B : facteur nucléaire κ B

NK : Natural Killer

Nlrc4 : récepteurs de type Nod contenant le domaine 4 d'activation et de recrutement des caspases

Nlrp6 : protéine de la famille NLR contenant le domaine pyrine 6

NMU : neuromédine U

Nmur1 : récepteur 1 de la NMU

NO : oxyde nitrique

NOD2 : nucleotide-binding oligomerization domain 2

PAMP : motifs moléculaires associés à des pathogènes

PAMR : anneau d'actomyosine périjonctionnel

p-ANCA : anticorps périnucléaires anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles

PBMC : cellule mononuclée du sang périphérique

PCR : réaction de polymérisation en chaîne

PGE2 : prostaglandine E2

pIgR : récepteur d'Ig polymérique

PPAR- γ : récepteur γ activé par les proliférateurs de peroxysomes

PRR : récepteur de reconnaissance de motifs moléculaires

RAB2A : ras-related protein Rab-2A

RCH : rectocolite hémorragique

RegIII- β : protéine III- β en régénération d'îlots

RELM β : molécule pro-inflammatoire de type résistine β

RET : Rearranged during transfection

RIP2 : receptor interacting protein 2

RORC : récepteur C orphelin apparenté aux récepteurs de l'acide rétinoïque

ROS : espèces réactives de l'oxygène

SGLT1 : co-transporteur Na⁺-glucose apical 1

SMCT1 : transporteur 1 de monocarboxylate couplé au sodium

SNE : système nerveux entérique

SP : substance P

SPF : exemptes d'organismes pathogènes spécifiques

sPLA2 : phospholipase sécrétoire A2

STAT3 : transducteur de signal et activateur de la transcription

TAMP : Tight Junction-Associated MARVEL Proteins

TCR : récepteur des lymphocytes T

TEER : résistance électrique transépithéliale

Tff3 : facteur en trèfle 3

TGF- β : facteur de croissance transformant β

Th : T helper (pour lymphocyte)

TJ : tight junction

TLR : récepteur Toll-like

TNBS : acide 2,4,6-trinitrobenzènesulfonique

TNF : facteur de nécrose tumorale

TNFR2 : récepteur TNF 2

Tr1 : T régulateur de type 1 (lymphocyte)

Treg : T régulateur (lymphocyte)

Trpm5 : canal ionique non-sélectif dit « de potentiel de récepteur transitoire »

Tslp : lymphopoïétine stromale thymique

UCEIS : Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity

VEGF : facteur de croissance endothéliale vasculaire

VIP : peptide intestinal vasoactif

Zg16 : protéine de granule de zymogène 16

ZO : zonula occludens

Liste des figures

Figure 1. Résumé de l'Histoire des MICI. Figure adaptée de Gajendran <i>et al.</i> de 2018 [2–4]. MC = maladie de Crohn, RCH = rectocolite hémorragique, NIH = National Institutes of Health.	13
Figure 2. Localisation des atteintes dans la MC (à gauche) et la RCH (à droite) [9]	13
Figure 3. Symptômes extra-intestinaux dans les MICI [13].....	14
Figure 4. Score de Mayo [8].....	15
Figure 5. Prévalence mondiale des MICI en 2015 (en haut) et évolution temporelle de l'incidence des MICI (en bas) [17]	16
Figure 6. Principaux impacts du sexe dans les MICI [16].....	17
Figure 7. Structure anatomique du tractus GI [29]	20
Figure 8. Structure anatomique de l'intestin [33]	20
Figure 9. Architecture de la BEI dans l'intestin grêle (en haut) et le côlon (en bas) [35]	22
Figure 10. Différenciation des cellules épithéliales intestinales et fonctions associées [37]	22
Figure 11. La BEI présente différents types de perméabilité (à gauche), modulée en partie par des jonctions intercellulaires intestinales formant le complexe de jonction apical (à droite) [48]	25
Figure 12. Localisation cellulaire des jonctions gap (à gauche, [51]) et leur structuration par des connexines permettant le passage sélectif de composés entre 2 cellules (à droite, [52]).....	26
Figure 13. Représentation des jonctions cellulaires à l'échelle de la CEI avec leur liaison aux filaments intermédiaires et aux filaments d'actine [54]	27
Figure 14. Représentation de la couche de mucus dans l'intestin grêle et le côlon [60]	31
Figure 15. Synthèse des types de CEI [35]. A noter comme correction : « Tuft1 : Pouf2 ».	31
Figure 16. Perméabilité paracellulaire par voies "pore" et "leaky" [67] (à gauche) et régulation physiologique de la perméabilité paracellulaire (à droite) [47]	33
Figure 17. Mécanismes de défense de la BEI [35]	34
Figure 18. Les différents modes de mort cellulaire rencontrés dans l'intestin et leur stimuli associés [70]	35
Figure 19. Processus de réparation et de régénération de la muqueuse intestinale [37]	37
Figure 20. Augmentation de la perméabilité intestinale dans les MICI [47]	38
Figure 21. Développement d'une fibrose intestinale suite à stimuli exogènes [71]	39
Figure 22. Présentation du microbiote intestinal dans le tractus GI, ses principaux phyla bactériens et fonctions associées. GBA = gut-brain axis [27]	40
Figure 23. Groupes taxonomiques majoritaires du microbiote intestinal dont les helminthes (ici non représenté) [76].....	42
Figure 24. Acquisition du microbiote intestinal dans les premières années de vie [110].....	50
Figure 25. Evolution temporelle et facteurs influençant le microbiote intestinal chez un individu [131]..	51
Figure 26. Exemples de fonctions assurées par le microbiote intestinal [74]	52
Figure 27. Actions des AGCC en contexte de muqueuse intestinale colique saine (A) et inflammatoire (B) [137]	55
Figure 28. Production et consommation du butyrate dans le colon [35]	56
Figure 29. Impact du butyrate sur l'immunité intestinale [38].....	57
Figure 30. Illustration de la diversité des fonctions immunitaires exercées par le microbiote intestinal influençant l'inflammation [142]	59
Figure 31. Changement majeurs de la composition du microbiote intestinal observé dans les MICI [77]	61
Figure 32. Architecture de l'intestin et représentation de cellules immunes [158]	66
Figure 33. Drainage lymphatique de l'intestin [159].....	67

Figure 34. Immunité intestinale innée et adaptative avec les principales cellules immunes impliquées et leur impact fonctionnel [9]	68
Figure 35. Description des différents types de macrophages chez l'Humain et la souris [168]	70
Figure 36. Circulation des lymphocytes T dans l'intestin avec les lymphocytes T : mémoires centraux T_{CM} , mémoires effecteurs T_{EM} , mémoires résidents des tissus T_{RM} , effecteurs T_{eff} et naïfs [9]	72
Figure 37. L'immunopathogénèse des MICI et les acteurs associés immuns et non-immuns [71].....	77
Figure 38. Innervation extrinsèque du tractus GI [30]	78
Figure 39. Innervation de l'intestin grêle par le SNE et le système nerveux central [189]	79
Figure 40. Schéma des plexus du système nerveux entérique dans l'intestin grêle (gauche) et immunomarquage d'un intestin grêle de souris avec le réseau glial en vert et neuronal en rouge (droite) [33,191].....	80
Figure 41. Régulation des fonctions de la BEI par les cellules gliales (violet) et les neurones (vert). Différentes CEI sont impactées : les entérocytes (beige), les cellules souches (bleu), cellules de Paneth (rouge), cellules caliciformes (vert), cellules entéroendocrines (violet) [146]	81
Figure 42. Interaction entre les neurones et les macrophages dans l'intestin [30].....	82
Figure 43. Interaction du SNE avec les ILC intestinaux [30].....	82
Figure 44. Interaction entre le SNE et les lymphocytes T (à gauche) et B (à droite) [30].....	83
Figure 45. Impact des différents systèmes biologiques sur les MICI et son évolution temporelle [81].	85
Figure 46. Étiologie des MICI [198]	85
Figure 47. Liste des gènes associés aux MICI [6].....	86
Figure 48. Réseaux d'interactions biologiques potentiellement reliés au développement d'une MICI [81].....	87
Figure 49. Empreinte épigénétique dans le développement d'une MICI [200]	88
Figure 50. Schéma récapitulatif du concept de "Triple Environmental Hit » dans les MICI [206].....	90
Figure 51. Coloproctectomie réparatrice avec anastomose iléo-anale [208].....	93
Figure 52. Summary of the general effects of prebiotics, probiotics, synbiotics, postbiotics, n-3 and n-6 PUFAs on the gut.....	160
Figure 53. Impact d'une alimentation maternelle riche en fibres sur la survenue de maladies métaboliques chez la descendance à travers l'action d'AGCC [140,213].....	226
Figure 54. Facteurs environnementaux en lien avec les MICI [81].....	229
Figure 55. Bilan schématisé chez l'Humain des hypothèses mécanistiques sous-jacentes à la susceptibilité accrue à la colite chronique chez la descendance issue de souris mères supplémentées en GOS/inuline. (Créé avec BioRender.com)	233
Figure 56. Traitement des MICI ciblant le microbiote intestinal [226]	234

Introduction générale

L'intestin présente une organisation complexe, faisant intervenir un jeu d'interactions étroites entre différents systèmes biologiques. Parmi les acteurs majeurs de l'homéostasie intestinale sont retrouvés la barrière épithéliale intestinale, le système immunitaire, le système nerveux entérique et le microbiote intestinal. L'ensemble de ces acteurs assure non seulement des fonctions digestives, mais permet aussi le maintien d'une tolérance aux nutriments et aux micro-organismes commensaux, tout en contrant les éventuels pathogènes et lésions/ruptures physiques intestinales. Le microbiote intestinal est un acteur particulièrement intéressant par sa complémentarité fonctionnelle à celle de son hôte, qu'il met notamment à profit dans le métabolisme d'aliments non digestibles par l'hôte. Une dérégulation des composantes de l'intestin engendre de lourdes conséquences pour l'individu, menant potentiellement à des atteintes systémiques de l'ordre métabolique et immunitaire entre autres, et se traduisant par des symptômes extra-digestifs. La fenêtre temporelle pendant laquelle se situe cette dérégulation est importante, avec certaines périodes se caractérisant par une forte plasticité des organes et des systèmes biologiques comme la période périnatale pendant laquelle s'opère la maturation des grands systèmes biologiques. Couplés à un terrain génétique et environnemental favorables, ces dysfonctionnements intervenant à des moments précis de la vie d'un individu peuvent aboutir au développement de maladies chroniques comme les MICI, en accord avec le concept du DOHaD.

Les MICI représentent un enjeu majeur de santé public mondial, dont la prévalence ne fait que s'accroître au fil des années. La problématique principale que posent les MICI est l'absence à ce jour de soins curatifs pour ces maladies. Les stratégies thérapeutiques actuelles proposent une prise en charge des symptômes majeurs par ciblage du système immunitaire. Toutefois, celles-ci ne s'avèrent pas suffisantes pour s'affranchir du besoin de recourir à la chirurgie quelques années après le diagnostic. Ainsi l'objectif principal des recherches en cours dans le domaine est de proposer une meilleure prise en charge des patients MICI, afin d'assurer un soin et une amélioration de leur qualité de vie pérenne.

Un intérêt croissant est en ce sens porté sur la modulation du microbiote intestinal, à travers l'utilisation de prébiotiques, probiotiques, postbiotiques voire de régimes alimentaires spécifiques. De même, la fenêtre temporelle d'intervention est importante à prendre en compte dans cette modulation. L'impact d'une intervention anténatale n'est que faiblement exploré, malgré des résultats prometteurs concernant la protection contre le développement de maladies allergiques et auto-immunes chez la descendance murine par supplémentation maternelle en prébiotiques.

De ce fait, nous nous intéressons dans ce projet à déterminer si une modulation maternelle du microbiote intestinal par prébiotiques peuvent avoir des effets similaires dans les MICI.

Etude bibliographique

Avant d'aborder plus en détail les résultats issus de mon projet de thèse, nous reviendrons en premier lieu sur la caractérisation globale des MICI. Nous introduirons ensuite chacune des composantes majeures de l'intestin (épithélium intestinal, microbiote intestinal, système immunitaire et système nerveux entérique) et leur implication individuelle dans la pathogenèse des MICI. L'étiologie des MICI sera également abordée, avec un focus sur la période de vie périnatale. Enfin, un récapitulatif de l'arsenal thérapeutique disponible à ce jour sera effectué et abordera de nouvelles stratégies prometteuses comme la modulation du microbiote intestinal qui est à la base de notre hypothèse d'étude.

1. Définition générale des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

A. Caractéristiques générales

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) sont des maladies se caractérisant par une réponse inflammatoire chronique d'une partie du tube digestif, due à une dérégulation du système immunitaire et du microbiote intestinal, chez un individu prédisposé génétiquement [1]. Malgré une première description de ces maladies au cours de l'Antiquité, ce n'est qu'au 20^{ème} siècle que la terminologie actuelle des MICI a été introduite (Figure 1). Au même moment, des traitements comme les corticostéroïdes ont montré des résultats prometteurs dans la prise en charge des MICI et ont ouvert la voie au développement de thérapies ciblant les MICI. Ce développement s'accompagne à la fin du 20^{ème} siècle d'avancées dans la modélisation des MICI à l'échelle animale, permettant ainsi une meilleure caractérisation de la pathogenèse et de l'évolution des MICI. De nouvelles pistes d'étude ciblent maintenant le microbiote intestinal, acteur central dans le développement d'une MICI et pour lequel un regain d'intérêt croissant est observé dans la communauté scientifique (Figure 1).

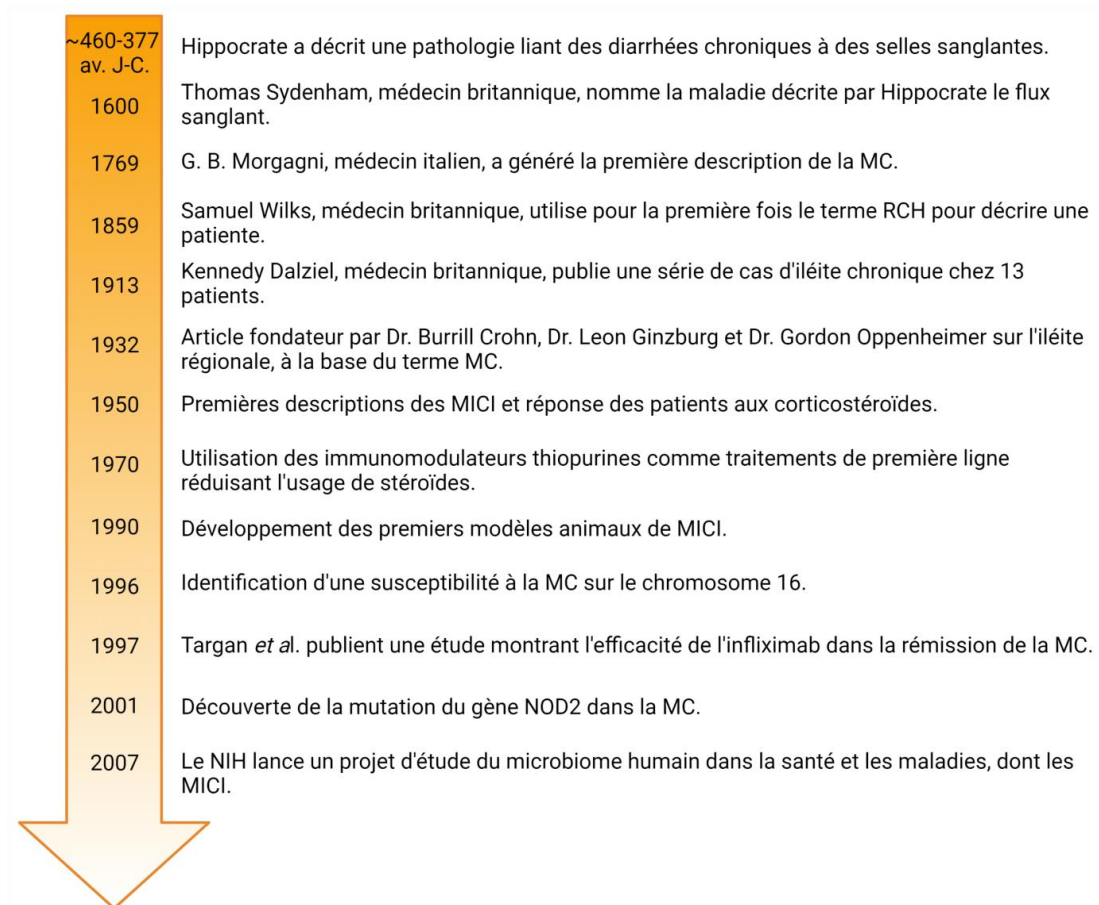


Figure 1. Résumé de l'Histoire des MICI. Figure adaptée de Gajendran *et al.* de 2018 [2–4]. MC = maladie de Crohn, RCH = rectocolite hémorragique, NIH = National Institutes of Health.

Ces maladies comprennent essentiellement la maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH), qui se distinguent par la localisation de leur atteinte intestinale et le type de réponse immunitaire induite [5]. La MC est définie par une inflammation répartie sur l'ensemble du tube digestif, avec 25% des patients atteints d'une colite et 50% d'une iléocolite (Figure 2) [4,5]. Au niveau du côlon, cette inflammation s'avère transmurale, c'est-à-dire potentiellement étendue à toute l'épaisseur de la paroi du côlon [4]. Dans la RCH, l'inflammation est quant à elle restreinte à la muqueuse du côlon (Figure 2) [6]. Elle se développe de manière continue et rétrograde, avec une initiation de l'atteinte au niveau du rectum qui peut ensuite s'étendre jusqu'à l'ensemble du côlon [7,8].

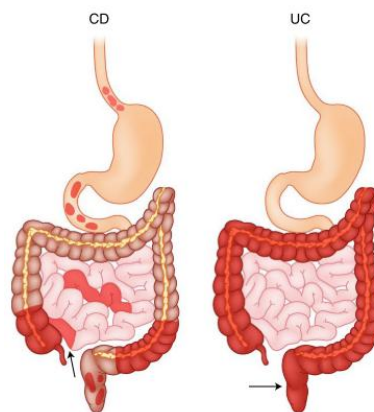


Figure 2. Localisation des atteintes dans la MC (à gauche) et la RCH (à droite) [9]

Chez les patients MICI, des épisodes de poussées inflammatoires surviennent en alternance à des phases de rémission [4,8]. Les patients sont sujets à des symptômes communs qui comprennent des symptômes digestifs comme des diarrhées, des douleurs abdominales, une perte de poids due à une malnutrition et des saignements rectaux [10]. Des symptômes systémiques tels que de la fièvre et de la fatigue se manifestent également chez les patients, et des atteintes extra-digestives touchent jusqu'à la moitié des patients MC. Ces symptômes extra-intestinaux peuvent être de nature variée : musculo-squelettique, cutané, oculaire ou hépatobiliaire, avec l'arthrite comme symptôme le plus commun (Figure 3) [6,11]. Leur évolution peut être similaire ou indépendante des MICI, et leur survenue peut être en partie due à des complications générées suite à la prise en charge médicamenteuse ou par chirurgie des MICI [12]. L'évolution d'une MICI s'accompagne d'une aggravation des symptômes, avec pour la RCH une augmentation de la surface des atteintes et du risque de développer un cancer colorectal montant jusqu'à 18% à 30 ans de maladie [8].

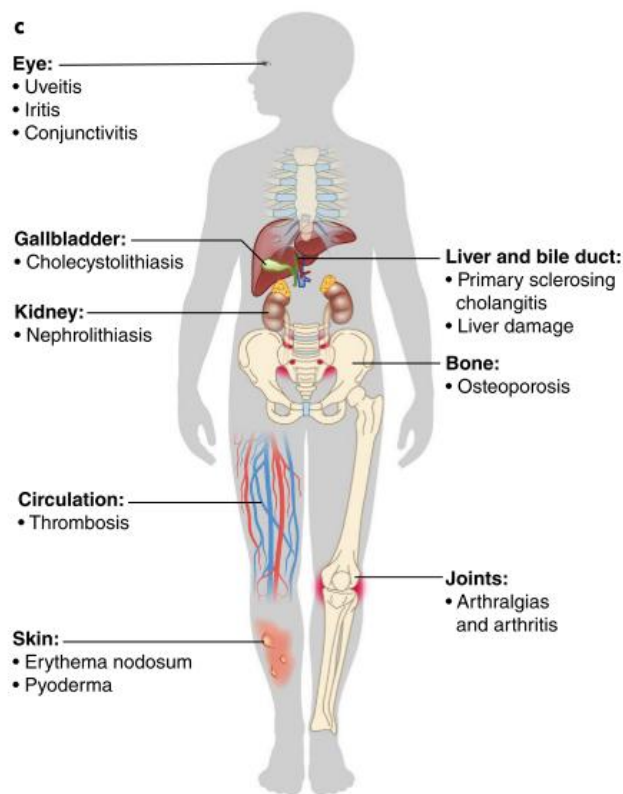


Figure 3. Symptômes extra-intestinaux dans les MICI [13]

B. Diagnostic et suivi d'une MICI

L'endoscopie reste la technique privilégiée pour diagnostiquer une MICI. Elle s'accompagne de prélèvements de biopsies à différentes régions du tractus gastro-intestinal (GI) afin de caractériser histologiquement les atteintes [8]. L'endoscopie peut être complétée par des entérographies par résonance magnétique ou par tomодensitométrie afin de détecter une inflammation plus proximale, non visible par endoscopie [6]. Suite à ce diagnostic, la quantification de biomarqueurs non invasifs permet un suivi de l'évolution de la maladie chez le patient [6]. Les marqueurs les plus utilisés sont la protéine C réactive sanguine et la calprotectine fécale. La protéine C réactive sanguine représente le marqueur sanguin d'inflammation le plus sensible, tandis que la calprotectine est un indicateur d'inflammation de la muqueuse intestinale

[6]. De plus, la concentration en calprotectine est corrélée au degré de sévérité de la RCH évalué par endoscopie et par histologie [14]. D'autres marqueurs tels que les anticorps périnucléaires anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (p-ANCA) et les anticorps anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) donnent des indications sur la nature de la MICI, avec un profil ASCA-/p-ANCA+ étant associé à la RCH et le profil inverse associé à la MC [8].

L'ensemble de ces mesures permet d'établir un score pathologique reflétant le développement d'une MICI. Il n'existe pas à ce jour de standardisation sur la procédure d'évaluation de la MICI, toutefois un nombre réduit de scores sont aujourd'hui couramment utilisés. Certains systèmes d'évaluation s'appuient sur des données endoscopiques comme les critères de Rutgeert qui constituent le score de référence pour la récurrence endoscopique de la MC [4]. L'index endoscopique de sévérité de la RCH (UCEIS, pour « Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity ») est quant à lui le seul index pour la RCH parmi ceux à ce jour développé [3,15]. D'autres systèmes de notation tels que le "short inflammatory bowel disease questionnaire" incluent également des paramètres plus généraux comme la qualité de vie du patient [4,6]. Ces évaluations permettent non seulement le diagnostic d'une MICI, mais permettent aussi de suivre son évolution et d'ajuster le traitement reçu par le patient. Un score fréquemment utilisé pour caractériser la progression d'une RCH et moduler le traitement est le score de Mayo (Figure 4). Concernant la MC, le "Crohn's Disease Activity Index" (CDAI) est un système de notation couramment utilisé dans les essais cliniques afin de déterminer la réponse au traitement et la rémission du patient [4].

Mayo Index	0	1	2	3
Stool frequency	Normal	1-2/day more than normal	3-4/day more than normal	5/day more than normal
Rectal bleeding	None	Streaks	Blood in stool	Pure blood
Mucosa	Normal	Mild friability	Moderate friability, erosions	Spontaneous bleeding, ulcerations
Physicians global assessment	Normal	Mild	Moderate	Severe

Interpretation of scores: scores should be compared to previous scores for a patient. The score can range from 0 to 12 with higher scores indicating worse severity.

Figure 4. Score de Mayo [8]

C. Epidémiologie

Les MICI impactent principalement les pays occidentaux, dont le Nord de l'Europe et les USA, avec environ 3 millions de personnes touchées en Europe et 1,6 million aux USA (Figure 5) [6,16].

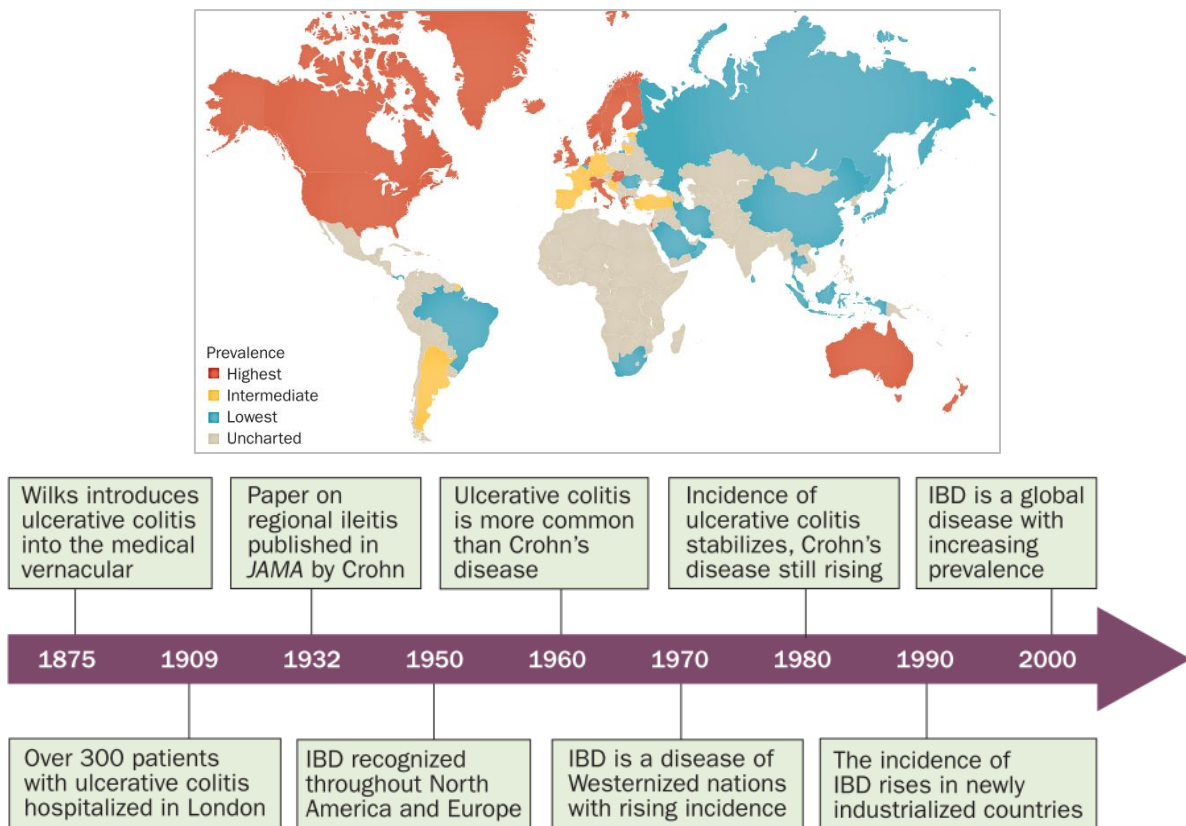


Figure 5. Prévalence mondiale des MICI en 2015 (en haut) et évolution temporelle de l'incidence des MICI (en bas) [17]

C'est ainsi 0,5% de la population des pays occidentaux qui est touchée par les MICI [17]. À l'échelle mondiale, la RCH est plus fréquente que la MC [8]. La RCH est également plus présente dans les pays dits « industrialisés », et son incidence augmente en Asie (Figure 5) [8]. La prévalence annuelle de la MC est par exemple en 2007 de 201 cas contre 238 pour la RCH, pour 100 000 individus en Amérique du Nord [18]. La survenue d'une MICI ne concerne pas uniquement des individus adultes, mais aussi des personnes de moins de 20 ans qui représente près de 25% des patients [10]. La distribution en âge diffère selon la maladie, avec la majorité des patients MC entre 15 à 35 ans tandis que le pic d'incidence des patients RCH se situe dans les tranches d'âge 20-30 ans et 50-80 ans [8]. Outre l'âge, les données disponibles au sujet de l'impact du sexe de l'individu sur l'incidence d'une MICI sont controversées. Plusieurs études suggèrent cependant un effet du sexe sur différents paramètres de la maladie, que ce soit au niveau de l'étiologie, des symptômes et de sa prise en charge (Figure 6) [16]. Cela concerne notamment les facteurs psychosociaux, avec la qualité de vie étant rapportée plus faible chez les femmes que les hommes (Figure 6) [16].

Dimension	Gender-specific difference
Epidemiology	Higher rates of CD in females in EU and US Higher rates of CD in males in Asia Young females with lower risk for CD, older females with higher risk Older males with higher risk for UC
Environmental factors	Appendectomy and smoking in females Antibiotic use in males
Genetics	Female imprinting in familial IBD Susceptibility gene variants such as IL-23R variant L310P (protects women but not men from getting UC) X-chromosome abnormalities
Disease activity and phenotype	EIM more frequent in females Upper GI involvement in males Ileal disease more frequent in males
Disease complications	Higher risk and mortality for CRC in males Higher mortality of pulmonary complications in females Osteopenia more frequent in males
Treatment	Male gender associated with loss of response to anti-TNF Drug survival higher in males More side-effects to anti-TNF in females Adherence rates lower in females
Psychosocial factors	Depression more frequent in females Self-reported QoL lower in females Fatigue more frequent in females

CD, Crohn's disease; UC, ulcerative colitis; IBD, inflammatory bowel disease; EIM, extraintestinal manifestations; IL, interleukin; CRC, colorectal cancer; TNF, tumor necrosis factor; QoL, quality of life.

Figure 6. Principaux impacts du sexe dans les MICI [16]

D. Impact psychosocial et sociétal

1) Impact psychosocial des MICI

Ainsi les MICI impactent l'individu non seulement au niveau physique mais également au niveau psychosocial [19]. Les symptômes rencontrés par les patients MICI diminuent leur qualité de vie et leur bien-être, et la prise en charge des patients doit de ce fait prendre en considération cette composante psychologique et sociale [20]. Plusieurs études ont en ce sens caractérisé le ressenti des patients, et par ce biais ont permis d'identifier différents besoins à intégrer dans l'élaboration d'une stratégie thérapeutique [20]. Les patients atteints d'une MICI souffrent à tout âge d'une anxiété, de symptômes dépressifs et d'une honte liée à la dépendance à la proximité de commodités [20]. Le caractère imprévisible de l'incontinence et du futur ont de fortes conséquences sur le comportement du patient, qui est plus prône à s'isoler socialement et à perdre son estime de soi [20]. Les MICI impactent alors non seulement les patients, mais également leur entourage.

Certains besoins identifiés évoluent selon l'âge du patient, comme le montre la revue exploratoire de Volpato *et al.* de 2021 qui fait la distinction entre le ressenti des enfants, des adolescents et des adultes atteints d'une MICI [20]. Les enfants atteints d'une MICI ressentent majoritairement une peur de parler de leur pathologie, liée à une peur d'être exclu [20]. Les parents de ces enfants sont de même impactés, avec un changement marqué de leur comportement vis-à-vis de leur enfant suite au diagnostic d'une MICI [20]. Les adolescents atteints d'une MICI présentent quant à eux une mauvaise connaissance de leur maladie [20]. Le suivi du

traitement est mauvais chez les adolescents qui souffrent d'un manque de confiance en soi, de problèmes de comportement et d'une altération de la perception de leur image corporelle [20]. Les patients adultes atteints d'une MICI privilégient l'amélioration de leur qualité de vie par rapport au contrôle de leur maladie [20]. Une méfiance envers le système de santé est alors soulignée, du fait de la persistance des symptômes et des effets secondaires [21]. Par ailleurs, la MICI influence négativement le désir de grossesse, en dissuadant le patient d'entreprendre celle-ci [20].

Ces troubles psychiatriques font partie des comorbidités fréquemment retrouvées dans les MICI. Le taux de prévalence des troubles anxieux et dépressifs est respectivement de 20 et 15% chez les patients MICI, avec une augmentation de ces taux lors de poussées inflammatoires [19]. L'incidence de ces troubles, mais aussi des troubles bipolaires, est plus importante chez les individus atteints d'une MICI, selon les groupes d'étude considérés (femmes, jeunes adultes de 18-24 ans, faible classe socio-économique...) [19]. Les maladies psychiatriques sont ainsi liées à une augmentation de la sévérité des symptômes observés en MICI, entraînant une augmentation des hospitalisations et des opérations chirurgicales [22]. De même, les MICI peuvent elles-mêmes influencer la survenue de troubles psychiatriques tels que le trouble du stress post-traumatique [22]. Une prise en charge psychologique se révèle être importante à intégrer dans le parcours thérapeutique d'un patient MICI. Elle peut s'appuyer sur différentes thérapies telles que la thérapie cognitivo-comportementale, l'hypnothérapie ou la thérapie cognitive basée sur la pleine conscience [22].

2) Coûts

La prise en charge de ces comorbidités représente un pilier de dépenses conséquent dans la prise en charge globale des MICI. Une analyse longitudinale rétrospective d'une cohorte aux États-Unis de personnes assurées suivies de 2007 à 2016 a en effet identifié les facteurs mentaux comme un des facteurs pesant majoritairement sur les dépenses liées aux MICI [23]. Parmi les autres facteurs influents sont retrouvés le traitement spécifique des MICI, le recours au service des urgences, les services de soins et l'anémie [23]. Les patients MICI de cette cohorte présentent un coût annuel moyen de santé 3 fois plus élevé que celui des patients contrôles non-MICI, de l'ordre de 23 000 \$ [23]. Les 20% des patients MICI de la cohorte sous traitement biologique (e.g. anti-TNF, anti-intégrines) présentent un coût annuel total des soins 3 fois plus élevé que les patients MICI sous un autre traitement [23]. À ce jour, les dépenses associées à la thérapie biologique sont considérables et avoisinent 25 000\$ par patient [17].

Ainsi les coûts sont multiples et se situent à plusieurs niveaux. Les coûts engendrés par les MICI peuvent être directs et concerner le coût des médicaments, des hospitalisations et des chirurgies [24]. Ils peuvent être de nature sociétale indirecte, et être exprimés en perte de productivité, de temps passé en clinique, en retraite anticipée ou par la mort prématurée [24]. À l'échelle du patient, les conséquences financières sont visibles sur le long terme, avec un impact des MICI sur la scolarité et la carrière professionnelle. Les patients MICI éprouvent des difficultés à trouver et garder un emploi, en partie liée à leur difficulté à travailler sur de longues plages horaires et la prise de congés maladies due à leur maladie [21,25].

Les MICI constituent de ce fait un enjeu de santé publique majeur, engendrant des coûts annuels directs et indirects de l'ordre de 8,1 à 14,9 milliards de dollars aux USA pour la prise en charge de la RCH [8]. En Europe, ces coûts sont de l'ordre de 4,6 à 5,6 milliards d'euros par an

[16]. Les organismes de santé doivent faire face à une prévalence forte des MICI, qui se traduit par une double prise en charge : à la fois d'une population MICI vieillissante à comorbidités, et de jeunes patients MICI récemment diagnostiqués [17]. Afin de réduire la charge financière qui pèse sur les patients MICI et afin de faciliter l'accès aux soins, le développement d'alternatives thérapeutiques et une négociation des prix sont nécessaires. La production d'agents biologiques génériques et la découverte de nouveaux traitements peuvent contribuer à apporter un meilleur soin au patient [17]. La recherche fondamentale et clinique s'inscrivent dans cette démarche d'amélioration des soins, par l'approfondissement des connaissances portant sur la pathogenèse et la physiopathologie des MICI [17].

Définition générale des MICI

- Les MICI comprennent la MC et la RCH. La MC peut toucher l'ensemble du tractus GI tandis que la RCH se limite au côlon.
- Les symptômes rencontrés dans une MICI sont digestifs et extra-digestifs. Leur sévérité augmente au cours du temps, tout comme leur impact psychosocial. Ainsi la qualité de vie des patients atteints d'une MICI est fortement dégradée sur le long terme.
- Les MICI représentent un enjeu de santé publique majeur à l'échelle mondiale, dont les coûts directs et indirects sont de l'ordre de milliards d'euros/dollars.

2. Physiopathologie

Afin d'étudier les mécanismes potentiellement mis en jeu dans la pathogenèse des MICI, il est nécessaire de revenir au préalable sur les notions connues sur les systèmes biologiques intestinaux impactés. Cet état des lieux des connaissances, en condition saine et pathologique de MICI, de chacune des composantes intestinales (barrière intestinale, microbiote intestinal, système immunitaire intestinal et système nerveux entérique) permet une meilleure compréhension de leur importance dans le développement d'une MICI mais aussi l'enjeu qu'elles représentent dans sa résolution.

A. Physiologie générale de l'intestin

1) Organisation générale

Le tractus GI se déploie de la bouche à l'anus et comprend donc la cavité buccale, l'œsophage, l'estomac, l'intestin grêle et le gros intestin (Figure 7) [26]. L'intestin grêle est divisé en 3 parties que sont le duodénum, le jéjunum et l'iléon, tandis que le gros intestin comprend le caecum, l'appendice, le côlon ascendant, le côlon transverse, le côlon descendant, le côlon sigmoïde, le rectum et l'anus [27,28].

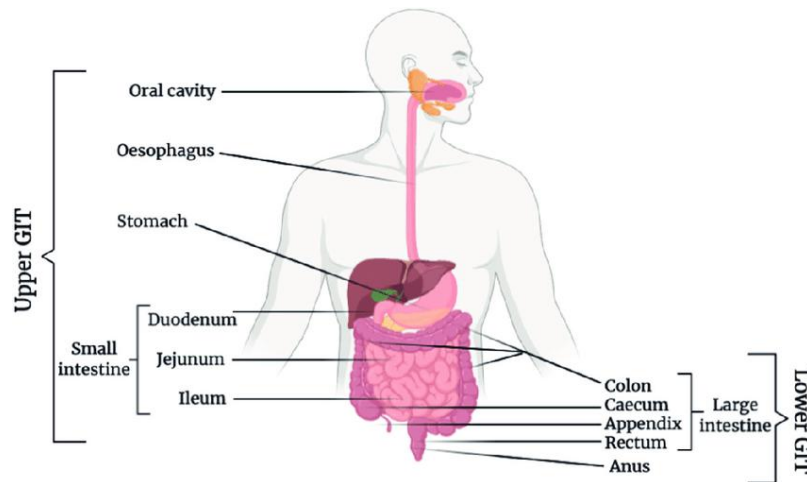


Figure 7. Structure anatomique du tractus GI [29]

Au sein de l'intestin, la structure anatomique se décompose du plus externe au plus proche du lumen en : mésentère, séreuse, muscularis avec les muscles longitudinal et circulaire, sous-muqueuse et une muqueuse intégrant la musculaire muqueuse, la lamina propria et l'épithélium intestinal (Figure 8) [26,30]. L'intestin est un organe hautement vascularisé par des vaisseaux sanguins et lymphatiques présents jusqu'à la pointe des villosités, assurant notamment le transport d'oxygène, de nutriments, d'antigènes et de lipides [31,32].

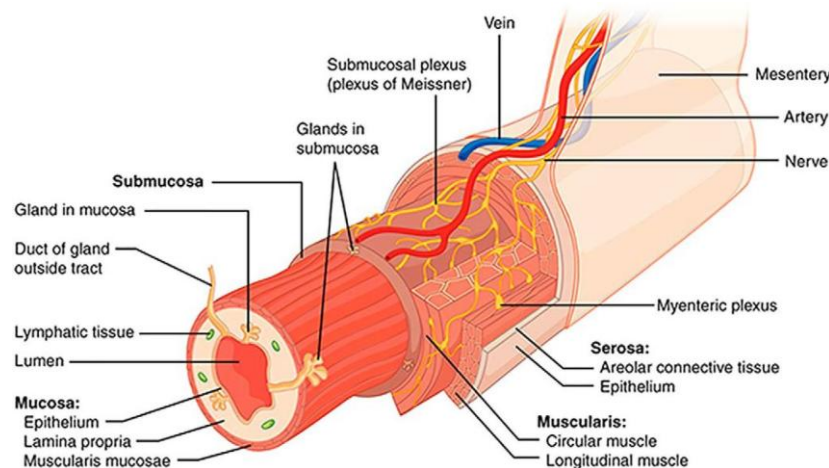


Figure 8. Structure anatomique de l'intestin [33]

2) Fonction principale de l'intestin : la digestion et l'absorption

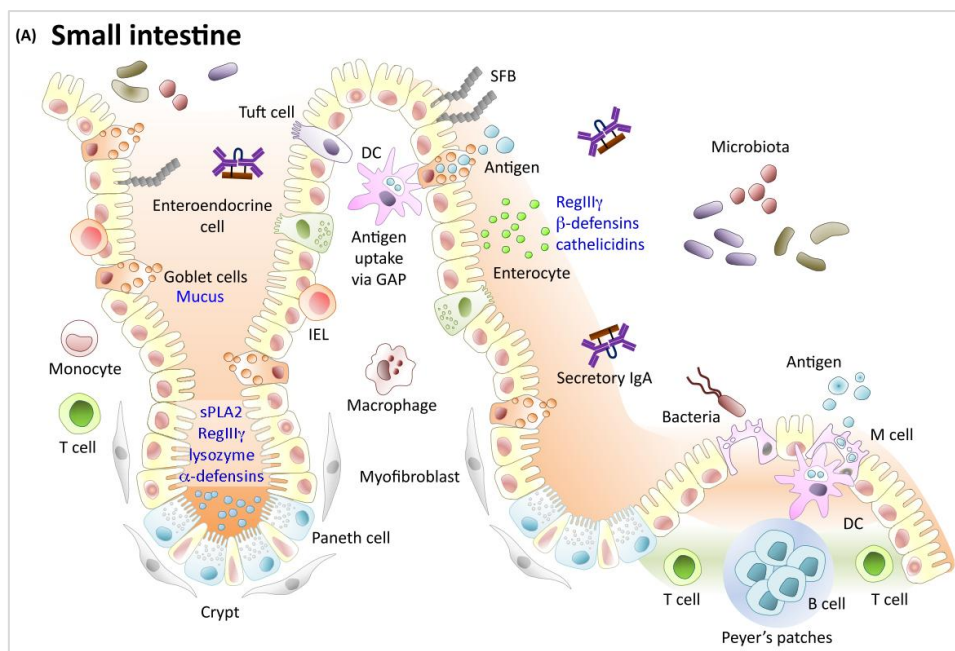
Cette structure complexe de l'intestin permet d'exercer et d'assurer son bon fonctionnement. Les fonctions principales de l'intestin sont la digestion et l'absorption des nutriments, qui représentent leur prise en charge enzymatique et leur accès aux tissus par voie sanguine [26]. Le bol alimentaire migre le long du tractus GI grâce à un processus de contraction musculaire lisse appelé péristaltisme, alors qu'un processus de segmentation assure un temps de contact suffisant entre l'épithélium et le contenu luminal [26]. Le temps de transit varie selon le compartiment intestinal, tout comme le pH. Cette diversité d'environnements permet une digestion optimale [28]. La digestion et l'absorption sont des fonctions réalisées en s'appuyant sur 3 propriétés du tube digestif : la motricité, la sécrétion et la perméabilité, qui dépendent des muscles lisses et de la barrière épithéliale intestinale.

B. Barrière épithéliale intestinale

1) Composition

La barrière intestinale désigne la barrière physique, mais aussi chimique, que représente l'ensemble constitué par la couche monocellulaire épithéliale (BEI, pour barrière épithéliale intestinale), le mucus interne et externe au sein de l'intestin [34]. En support de la BEI est retrouvée la lamina propria, une fine couche de tissu conjonctif, et les muscles lisses [34]. Ce système permet l'établissement d'un dialogue direct et/ou indirect entre le microbiote intestinal, les cellules épithéliales intestinales (CEI) et le système immunitaire sous-jacent [34].

L'architecture et la composition de l'épithélium intestinal diffèrent entre l'intestin grêle et le côlon. L'épithélium présente des structures invaginées appelées cryptes de Lieberkühn tout le long de l'intestin, tandis que l'intestin grêle comprend également des structures protubérantes dénommées villosités intestinales (Figure 9) [35]. Des cellules souches intestinales à récepteurs couplés à une protéine G contenant des répétitions riches en leucine ($Lgr5^+$) résident au creux des cryptes (3-5 cellules souches/crypte), et sont à l'origine de cellules se différenciant tout le long des cryptes jusqu'à atteindre l'apex où elles sont finalement éliminées dans le lumen [35,36]. Les villosités ainsi que les microvillosités situées au pôle apical des entérocytes permettent d'augmenter la surface de muqueuse, et de ce fait l'absorption des nutriments [35]. Le côlon ne comprend pas de villosités, mais se caractérise entre autres par une diversité plus importante de types cellulaires [35]. De même, certains types cellulaires sont uniquement retrouvés dans l'intestin grêle et seront décrits par la suite [35]. La BEI est un ensemble dynamique dont le renouvellement cellulaire est constant et strictement régulé : une crypte entière se renouvelle en effet en 4-5 jours [34,35].



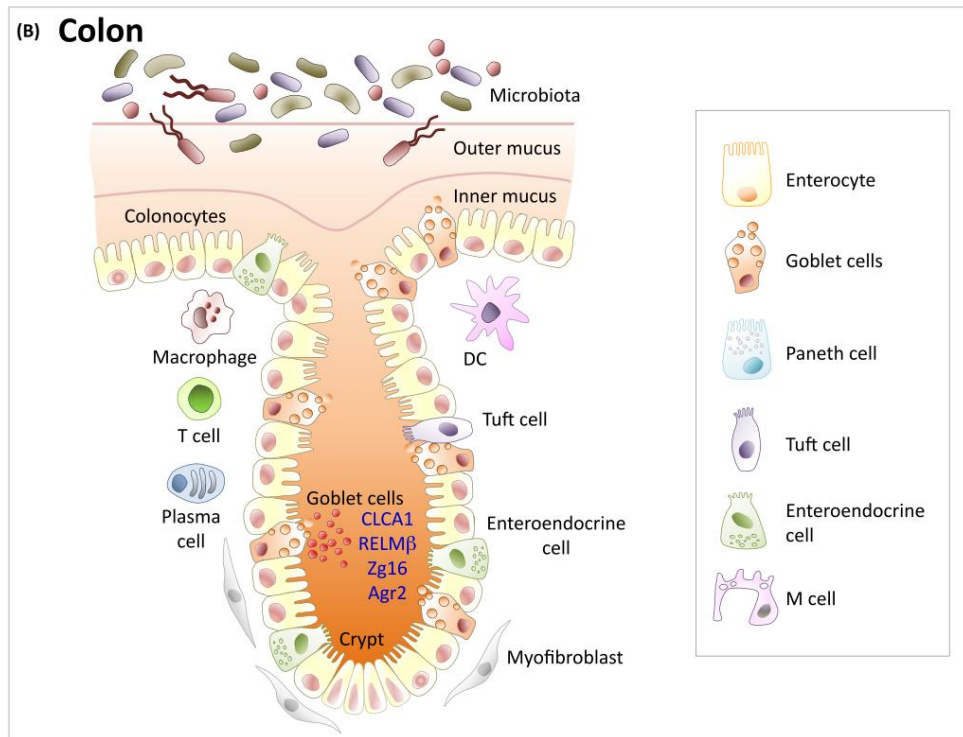


Figure 9. Architecture de la BEI dans l'intestin grêle (en haut) et le côlon (en bas) [35]

a) Cellules épithéliales

La BEI est composée d'une diversité de cellules qui se distinguent par leur localisation au sein de l'intestin, des cryptes et des villosités, tout comme par leurs fonctions (Figure 9, Figure 10, Figure 15) [34]. Elles interagissent entre elles et contribuent collectivement à préserver l'intégrité de la BEI. Les particularités de chaque type cellulaire seront détaillées, pour ensuite aborder leurs fonctions individuelles et/ou collectives.

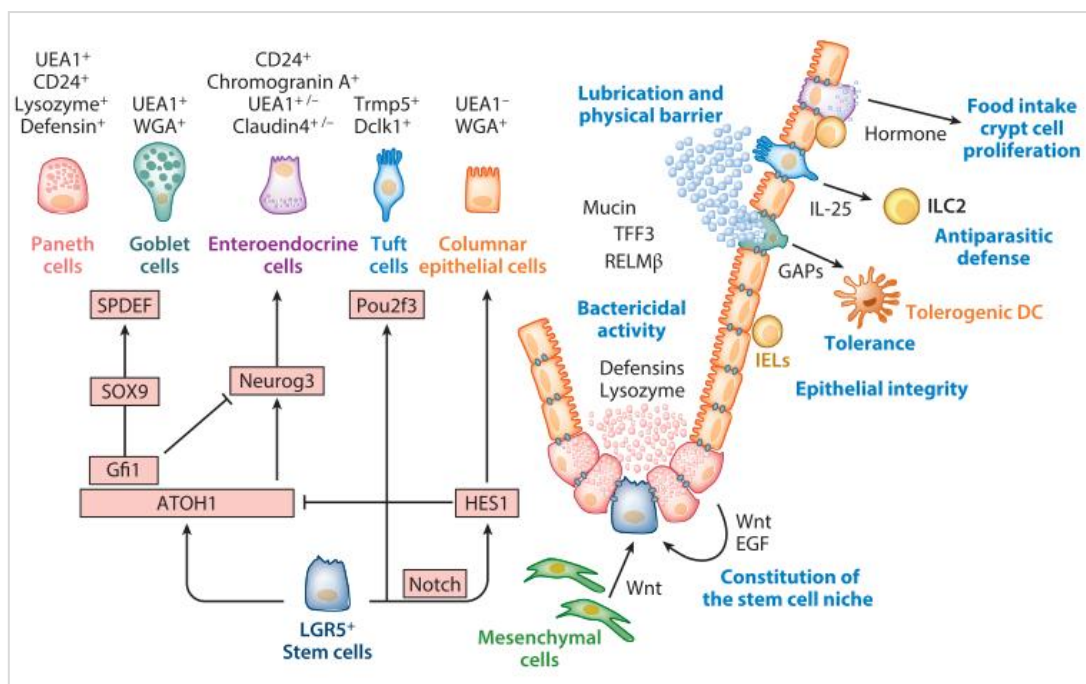


Figure 10. Différenciation des cellules épithéliales intestinales et fonctions associées [37]

○ Les entérocytes

Les cellules les plus abondantes de la BEI sont les entérocytes, appelées aussi colonocytes dans le côlon [35]. Les fonctions assurées par les entérocytes sont multiples, allant de la barrière physique, du filtre sélectif de composés, à la défense contre les pathogènes. Ces cellules sont par exemple coiffées de microvillosités qui comportent des acides sialiques terminaux chargés permettant de repousser les particules négativement chargées [35]. Les entérocytes arborent également des protéines de jonctions serrées latérales (cf. partie « Jonctions cellulaires » ci-dessous), participant à la régulation du transport des composés hydrophiles et au maintien de la barrière physique [34]. D'autres rôles sont assurés par ces cellules, comme l'absorption de nutriments et d'eau [35]. Des récepteurs Toll-like (TLR) sont exprimés majoritairement du côté basal de ces cellules, comme les TLR2 à TLR5 et TLR9, avec TLR2 et TLR9 également exprimés apicalement [35]. Les TLR participent à la reconnaissance et à la prise en charge des composés bactériens, par stimulation de la sécrétion de facteurs antimicrobiens comme des β -défensines et la forme inducible de l'oxyde nitrique synthase (iNOS) [35]. L'activation des TLR induit aussi la sécrétion de cytokines telles que le facteur de nécrose tumorale (TNF)- α , l'interleukine 6 (IL-6) et l'IL-18 qui vont activer les cellules immunes voisines [35]. Une augmentation de l'expression de composés de l'inflammasome est de même induite par la voie de signalisation des TLR [35]. Ainsi, les TLR permettent de moduler l'interaction entre le microbiote intestinal, les pathogènes et les cellules immunes de la lamina propria [38]. Présents sur l'ensemble des cryptes, le métabolisme des entérocytes et leur degré de différenciation diffèrent néanmoins selon leur localisation au sein des cryptes [35]. Les entérocytes situés à la base des cryptes métabolisent le glucose en lactate de manière anaérobie, tandis que les entérocytes du côté apical métabolisent aérobiquement les produits bactériens tels que les acides gras à chaîne courte (AGCC) [35].

○ Les cellules caliciformes ou « Goblet cells »

Les cellules caliciformes sont retrouvées au niveau du côlon, où elles jouent un rôle central à la fois dans la tolérance intestinale et l'induction d'une réponse immunitaire de la muqueuse [35]. Elles sont à l'origine de la formation des couches de mucus interne et externe [35]. De ce fait, les cellules caliciformes contribuent au renforcement de la BEI, par la production et la sécrétion de glycoprotéines telle que la mucine 2 (Muc-2), mais aussi de la protéine de liaison Fcg (Fcgbp) ou le facteur en trèfle 3 (Tff3) [20, 22]. Muc-2 est l'un des composants majeurs du mucus, tandis que Fcgbp renforce cette structure en se liant de manière covalente à Muc-2 [35]. Le facteur Tff3 favorise la réparation de la muqueuse par inhibition de l'apoptose [35]. Les cellules caliciformes ont par ailleurs un rôle dans la surveillance immune car elles échantillonnent le contenu luminal pour le présenter, sous forme d'antigènes ou par transcytose, aux cellules dendritiques sous-jacentes [35]. Cette interaction avec les cellules dendritiques participe à l'induction de la tolérance aux antigènes alimentaires et au microbiote intestinal, tout comme à la réaction du système immunitaire envers les pathogènes. Les cellules caliciformes contribuent de même à la détection et à la régulation du microbiote, par sécrétion de composés tels que la protéine de granule de zymogène 16 (Zg16), une protéine similaire aux lectines favorisant l'agrégation de bactéries à Gram positif par liaison à leurs peptidoglycane, ce qui empêche leur passage dans le mucus [35]. Un autre mécanisme de défense passe par la sécrétion de la molécule pro-inflammatoire de type résistine β (RELM β), qui module l'immunité Th2 et induit la mort de bactéries à Gram négatif par atteinte de leurs membranes [35,40]. RELM β permet aussi de présenter les antigènes luminaux aux cellules dendritiques tolérogènes [40]. Par ailleurs, un sous-type de cellules caliciformes dites

sentinelles a été récemment identifié à l'apex des cryptes coliques [35]. En cas de détection de bactéries à proximité de ces cellules sentinelles, une forte sécrétion cryptique de mucine est induite par ces cellules, par voie de signalisation TLR/facteur de différenciation myéloïde 88 (MyD88) pour éliminer les bactéries dans le lumen [35].

○ Les cellules entéro-endocrines

Les cellules entéro-endocrines (CEE) forment une vaste famille de cellules sécrétrices d'hormones comprenant au minimum 8 sous-types, selon les hormones produites [35]. Ces sous-types incluent notamment les cellules entérochromaffines et les cellules G. Les cellules G sécrètent de la gastrine, qui favorise la satiété et la libération de sucs digestifs [41]. Les cellules entérochromaffines produisent quant à elles de la sérotonine (ou 5-HT pour 5-hydroxytryptamine) [35]. Suite à un repas, les CEE produisent des hormones intestinales exerçant différentes fonctions, dont le contrôle local de la motilité et de la sécrétion hormonale d'autres cellules intestinales et de l'estomac, la régulation de la sécrétion d'insuline et la prise alimentaire [41].

○ Les cellules tuft

Une étude menée par Haber *et al.* en 2017 suggère l'existence de 2 sous-types de cellules tuft, l'une nommée tuft-1 et l'autre tuft-2. Le marqueur immun cluster de différenciation (CD)-45 est exclusivement exprimé par les cellules tuft-2 qui expriment aussi un niveau plus élevé de cytokine épithéliale lymphopoïétine stromale thymique (Tslp) que les tuft-1 [42]. Les cellules tuft sont chimiosensorielles et jouent à la fois un rôle dans la défense contre les helminthes et dans l'homéostasie des cellules lymphoïdes innées de type 2 (ILC2) [35]. La détection d'helminthes luminaux peut être effectuée par la protéine de liaison de guanosine triphosphate (GTP) α -gustducine qui active le canal ionique non-sélectif dit « de potentiel de récepteur transitoire » Trpm5 [35]. De manière constitutive, les cellules tuft sécrètent l'IL-25 pour assurer l'homéostasie des ILC2 [35]. Une augmentation de cette sécrétion a lieu suite à détection d'helminthes, ce qui va stimuler la sécrétion d'IL-13 par les ILC2 [35]. En retour, l'IL-13 agit sur les cellules progénitrices épithéliales qui induisent une prolifération des cellules tuft et caliciformes, entraînant ainsi une augmentation de la sécrétion de mucines [35]. Cette augmentation de sécrétion va permettre l'expulsion du parasite [35].

○ Les cellules spécifiques de l'intestin grêle

Certains types cellulaires sont uniquement retrouvés au sein de l'intestin grêle et comportent par exemple les cellules de Paneth situées au fond des cryptes avec les cellules souches, et les cellules M qui sont localisées au niveau des plaques de Peyer (Figure 9) [35]. Les cellules de Paneth contribuent au maintien et à la protection des cellules souches Lgr5⁺ résidant au fond des cryptes, tout en prévenant d'une éventuelle invasion de bactéries pathogènes [35]. Leur mécanisme d'action passe par la sécrétion de peptides antimicrobiens comme des α -défensines, des protéines III- β et III- γ en régénération d'îlots (RegIII- β , RegIII- γ), la phospholipase sécrétoire A2 (sPLA2) et des lysozymes notamment via la voie TLR/MyD88 [35]. L'axe NOD2–RIP2–LRRK2–RAB2A (cf. abréviations pour détail) est de plus nécessaire pour assurer la sécrétion de lysozymes par les cellules de Paneth suite à la détection d'un pathogène bactérien [35].

Les cellules M, ou aussi « microfold cells », contribuent à la présentation des antigènes bactériens aux cellules dendritiques [34]. Par ce biais, elles participent à la fois à l'implantation de la tolérance intestinale et à l'induction d'une réponse immunitaire [34]. Leur localisation au sein de l'épithélium associé au follicule compris dans les plaques de Peyer optimise leur action, tout

comme leur architecture qui facilite le contact avec les lymphocytes et les cellules dendritiques [35]. De manière similaire aux cellules caliciformes, les cellules M prélèvent du contenu luminal puis l'acheminent aux cellules dendritiques sous forme d'antigènes par transcytose, phagocytose ou via des microvésicules [35].

b) Jonctions cellulaires

La présence de jonctions intercellulaires entre les CEI permet d'assurer la formation et le maintien de la BEI et de ses propriétés [43] (Figure 11). Les jonctions recensées sont, dans le sens apical à basal, les jonctions serrées (« tight junctions », TJ), les jonctions intermédiaires dites « adherens junctions » ou zonula adherens et les desmosomes [44]. De plus, un autre type de jonctions recensées dans l'intestin sont les jonctions gap [45]. L'ensemble de ces jonctions forme le complexe de jonction apical. Ce complexe de jonction apical entretient un dialogue avec les adhésions focales qui sont des ensembles de protéines associées au cytosquelette permettant de lier les cellules à la matrice extracellulaire par adhésion dépendante des intégrines [46]. En complément, un réseau dense d'actine et de myosine II encercle la partie apicale des cellules et soutiennent le réseau cortical d'actine [44,47]. Ces deux réseaux jouent chacun un rôle distinct, l'anneau d'actomyosine périjonctionnel (PAMR) régule la BEI tandis que le réseau cortical d'actine soutient la bordure en brosse formée par les microvillosités [44,47]. Les jonctions intermédiaires et les desmosomes jouent un rôle primordial dans le maintien des jonctions intercellulaires via la mise en jeu de forces adhésives [44].

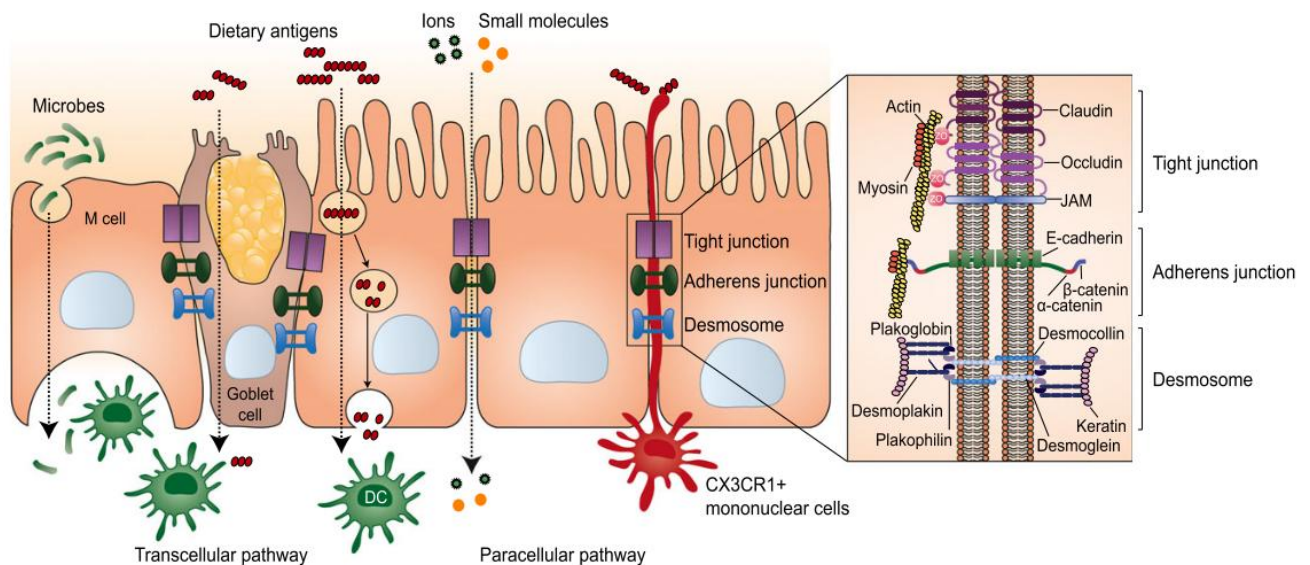


Figure 11. La BEI présente différents types de perméabilité (à gauche), modulée en partie par des jonctions intercellulaires intestinales formant le complexe de jonction apical (à droite) [48]

○ Jonctions gap

Les jonctions gap relient des cellules voisines en mettant en communication leur cytoplasme par la formation d'un canal à travers leurs membranes respectives (Figure 12, Figure 13) [49]. Ces canaux intercellulaires permettant le passage de petites molécules et d'ions entre les cellules adjacentes [50]. Six protéines transmembranaires appelées connexines sont comprises dans ces jonctions [49]. En plus de leur rôle dans les jonctions, les connexines impactent le développement et la différenciation des cellules épithéliales [49].

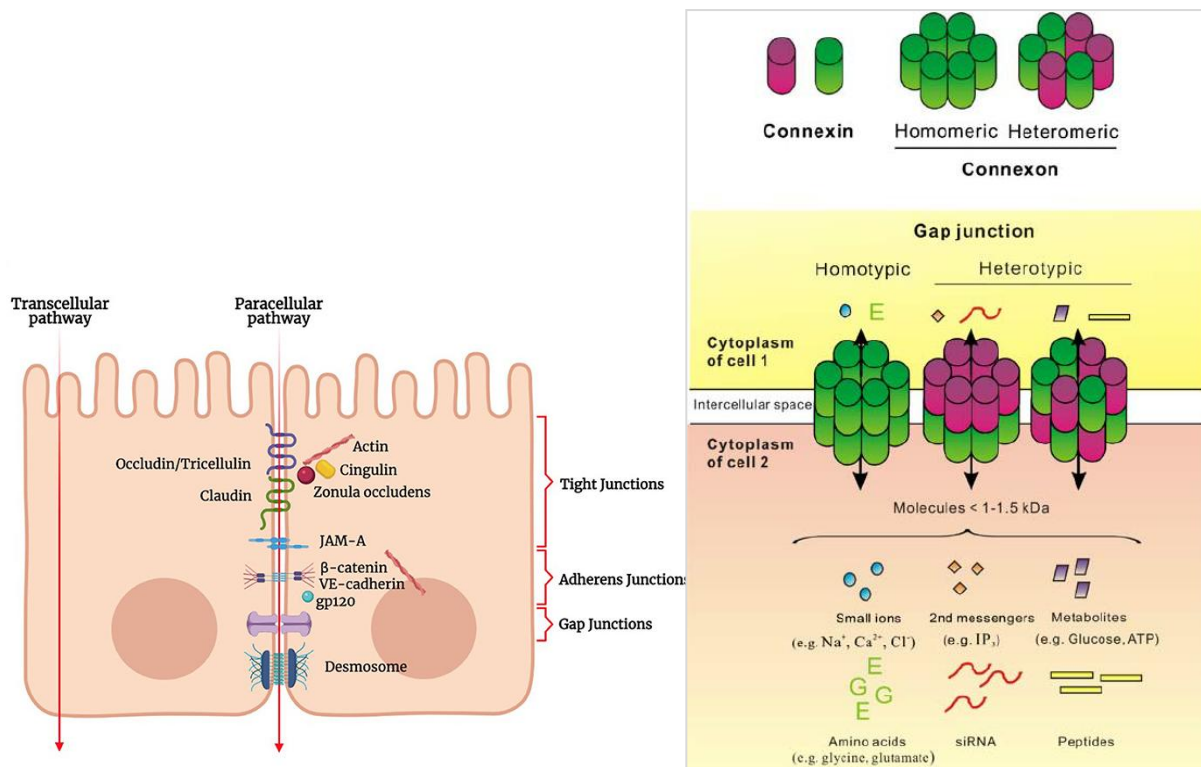


Figure 12. Localisation cellulaire des jonctions gap (à gauche, [51]) et leur structuration par des connexines permettant le passage sélectif de composés entre 2 cellules (à droite, [52])

○ Desmosomes

Les desmosomes sont des structures ponctuelles liées aux filaments intermédiaires du cytosquelette, ce qui permet le maintien d'une proximité cellulaire tout en servant de sites de communication intercellulaires (Figure 11, Figure 13) [45]. Les desmosomes sont constitués des familles de cadhérines desmogléines et desmocollines ainsi que de protéines telles que la desmoplakine et la kératine [50]. Les hémidesmosomes assurent quant à eux la liaison entre les cellules épithéliales et la lamina propria [53].

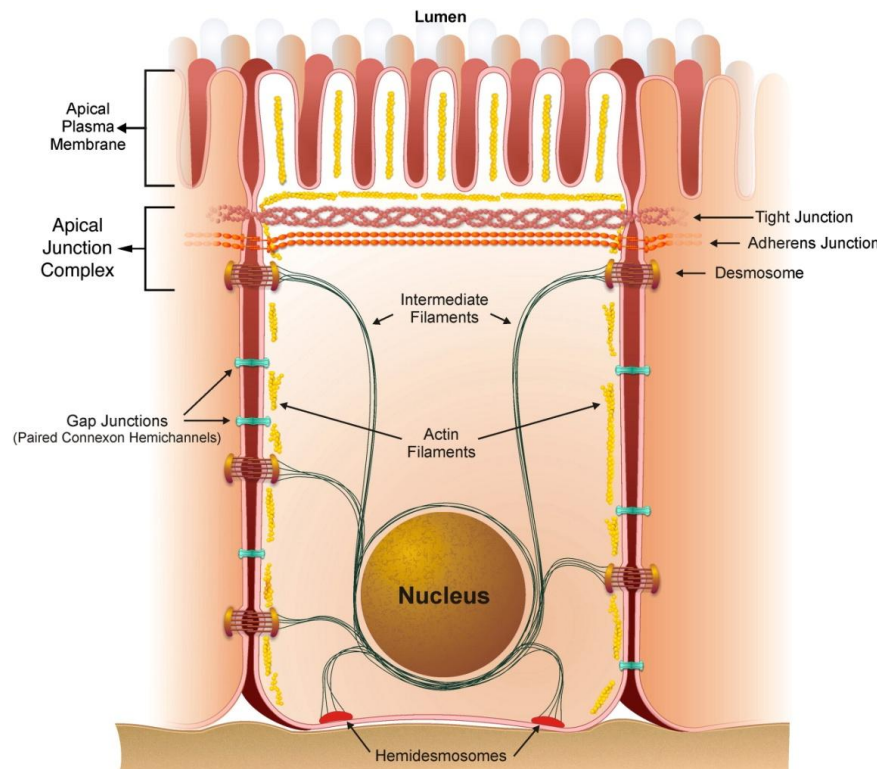


Figure 13. Représentation des jonctions cellulaires à l'échelle de la CEI avec leur liaison aux filaments intermédiaires et aux filaments d'actine [54]

○ *Jonctions intermédiaires*

Les jonctions intermédiaires sont composées de cadhérines qui sont des protéines transmembranaires s'associant de manière homotypique à la partie extracellulaire des cadhérines des cellules adjacentes (Figure 11) [44,45]. Ces jonctions sont en interaction avec le cytosquelette d'actine [44]. Leur localisation directement sous-jacente aux TJ contribue à un de leurs rôles majeurs, qui est d'assurer la mise en place efficace des jonctions serrées par stabilisation mécanique [44–46].

○ *Jonctions serrées*

Les jonctions serrées désignent un ensemble d'acteurs pouvant être catégorisés en protéines transmembranaires, protéines cytosoliques de structure et des protéines régulatrices, formant ensemble une structure complexe (Figure 11) [34,44]. Les TJ peuvent classiquement associer 2 cellules, donc former une TJ bicellulaire, ou associer 3 cellules de manière discontinue pour former une TJ tricellulaire [55]. Une forte interaction existe entre chacun de ces acteurs mais aussi avec le cytosquelette [34].

Les TJ jouent un rôle important dans les fonctions de barrière et de passage de la BEI, par un contrôle de la perméabilité paracellulaire. Elles permettent le passage sélectif de molécules d'eau, d'ions, de petites et macromolécules alors que le transport de protéines, de lipides et de peptides microbiens est empêché [34,43]. Ces fonctions sont sous contrôle de 2 familles de protéines des TJ transmembranaires traversant 4 fois la membrane cellulaire que sont les protéines associées aux TJ dits TAMPs (pour « Tight Junction-Associated MARVEL Proteins », avec MARVEL = « myelin and lymphocyte protein, and related protein for vesicle trafficking and membrane link ») et la famille des claudines [56]. Les TAMPs comprennent les protéines occludines, tricellulines et MarvelD3, tandis que les claudines forment une vaste famille de 27

protéines à ce jour identifiées chez le mammifère [56]. L'expression des TJ diffère selon l'âge de l'individu, avec par exemple la claudine-2 exprimée dans le côlon uniquement au stade fœtal et non chez l'adulte [55]. Le passage des composés est par ailleurs régulé par des facteurs environnementaux et physiologiques [43,55]. Cette régulation dynamique peut être effectuée par des molécules de transduction de signalisation intracellulaire telle que les petites protéines de liaison guanosine-5'-triphosphate, des tyrosines kinases, des bactéries, des aliments ou de l'hyperglycémie [46]. Les protéines transmembranaires sont en effet des phosphoprotéines dont la phosphorylation peut influencer l'interaction entre les protéines des TJ et donc la stabilité des TJ [57].

Les TAMPs

- *MarvelD3*

Les protéines MarvelD3 ont été récemment identifiées comme membres de la famille des TAMPs. Leur caractérisation est encore incomplète et controversée [58,59]. La littérature montre que la présence de MarvelD3 n'est pas nécessaire à l'établissement de TJ fonctionnelles mais que leur déplétion a un impact sur la résistance électrique transépithéliale (TEER), soit par une réduction ou une augmentation de celle-ci selon l'étude considérée [58,59]. D'autres études indiquent l'impact des MarvelD3 sur la régulation de la prolifération et de la migration cellulaire [59].

- *Tricellulines*

Les tricellulines se concentrent au niveau des TJ tricellulaires où elle forme une barrière aux macromolécules sans affecter la perméabilité aux ions, car leur nombre est trop limité pour assurer une régulation du passage des ions [45,55]. Ces protéines forment un tube central permettant un passage sélectif de composés (≤ 10 kDa) [50].

- *Occludines*

Les premières protéines de TJ à avoir été identifiées sont les occludines [34]. Ces protéines contribuent à l'intégrité structurelle des TJ [34]. Leur niveau d'expression est corrélé aux fonctions de la BEI [34]. Des souris knock-out (KO) pour l'occludine présentent certes des TJ intacts, mais souffrent en parallèle d'une inflammation chronique et d'un défaut de barrière intestinale [34]. La phosphorylation des occludines sur certains résidus sérine, thréonine ou tyrosine régule l'interaction des occludines avec d'autres protéines de TJ comme zonula occludens 1 (ZO-1) [57]. Par exemple, le résidu S471A est un potentiel site de phosphorylation stabilisateur de l'occludine impliqué dans son interaction avec ZO-1 [57].

Les claudines

- *Claudines*

Les claudines régulent l'espace paracellulaire et la sélectivité aux ions par la formation de pores [34]. Elles possèdent plusieurs isoformes qui sont distinctes par leurs fonctions [34]. Deux classes sont distinguées : les claudines formant des pores et les claudines de scellage [55]. Parmi les claudines de scellages des TJ sont retrouvées les claudines 1 à 5, 8, 11, 14, 18, et 19 [55]. Les claudines formant des pores comprennent notamment les claudines 2, 10a/10b, 15 à 17 [55]. La

claudine 2 forme notamment des canaux paracellulaires sélectifs en taille pouvant alterner entre un état ouvert et fermé [44]. Chaque claudine formant des pores se démarque par une spécificité selon la charge ionique et la taille de l'ion considéré [55].

Les protéines structurantes des TJ

- *Zonula occludens (ZO)*

Les protéines ZO sont des protéines d'échafaudage associées à la membrane périphérique et exprimées de manière ubiquitaire par les cellules endothéliales et épithéliales [34]. Elles sont à la fois en interaction directe avec les protéines transmembranaires des TJ, avec le cytosquelette d'actine, mais aussi avec des éléments régulateurs d'actine [44]. Cette famille de protéines regroupe plusieurs isoformes que sont ZO-1, ZO-2 et ZO-3. ZO-1 est l'isoforme interagissant principalement avec les protéines transmembranaires des TJ [44]. Les ZO tout comme les cingulines sont essentielles à la structuration et à la connexion des protéines de TJ au cytosquelette [34].

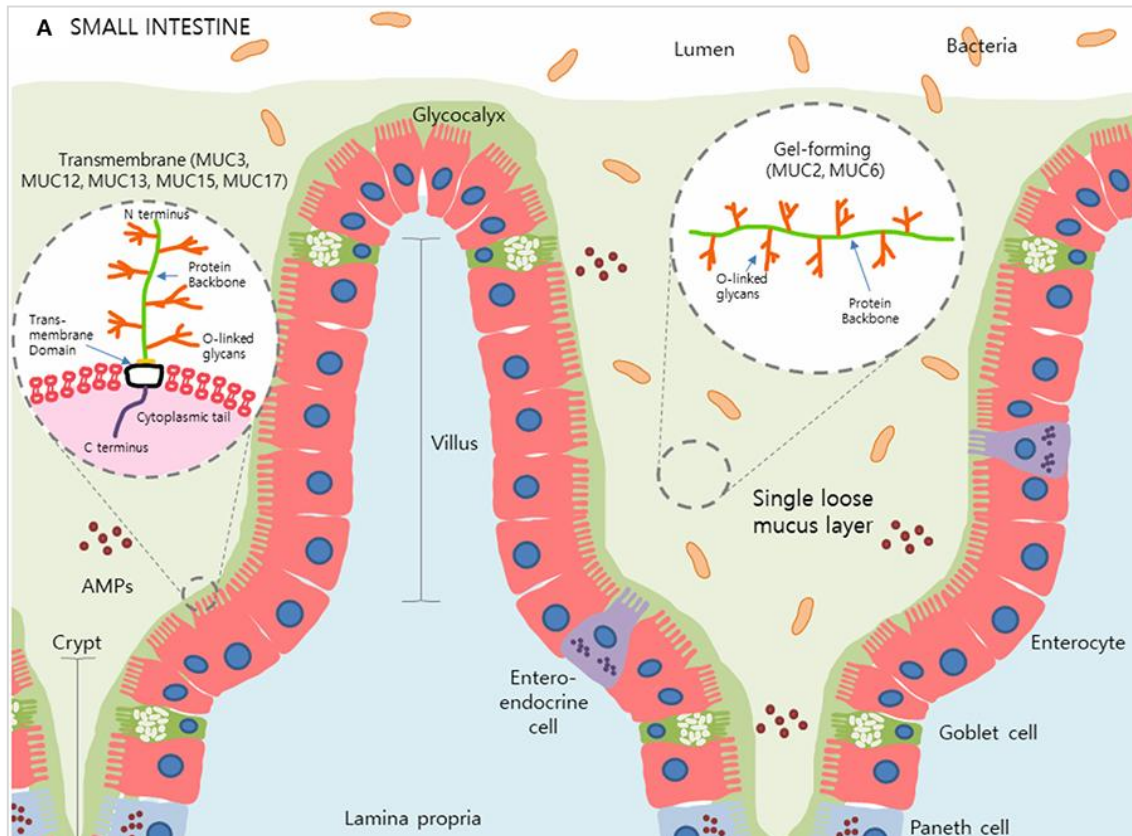
- *Molécules d'adhésion jonctionnelle (JAM)*

Les JAM sont nécessaires à la maintenance de l'intégrité de la BEI, en participant à la régulation de la formation des TJ [34,45]. La fonction des JAM ne se limite pas à la BEI. Elles contribuent aussi à l'adhésion cellulaire des cellules endothéliales et à la migration des neutrophiles [45]. Cette famille de molécules fait partie d'une famille plus large d'immunoglobulines (Ig) [45]. JAM-A est l'un des premiers membres décrits et son importance est notamment visible chez des souris dépourvues de JAM-A qui présentent une augmentation de perméabilité associée à une translocation bactérienne plus élevée [34].

c) Mucus

La couche de mucus est la partie de la BEI au contact direct avec le lumen intestinal (Figure 14). Sa présence est décisive pour réguler l'exposition de l'épithélium intestinal au microbiote [34]. Elle facilite également le passage longitudinal du contenu luminal le long de l'intestin [53]. Dans le côlon, cette couche de mucus représente une barrière complexe, en partie chimique, dynamique, et essentiellement constituée de Muc-2 sécrétée par les cellules caliciformes qui lui confère ses propriétés viscoélastiques (Figure 14) [39,60]. En plus de mucines, le mucus à la surface du côlon retient une concentration élevée de phospholipides dont plus de 90% sont des phosphatidylcholines et des lyso-phosphatidylcholines, organisées en structures lamellaires [61,62]. De plus, les CEI expriment des mucines transmembranaires donc Muc-3A/B, Muc-12, Muc-13, Muc-15 et Muc-17, Muc-20 et Muc-21 à proximité des TJ apicales qui forment une couche riche en carbohydrates appelée glycocalyx (Figure 14) [60]. Le réseau Muc-2 d'une épaisseur pouvant atteindre 800 µm est structuré par des liaisons disulfures formant la couche interne de mucus, en contact direct avec l'épithélium intestinal et appauvri en bactéries commensales [39,45]. Cette relative stérilité est due aux concentrations élevées dans la couche de mucus de peptides antimicrobiens comme des cathelicidins, des défensines, des cryptidins et des Ig [39,45]. Des Ig telles que les IgA produites par les lymphocytes B assurent la tolérance au microbiote commensal et aux aliments, tout en luttant contre les pathogènes [63]. Elles contribuent à la mise à distance des pathogènes à la BEI, en empêchant leur ancrage aux cellules épithéliales par blocage de leurs récepteurs spécifiques à l'épithélium [45,53]. Non seulement des micro-organismes mais aussi des antigènes alimentaires sont ainsi emprisonnés dans le mucus [63]. Ces IgA peuvent également

induire la diminution de l'expression d'épitopes pro-inflammatoires sur les bactéries, et induire par opsonisation l'internalisation des bactéries luminales par des CEI, qui entraîne ensuite leur restitution dans la lamina propria pour une prise en charge par des cellules immunes [45]. De ce fait, une surveillance immunitaire du lumen est assurée [45]. En contact direct avec le lumen, la couche de mucus est exposée aux enzymes de l'hôte et du microbiote qui vont dégrader la partie apicale de la couche par hydrolyse. Cette partie moins dense en mucus permet la présence de bactéries du lumen et forme la couche externe de mucus [39,45]. La bicouche de mucus est visible uniquement au niveau du côlon, tandis que l'intestin grêle ne présente qu'une seule couche diffuse (Figure 14) [53].



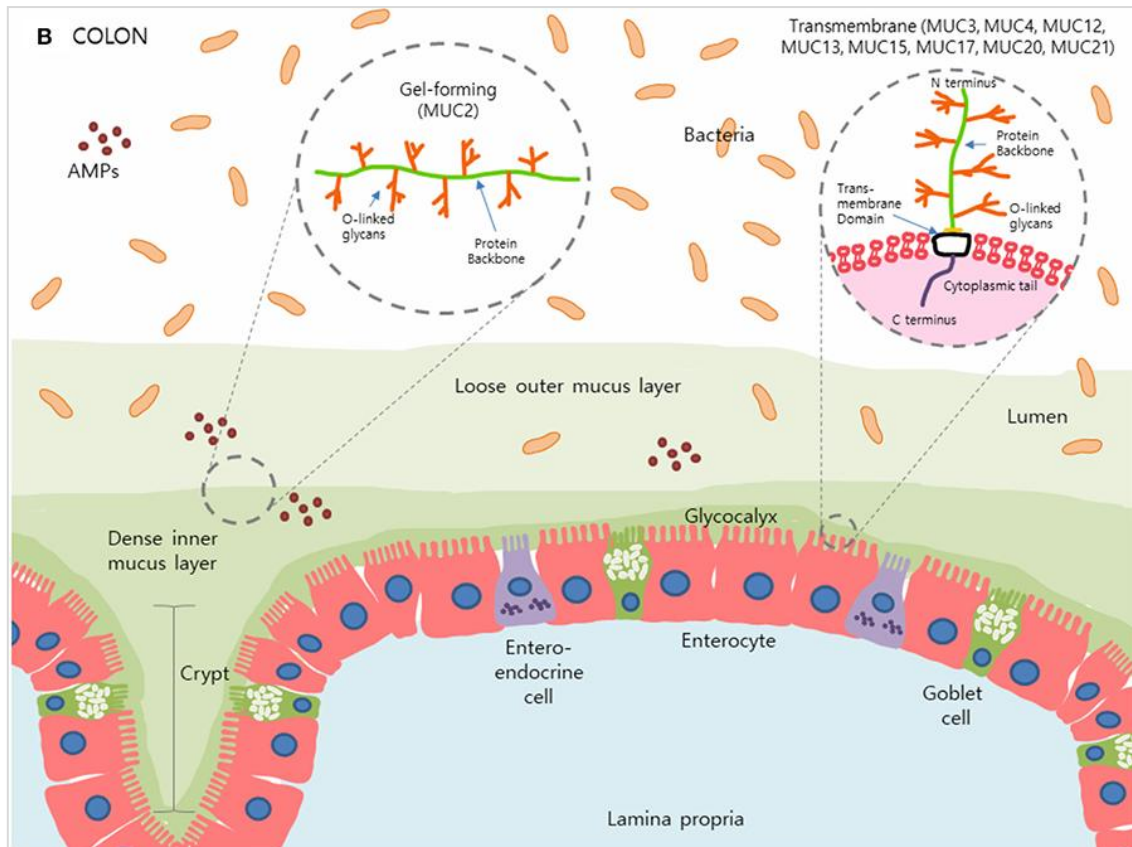


Figure 14. Représentation de la couche de mucus dans l'intestin grêle et le côlon [60]

La barrière épithéliale intestinale est une structure complexe associant une diversité de cellules à une (bi)couche de mucus dont les fonctions et mécanismes d'action diffèrent selon la localisation intestinale (Figure 15).

IEC subtype	Localization	Role	Subsets
Enterocyte	Small intestine (enterocyte) Colon (colonocyte)	Physical barrier Nutrient/water absorption Epithelial shedding Secrete antimicrobials	Differentiate as they migrate up the crypt axis Cells at apical tips metabolize microbial SCFAs → consume O ₂ in colon Cells at the base of crypts ferment glucose to lactate and do not consume O ₂
Goblet cell	Small intestine Colon	Mucin secretion Goblet cell-associated passage Secret antimicrobials	Sentinel goblet cells Detect and endocytosis bacterial products Are directly responsible for pathogen-induced compound mucus exocytosis
Paneth cell	Small intestine	Secrete antimicrobials Support the stem cell niche	
Tuft cell	Small intestine Colon	Helminth detection ILC2 expansion through production/secretion of IL-25	Tuft1: TSLP; Tuft2: CD45 Tuft cells develop differently depending on if they are located in the small intestine or colon
Enteroendocrine cell	Small intestine Colon	Secrete hormones	Enterochromaffin cells, G cells, K cells, I cells, S cells, and other
M cell	Small intestine (follicle-associated epithelium)	Antigen uptake	Inflammation-induced M cells Cholera toxin treatment causes M cells to form at villus tips

Figure 15. Synthèse des types de CEI [35]. A noter comme correction : « Tuft1 : Pouf2 ».

2) Fonctions de la BEI

La BEI assure plusieurs fonctions qui ne sont pas uniquement digestives mais également défensives. Pour ce faire, la BEI est en étroite interaction avec le système immunitaire, le système nerveux entérique (SNE) et le microbiote intestinal.

a) Perméabilité

Une régulation fine de la perméabilité de la BEI est nécessaire pour assurer l'intégrité de la barrière tout en permettant le déroulement de processus métaboliques et la tolérance immunitaire [46]. Les CEI régulent en effet le passage d'ions, d'eau et de nutriments tout en empêchant le passage de toxines et de pathogènes d'origine bactérienne, ce qui contribue au maintien de l'homéostasie intestinale [34].

○ Perméabilité transcellulaire

L'une des voies mise en jeu dans la perméabilité est la voie transcellulaire qui permet le passage de composés de manière passive, ou active à travers la cellule par l'action de transporteurs et récepteurs [34,45]. Les canaux d'eau appelés aquaporines constituent par exemple la voie transcellulaire principale de passage de l'eau dans le tractus GI [64]. La diffusion passive permet le passage de petits lipides solubles et de petits composés hydrophiles tandis que les macromolécules, comme des antigènes ou des protéines alimentaires (>600kDa), nécessitent un transport actif par endocytose [48,50]. Le passage de macromolécules est assuré par plusieurs systèmes d'endocytose sélectifs et non sélectifs [65]. Parmi ces systèmes est retrouvé l'endocytose dépendante de clathrines, qui implique l'invagination de la membrane avec formation de puits recouverts de clathrine, suite à la liaison d'une molécule à un récepteur spécifique [45,50]. Des vésicules sont ainsi formées et fusionnent avec des endosomes précoces [45]. Le produit de cette fusion va ensuite, soit être dégradé par interaction avec les lysosomes, soit passer au pôle basolatéral par transcytose tout en recyclant les récepteurs impliqués [45]. Certaines cellules spécialisées comme les cellules M et caliciformes participent à la prise en charge transcellulaire des antigènes du lumen et vont présenter par transcytose les composés au système immunitaire, contribuant ainsi à la surveillance immune [45,48].

○ Perméabilité paracellulaire

La perméabilité paracellulaire désigne une diffusion passive de composés hydrophiles (entre 400 Da et 20 kDa), d'ions et d'eau à travers l'espace intercellulaire, et qui est soumise aux gradients de concentration [34,50,53,66]. Celle-ci est essentiellement déterminée par les TJ qui discriminent le passage des composés selon leur taille et leur charge [44]. Deux voies permettent le passage paracellulaire : la voie des pores « pore pathway » et la voie perméable « leak pathway » (Figure 16) [44]. La perméabilité par la voie des pores est déterminée par sa composition en claudines, qui va réguler le passage d'ions de manière sélective et avec une haute capacité [43,44]. La voie perméable régule le passage de macromolécules en faisant appel aux occludines, tricellulines, et par extension, également à leur partenaire cytoplasmique ZO-1 mais aussi à la kinase de la chaîne légère de la myosine (MLCK) (Figure 16) [43,44]. En effet, la phosphorylation de la chaîne légère de la myosine par MLCK induit la contraction de PAMR et donc une tension sur les protéines de TJ à l'origine d'un écartement entre les cellules augmentant la perméabilité paracellulaire [47]. MLCK comportent 2 variants que sont MLCK1 et MLCK2, qui sont respectivement retrouvés au niveau de PAMR et dans le cytosol [47]. MLCK1 constitue un

régulateur important de la barrière paracellulaire et peut être activé par le co-transport de glucose et sodium (Figure 16).

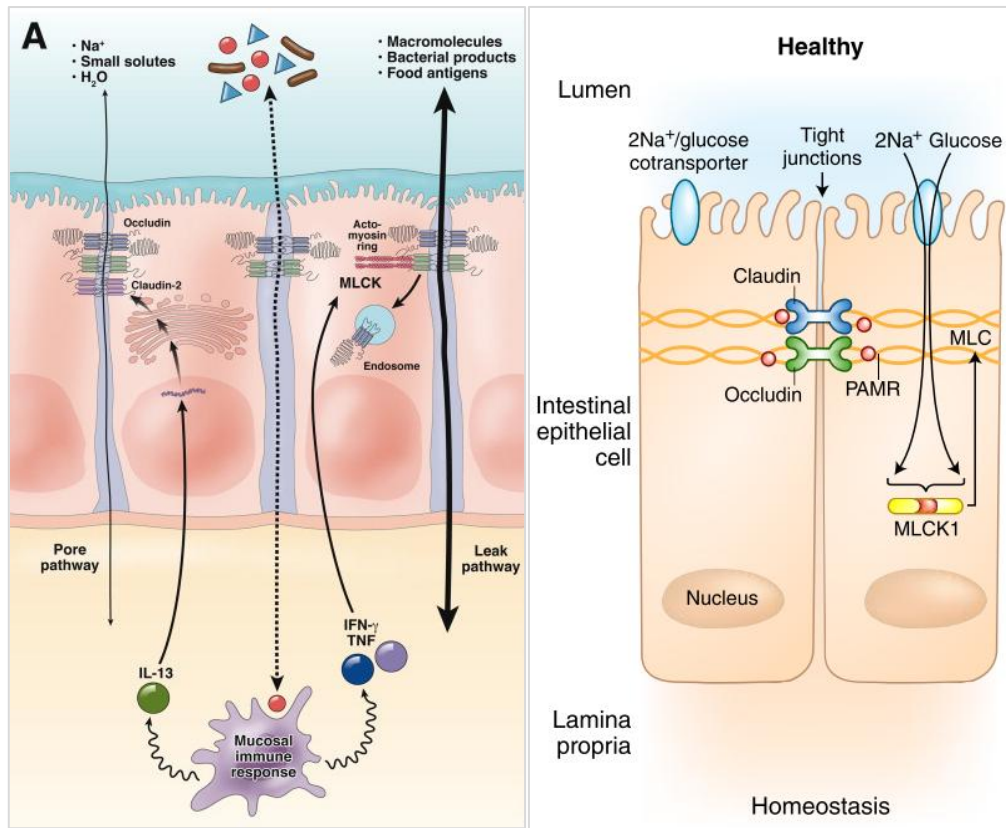


Figure 16. Perméabilité paracellulaire par voies "pore" et "leaky" [67] (à gauche) et régulation physiologique de la perméabilité paracellulaire (à droite) [47]

b) Métabolisme de l'hôte

La BEI permet ainsi le passage régulé de molécules nécessaires à l'organisme, dont les nutriments apportés par la digestion d'aliments. Par exemple, la BEI au niveau de l'intestin grêle constitue le lieu d'absorption majoritaire des minéraux par transport actif [68]. Les lipides sous forme d'acides gras sont aussi pris en charge par la BEI, via plusieurs protéines de transport des CEI telles que la protéine transmembranaire FATP qui favorise l'internalisation cellulaire d'acides gras polyinsaturés (AGPI) à longue chaîne [69]. D'autres protéines comme la protéine de liaison d'acides gras (FABP) et l'acyl-coenzyme A synthétase à longue chaîne (ACSL) et CD36 participent à l'internalisation des AGPI [69]. L'absorption de glucose est également transcellulaire et soumise à un gradient de concentration [53]. Elle fait appel au co-transporteur Na^+ -glucose apical 1 (SGLT1) et le transporteur de glucose 2 (GLUT2) indépendant du sodium [53]. La sécrétion d'eau est présente en proportion égale tout le long de l'intestin afin d'assurer l'hydratation de l'épithélium [53]. De même, l'absorption intestinale de calcium est nécessaire à l'homéostasie de l'ensemble des organes, et s'effectue par les deux voies transcellulaire et paracellulaire de perméabilité [53].

c) Défense

Les principaux mécanismes de défense des CEI ont pour but : soit de tenir à distance les bactéries pathogènes par production de mucines et de peptides antimicrobiens, soit de recruter des cellules lymphoïdes et myéloïdes au site d'infection par la production de facteurs

chimiotactiques [35,38]. Par ailleurs, les CEI peuvent aussi prendre en charge les bactéries pathogènes, par phagocytose ou par séquestration et neutralisation des toxines bactériennes [34]. En effet, un inflammasome spécifique à la cellule est activé en cas d'intrusion directe d'un pathogène au sein d'une CEI [35]. L'inflammasome est un complexe de signalisation macromoléculaire se formant en réponse à des motifs moléculaires associés à des pathogènes (PAMP) ou aux dégâts cellulaires (DAMP) issus d'atteintes faites au cytoplasme [35]. L'inflammasome, tout comme caspase-4 et -11 après exposition au lipopolysaccharide (LPS) bactérien, va activer caspase-1 (Figure 17) [35]. Il s'ensuit alors la production et la sécrétion d'IL-18 qui est à l'origine de l'induction d'une forme de mort cellulaire appelée pyroptose. Un réseau d'actine se forme autour des CEI en pyroptose, retenant les pathogènes au sein du cytosquelette tout en maintenant l'intégrité de la BEI [35]. Les CEI en pyroptose sont ensuite expulsées de la BEI, rejoignant le contenu luminal [35]. En parallèle de ce processus, l'inflammasome entraîne la formation de pores de gasdermines D (Gsdmd) au niveau des CEI en pyroptose qui vont libérer leur cytoplasme dans le lumen et sécréter de l'IL-18 et de la prostaglandine E₂ (PGE₂) (Figure 17) [35]. Ces cytokines induisent à la fois la production d'IFN- γ , le recrutement de neutrophiles et la sécrétion de fluides aidant l'expulsion de ces cellules [35]. De même, caspase-8 peut induire la mort cellulaire via un inflammasome de la protéine de la famille de récepteurs de type Nod contenant le domaine 4 d'activation et de recrutement des caspases (Nlrp4) formé suite à la détection de flagelles (Figure 17) [35]. La reconnaissance d'autres composants bactériens via les TLR des CEI va activer le facteur nucléaire KB (NF-KB) et donc l'expression de composés de l'inflammasome qui va préparer les cellules voisines à une éventuelle atteinte cytoplasmique [35]. Les cellules sentinelles caliciformes jouent de manière similaire un rôle dans la défense contre des pathogènes, à travers la formation d'un inflammasome de la protéine de la famille NLR contenant le domaine pyrine 6 (Nlrp6) après détection d'un pathogène par leur TLR (Figure 17) [35]. Cet inflammasome Nlrp6 est à l'origine d'une sécrétion massive de mucines par la cellule sentinelle caliciforme, mais également par les cellules caliciformes adjacentes via une signalisation par jonctions gap [35].

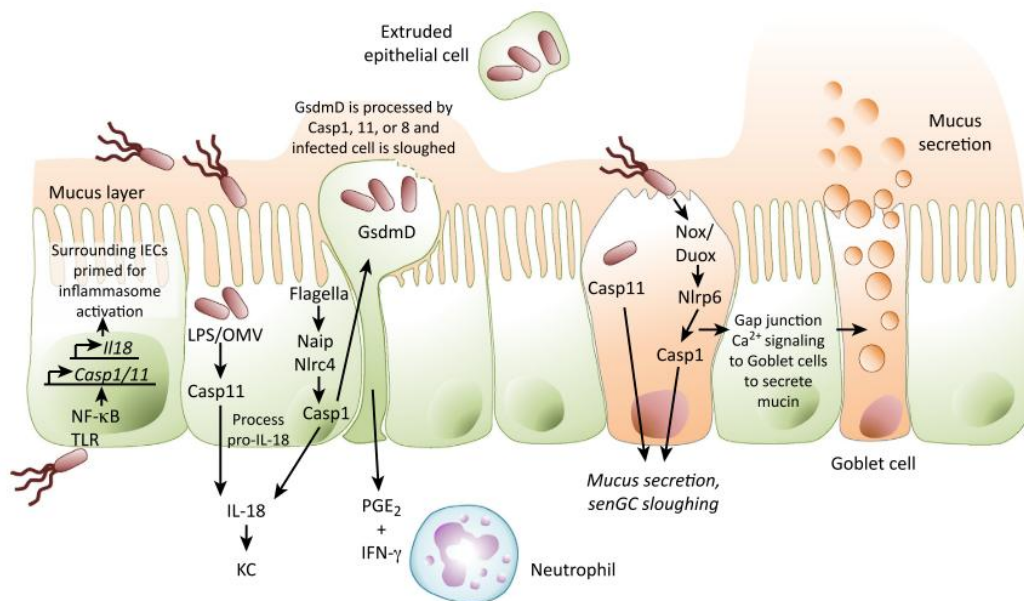


Figure 17. Mécanismes de défense de la BEI [35]

d) Réparation

L'homéostasie de la BEI passe par le maintien de l'intégrité de la BEI. Cette homéostasie dépend notamment de la capacité à réguler la mort cellulaire des CEI [70]. Brièvement, la mort cellulaire programmée comprend plusieurs formes dont l'apoptose, l'anoïkose, la nécroptose, et la pyroptose avec les deux premiers restreignant l'inflammation et les deux derniers étant pro-inflammatoires (Figure 18) [70]. En effet, l'apoptose peut être physiologique et advenir à la pointe des villosités [70]. Chacun de ces modes de mort cellulaire se distingue par leur induction, leurs cellules ciblées et leurs mécanismes d'action mis en jeu. La pyroptose assure par exemple la défense contre les pathogènes intracellulaires et entraîne la libération du contenu cellulaire et des pathogènes dans le lumen intestinal [70]. L'anoïkose permet l'extrusion de la BEI de certaines CEI comme des cellules tuft, caliciformes ou entéroendocrines [70]. La nécroptose constitue une alternative à l'apoptose lorsque celle-ci est inhibée et est fréquemment rencontrée par les cellules de Paneth à la base des cryptes intestinales [70]. À ce même lieu, les cellules souches peuvent être susceptibles à l'apoptose, qui génère des corps apoptotiques dans l'attente d'être prise en charge par les phagocytes, ce qui permet d'éviter l'induction d'une inflammation [70]. Toutefois, un retard dans l'élimination des cellules apoptotiques entraîne une nécrose secondaire induisant la libération des contenus intracellulaires [70]. Par ailleurs, chaque mode de mort cellulaire induit la libération de facteurs comme des DAMP (i.e. ATP, IL-1 α , IL-33, HMGB1 pour « high mobility group box 1 ») qui peuvent stimuler la prolifération cellulaire pour compenser la perte de cellules [70].

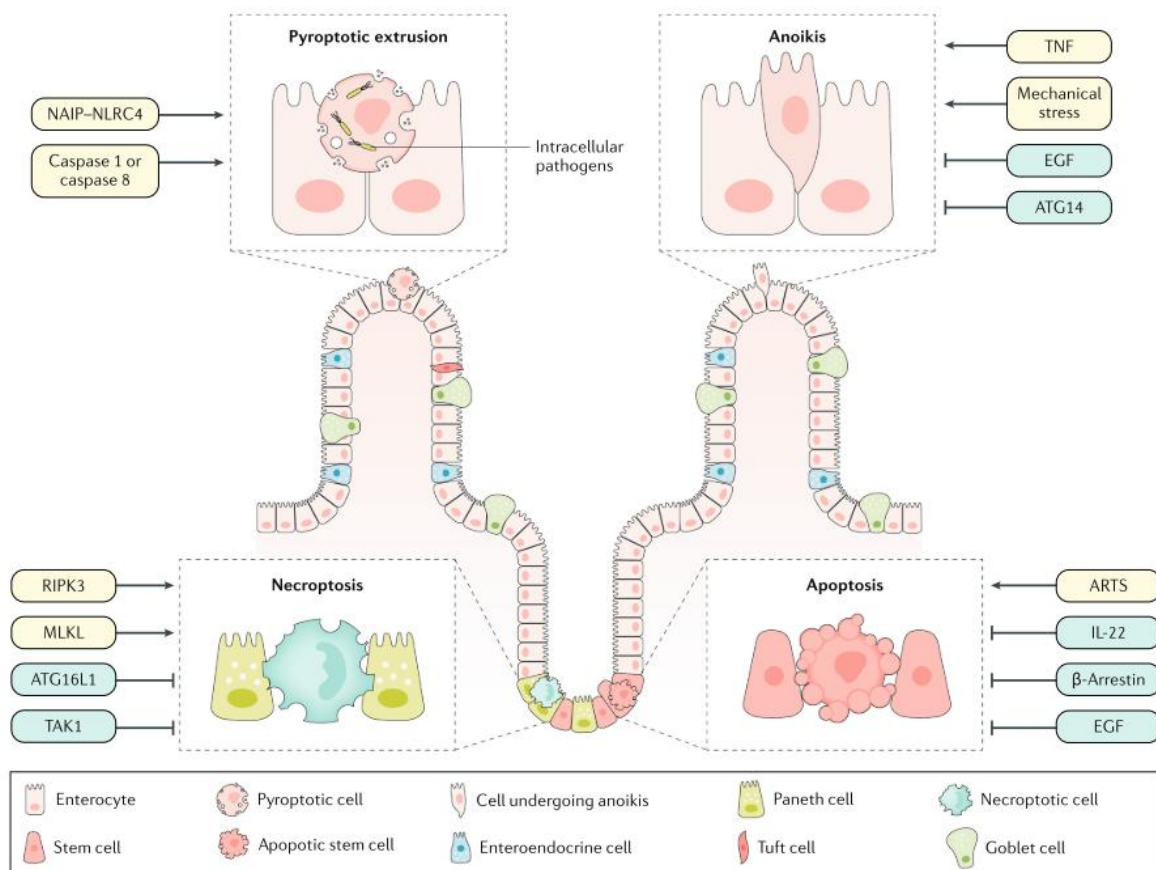


Figure 18. Les différents modes de mort cellulaire rencontrés dans l'intestin et leur stimuli associés [70]

Les processus de réparation de la muqueuse sont régis par une interaction orchestrée spatialement et temporellement entre différents acteurs que sont les CEI, les cellules immunes et les cellules souches mésenchymateuses (Figure 19) [37]. L'élimination de CEI infectées ou une atteinte des CEI s'accompagnent de la formation et de la contraction de faisceaux multicellulaires d'actomyosine, qui vont mener à l'expansion des TJ à la surface basale des cellules extrudées pour assurer un rapide retour à la continuité de l'épithélium [44]. Au niveau de l'intestin grêle, une atteinte sévère de l'intégrité de la BEI entraîne la contraction des villosités via la contraction de myofibroblastes, ce qui réduit la surface dénudée de l'épithélium [55]. Les myofibroblastes et les fibroblastes prolifèrent au niveau du site endommagé et produisent du collagène suite à l'initiation des processus de réparation de la muqueuse [37].

Quelques minutes après l'apparition de la lésion, un processus de restitution épithéliale se met en place et consiste, pour les CEI adjacentes au site endommagé, à recouvrir la partie dénudée sans prolifération, ce qui nécessite au préalable une dépolarisation des cellules pour désassembler les microvillosités [37,55,61]. Des endosomes de recyclage vont réinsérer par la suite les protéines des TJ éventuellement internalisées pour restaurer la polarité cellulaire [55]. De ce fait, des changements au niveau du cytosquelette d'actine sont requis pour la restitution épithéliale et sont induits par des petites GTPases [61]. Ce processus est régulé par des cytokines [61]. En ce sens, les cellules souches mésenchymateuses et les CEI jouent un rôle dans ce processus de réparation, par la production notamment du facteur de croissance transformant β (TGF- β) [37]. TGF- β augmente la production des myofibroblastes de protéines extracellulaires, et stimule la production du facteur de croissance de fibroblastes FGF2 et IL-17 par les lymphocytes T régulateurs (Treg) et T helper (Th)17 [37]. Ces deux composés induisent plusieurs gènes liés à la régénération épithéliale comme celui de la métalloprotéase de la matrice 9 (MMP9) [37]. De plus, les cellules souches mésenchymateuses des cryptes intestinales produisent d'autres composés comme Wnt2b et Wnt5a qui jouent un rôle dans la régénération des cryptes intestinales et de l'épithélium, ainsi que l'IL-33 qui induit la différenciation en CEI sécrétrices [37]. Des cellules immunes comme les ILC2 et ILC3 contribuent à la réparation de la muqueuse, en assurant la défense antimicrobienne et en induisant la prolifération de CEI [37]. Les macrophages tout comme les CEI produisent aussi de l'IL-36 afin de stimuler les cellules mésenchymateuses pour favoriser la réparation de la muqueuse [37]. De manière intéressante, les TLR présentés par les CEI contribuent à la régulation des processus de réparation [61]. TLR4 réduit la translocation bactérienne à l'apparition d'une lésion et TLR2 induit la synthèse de TFF3 qui favorise la survie des CEI et la cicatrisation de la muqueuse [61].

Quelques heures ou jours après l'initiation de la lésion, des processus de prolifération et de différenciation cellulaire se mettent en place [61]. La régénération est assurée par les cellules souches des cryptes qui prolifèrent pour restaurer le nombre de cellules composant la BEI [55].

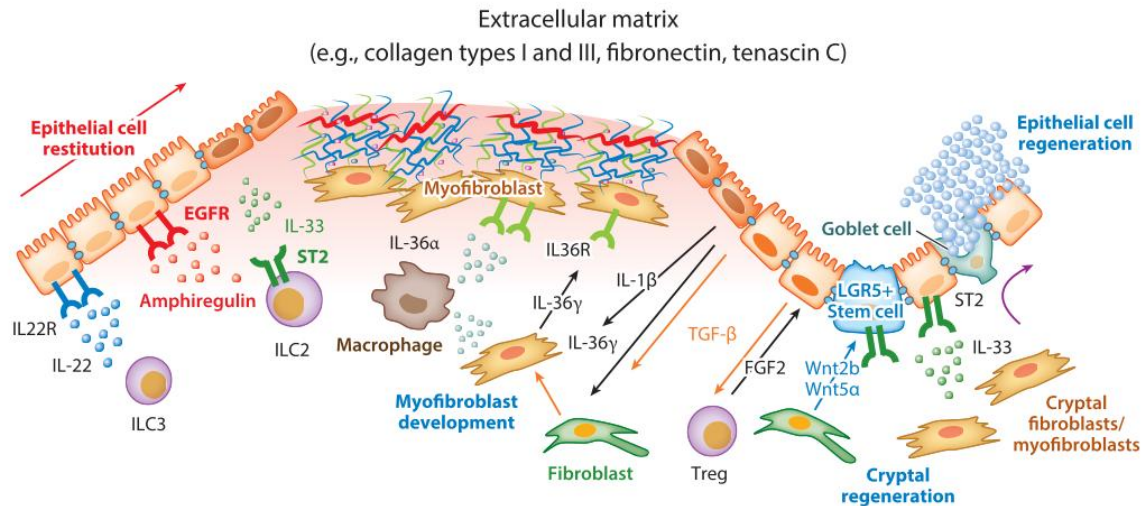


Figure 19. Processus de réparation et de régénération de la muqueuse intestinale [37]

3) Dégradation de la BEI dans les MICI

La BEI se révèle être un élément important dans le maintien des fonctions intestinales, et une dérégulation de celle-ci est associée au développement de maladies chroniques telles que les MICI [34]. Certaines études suggèrent qu'un défaut de BEI précède l'induction d'une MICI, avec près de 40% des membres de la famille au premier degré d'un patient atteint d'une MC présentant une altération de la perméabilité de l'intestin grêle [51]. De plus, la majorité des loci génétiques associés à une prédisposition aux MICI sont liés à un défaut de BEI fonctionnelle [51]. Ainsi, il a été démontré que des patients MICI possédant une mutation au niveau de NOD2 présentent des contacts intercellulaires épithéliaux dérégulés [51]. En effet, NOD2 est le récepteur primaire du dipeptide muramyle présent chez les bactéries Gram positives et négatives [71].

Tout d'abord, la couche de mucus est impactée dans les MICI. Cette première ligne de défense s'avère amoindrie chez les patients atteints d'une MC et RCH qui présentent une diminution de la sécrétion de Muc-2 [72]. La couche de mucus de patients atteints d'une RCH échoue à inhiber le contact de bactéries du lumen à l'épithélium intestinal, et sa concentration en phosphatidylcholine et lyso-phosphatidylcholine est réduite de 70% pour les patients [62,71]. De plus, une diminution du nombre de cellules caliciformes dans les tissus intestinaux des patients MICI est observée. L'importance de la couche de mucus est confirmée chez l'animal à travers des souris dont la déficience en Muc-2 entraîne le développement d'une colite [71]. De même, des essais cliniques contrôlés par placebo sur patients atteints de RCH sous traitement ou non, montrent une induction de rémission plus élevée suite à l'administration journalière de phosphatidylcholine à libération retardée [61].

Une perte de l'intégrité de la BEI est observée chez les patients MICI, accompagnée d'une altération de sa structure, de sa composition et des fonctions des TJ [34,44]. Une augmentation de l'expression de claudine 2 génératrice de pores et une diminution de plusieurs protéines structurantes de la BEI comme JAM-A, l'occludine et la tricelluline ont été observées dans la muqueuse intestinale des patients MICI [34,43,51]. Par ailleurs, la claudine 5 et 8 sont diminuées dans la MC et la claudine 4 dans la RCH [51]. La claudine 2 est connue pour être fortement exprimée dans les tissus épithéliaux perméables dits « leaky » et son augmentation favorise l'inflammation [34]. Ces altérations sont à l'origine d'une augmentation de perméabilité intestinale [46]. La perméabilité est alors non sélective et à haute capacité, ce qui va jusqu'à permettre le

passage de larges protéines et de bactéries [44]. À la fois la perméabilité paracellulaire et transcellulaire sont augmentées dans les MICI, avec une expression anormale des TJ, une augmentation de l'activité MLCK et une internalisation bactérienne dans l'épithélium [51].

L'interaction entre la BEI et le système immunitaire, et donc la réponse immunitaire, sont en parallèle dérégulés [46]. Cette dérégulation contribue également à l'augmentation de perméabilité. En effet, une concentration élevée d'IFN- γ et de TNF- α sont retrouvées dans la muqueuse de patients MICI. Ces cytokines jouent un rôle à la fois dans la cascade pro-inflammatoire et dans la dérégulation de la BEI [51]. Allant dans ce sens, une thérapie par anticorps anti-TNF a montré une amélioration de la fonction de barrière chez des patients MICI [61]. TNF- α se lie aux récepteurs TNF 2 (TNFR2) des CEI qui induit l'augmentation de l'expression de MLCK1 qui va lui-même induire la contraction de PAMR et donc une augmentation de perméabilité paracellulaire (Figure 20) [47]. Une endocytose des occludines participe par ailleurs à cette augmentation de perméabilité [47]. L'importance de MLCK1 dans les MICI est d'ailleurs souligné chez la souris, où une colite induite génère une concentration de MLCK1 aux PAMR des CEI non visible en condition saine [47]. La perméabilité intestinale se révèle être un processus clef dans l'évolution d'une MICI, et sert même d'indicateur pronostique pour les patients MC en rémission chez qui une augmentation de la perméabilité précède la rechute de la maladie [34,44].

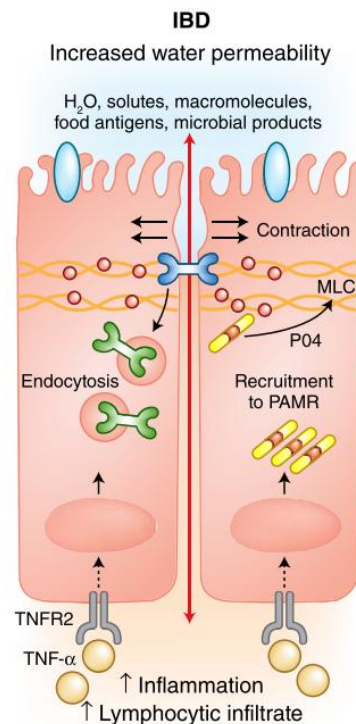


Figure 20. Augmentation de la perméabilité intestinale dans les MICI [47]

Les patients MICI présentent par ailleurs un défaut de production de défensines [51]. Les patients atteints d'une MC présentent un faible niveau de l'expression constitutive d'*HBD1* (codant pour β -défensine 1) au niveau du côlon, et une induction défaillante d'*HBD2* et *HBD3* [51]. Cette diminution impacte leur rôle dans la défense contre les pathogènes, mais aussi leur contribution à la réparation de la BEI. La *HBD2* augmente en effet la production de mucines et inhibe l'apoptose des CEI induite par TNF des lignées cellulaires Caco-2 et HT-29 [61].

Outre ces fonctions de la BEI, les fonctions de mort cellulaire et de réparation sont aussi impactées dans les MICI. L'apoptose des cellules épithéliales et la présence d'ulcères contribuent à déstabiliser la BEI [43]. En effet, la sévérité d'une MICI est associée à l'élévation de l'apoptose et de la nécroptose des CEI [70]. Une augmentation de la mort cellulaire des CEI est observée histologiquement chez des patients MICI, et l'apoptose est plus élevée dans les cryptes intestinales dans la muqueuse inflammée de patients MICI [70]. De plus, une augmentation de la libération des contenus nucléaires et mitochondriaux de CEI nécrotiques et de granulocytes est observée lors de poussées inflammatoires chez des patients MICI [70]. L'IL-1 α est l'un des DAMP libérés par les CEI nécrotiques [70]. Il est à l'origine d'une exacerbation de l'inflammation intestinale dans un modèle expérimental de colite induite au DSS [70]. Par ailleurs, la phagocytose semble aussi être dérégulée dans les MICI. Plusieurs mutations de gènes de susceptibilité à une MICI comme *NLRP3* sont associées aux phagocytes [70]. Concernant les capacités de réparation, une forte concentration de MMP est exprimée dans la muqueuse de patients MICI, notamment MMP-3 et MMP-9 qui sont associées à la formation de fistules dans la MC [71]. Des données montrent par ailleurs que des fibroblastes intestinaux issus de lésions fibrotiques de patients atteints d'une MC expriment un fort niveau d'inhibiteurs de métalloprotéinase 1 [71]. Ainsi, un dépôt excessif de matrice extracellulaire conduisant à une fibrose intestinale est présente de manière transmurale ou superficielle chez les patients MICI, respectivement atteints d'une MC ou d'une RCH (Figure 21) [71].

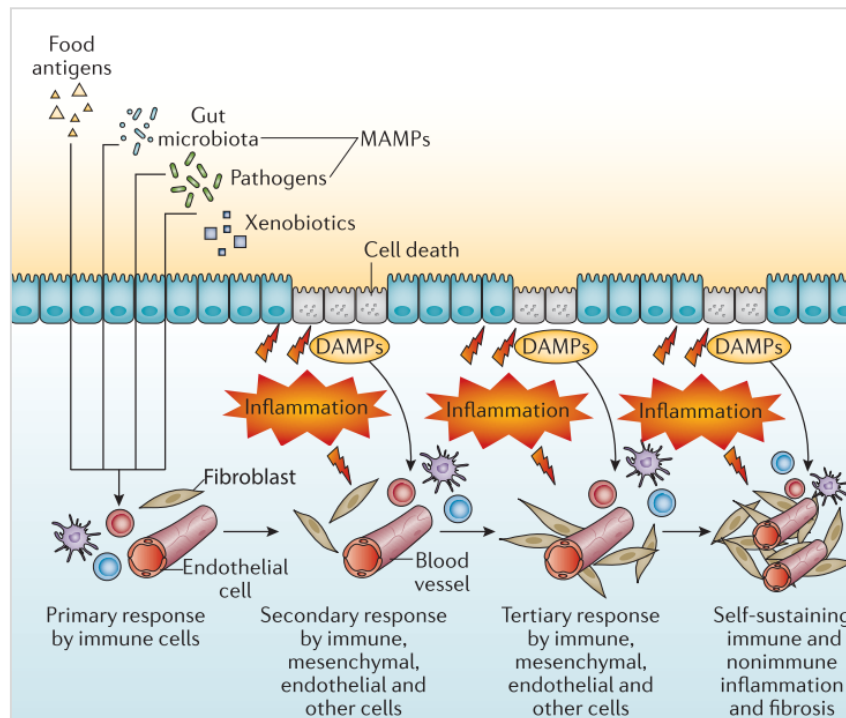


Figure 21. Développement d'une fibrose intestinale suite à stimuli exogènes [71]

La dégradation et les dérégulations de la BEI observées chez les patients MICI sont à l'origine du développement de symptômes macroscopiques tels que de la diarrhée et des saignements rectaux [10].

La barrière épithéliale intestinale

- Les CEI s'organisent selon leur identité le long de l'intestin, au sein de cryptes et villosités où elles assurent des fonctions spécifiques de défense contre les menaces exogènes, de perméabilité et donc contribuent au métabolisme de l'hôte.
- L'homéostasie de la BEI est assurée par chacune de ses composantes et par leur dialogue étroit avec les autres systèmes biologiques, en particulier le système immunitaire et le microbiote intestinal.
- L'aspect temporel est important dans les conséquences des MICI sur la BEI. Une inflammation chronique dérégule les processus de réparation en faveur d'une fibrose, et un retard dans l'élimination de CEI apoptotiques peut entraîner la survenue d'une nécrose secondaire pro-inflammatoire.

C. Microbiote intestinal

Un autre élément important dans l'intestin est le microbiote intestinal, la première ligne de défense/contact avec le milieu extérieur, qui peut être décrit comme un organe à part entière interagissant avec l'hôte [73]. Des informations complémentaires à celles étayées dans cette partie sont retrouvées dans la partie « Modulation du microbiote intestinal » p.93.

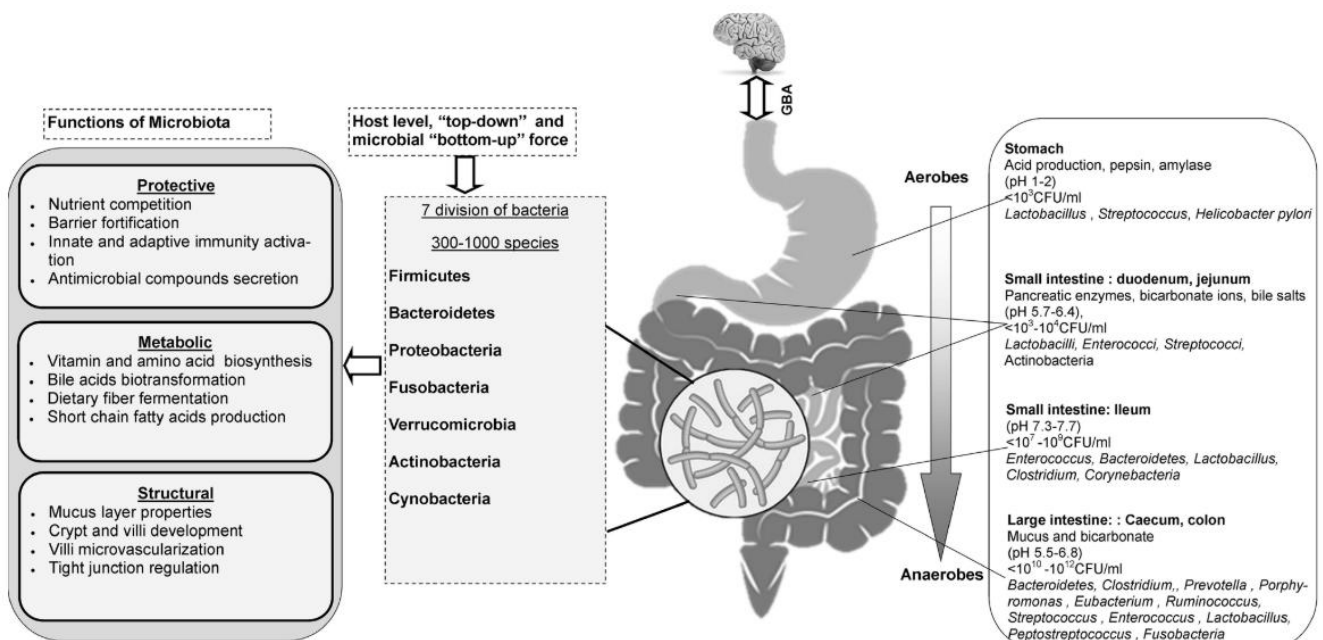


Figure 22. Présentation du microbiote intestinal dans le tractus GI, ses principaux phyla bactériens et fonctions associées.
GBA = gut-brain axis [27]

1) Organisation spatiale du microbiote intestinal : focus sur les bactéries

Le microbiote désigne l'ensemble des micro-organismes peuplant un environnement. Plusieurs sites de colonisation sont dénombrés chez l'Humain. En plus de l'intestin, la cavité buccale, la peau et le vagin font partie des milieux principaux peuplés par un microbiote [27]. La muqueuse intestinale avec sa surface allant jusqu'à 300 m² est le lieu de résidence de plus de 10 trillions de micro-organismes allant des bactéries, archées, virus, champignons, helminthes aux protozoaires [73,74]. Leur abondance est dix fois plus élevée que celle des cellules somatiques et germinales du corps humain, et le nombre de gènes contenus dans leur génome est cent fois plus élevé que celui de l'hôte [27,73].

Le microbiote intestinal est le microbiote le mieux décrit et étudié à ce jour, et pour lequel nous disposons d'informations détaillées concernant son organisation spatiale et son gradient de densité au sein du tractus GI [53]. Les bactéries intestinales mais aussi le microbiote intestinal en général présentent en effet un gradient proximal-distal et muqueux-luminal, en plus de disparités individuelles (Figure 22) [73,75]. Cette hétérogénéité peut être liée à des gradients chimiques comme le pH ou les concentrations biliaires, au potentiel d'oxydoréduction, à une distribution d'oxygène radiale, à la disponibilité en nutriments, aux réponses immunes ou au temps de transit [32,37]. Ainsi, la densité bactérienne dans le duodénum avoisine 10 à 10³ bactéries/g contenu qui augmente à 10⁴⁻⁷ dans le jéjunum et l'iléon pour atteindre 10¹¹⁻¹² dans le côlon [53]. Cette densité bactérienne colique contribue à 60% de la masse fécale [53]. En plus de la densité, le type de bactéries retrouvées dans les différentes parties du côlon diffère. Le duodénum présente peu de bactéries du fait d'une concentration élevée en acides biliaires, en sécrétions pancréatiques et en agents antimicrobiens, mais aussi à cause d'un transit rapide et d'un taux élevé en oxygène [27]. Cette population limitée en bactéries appartient majoritairement aux phyla *Firmicutes* et *Actinobacteria* [27]. Le jéjunum est colonisé par des bactéries Gram positives aérobies et des bactéries anaérobies facultatives dont des *Lactobacilli*, *Enterococci* et des *Streptococci* [27]. La partie distale de l'iléon a une composition bactérienne plus proche du côlon, avec des bactéries anaérobies et Gram négatives [27]. Le côlon est quant à lui peuplé majoritairement de bactéries anaérobies, dont le nombre surpasse d'un facteur 100-1000 celui des bactéries aérobies [27]. Les *Firmicutes* et *Bacteroidetes* dominent au sein de cette population bactérienne [27].

2) Composition du microbiote intestinal

Plusieurs types de micro-organismes résident dans l'intestin, dont les plus prépondérants sont détaillés ci-dessous (Figure 22, Figure 23).

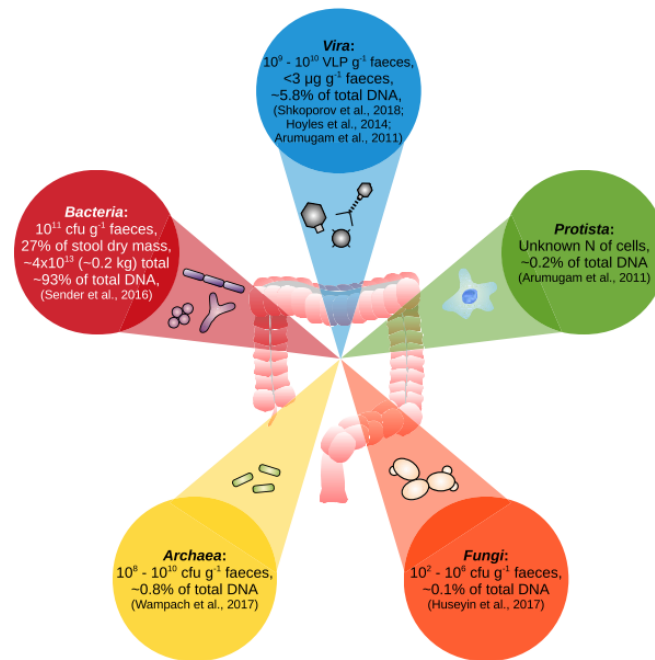


Figure 23. Groupes taxonomiques majoritaires du microbiote intestinal dont les helminthes (ici non représenté) [76].

a) Parasites intestinaux eucaryotes

Les parasites intestinaux eucaryotes comprennent des helminthes et des protozoaires qui, de par leur évolution, causent aujourd'hui des dégâts limités pour l'hôte [77]. Certains de ces protozoaires sont même considérés comme une partie intégrante de l'intestin [77].

○ Protozoaires

L'identification des protozoaires intestinaux est rendue difficile par le manque de données génomiques sur ces parasites [77]. Les données disponibles sur leurs actions sont controversées et dépendent du protozoaire considéré. Certains protozoaires comme *Blastocystis hominis*, qui est un parasite commun de l'intestin retrouvé à la fois chez l'Humain et l'animal via une transmission par voie fécale-orale, sont associés à plusieurs maladies GI [77]. Ces parasites considérés comme des espèces pathogènes induisent une inflammation intestinale, tandis que d'autres parasites comme *Entamoeba* spp. hormis *E. histolytica* sont liés à une augmentation de la diversité bactérienne intestinale [77].

○ Helminthes

Les helminthes sont des vers parasites colonisant non seulement le tractus GI, mais également selon l'espèce d'autres parties du corps comme le foie, les reins, les poumons, le système lymphatique et les tissus sous-cutanés [73,78]. La transmission des helminthes peut être faite via consommation d'aliments et d'eau contaminés, ou par piqûre d'insectes infectés [78]. Les helminthes intestinaux assurent entre autres une immunorégulation et une sécrétion de mucus et d'eau dans le lumen intestinal [73]. Une infection aux helminthes active une réponse immunitaire de type Th2 chez l'hôte [78]. En parallèle, des mécanismes de tolérance du parasite sont induits, tels que l'activation de lymphocytes Treg et B régulateurs (Breg), des cellules dendritiques tolérogéniques et la production d'IL-10 et du TGF- β [78]. Les helminthes *Trichinella spiralis* et *Schistosoma mansoni* influencent par exemple le développement de lymphocytes Treg, tandis que *Trichuris trichiura* régule positivement la réponse Th22 et *Heligmosomoides polygyrus* induit une

diminution de la réponse Th17 [73]. Une interaction existe entre les helminthes et les bactéries du microbiote intestinal [78]. La présence du microbiote intestinal favorise l'infection de certains helminthes par des interactions directes, en stimulant la reproduction de ces parasites et par immunomodulation [78]. De même, la présence d'helminthes peut influencer sur la composition et l'activité du microbiome intestinal [78].

b) Mycobiome

Les champignons font partie intégrante des communautés microbiennes humaines et sont retrouvés de manière similaire aux bactéries dans différentes parties du corps comme la peau, la cavité buccale, les voies respiratoires, l'intestin et le tractus génito-urinaire [77,78]. Tout comme pour d'autres groupes taxonomiques du microbiote intestinal, la caractérisation des espèces fongiques représente un défi car il n'existe pas à ce jour de consensus sur la méthode d'identification [77]. Les techniques actuellement utilisées comme les analyses par culture, les techniques de séquençage nouvelle génération (métagénomique ou métabarcoding) ou la spectrométrie de masse MALDI-TOF (pour « Matrix Assisted Laser Desorption Ionization/Time Of Flight ») comportent des biais. Ces biais peuvent être de différentes natures, allant de la faible proportion de champignons dans les échantillons, de l'impact du protocole non optimisé d'extraction ADN et donc de la sous-estimation du nombre d'espèces, au temps de culture ne permettant pas une analyse à haut débit [75,77]. À ce jour, la technique utilisée pour l'identification des champignons est le séquençage métabarcoding qui fait appel à la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) de la séquence d'acide ribonucléique (ARN) 18S ou principalement de l'espaceur interne transcrit 1 et 2 (ITS1 et ITS2, « internal transcribed spacer region ») qui bordent l'ARN de la sous-unité ribosomale 5,8S [75,79]. Ainsi la base de données génomiques fongiques est incomplète du fait de ces difficultés [73]. Des études chiffrent les espèces fongiques à 10^{5-6} /g matière fécale, et une autre étude décrit la proportion de champignons comme mineure, à 0.1% du nombre total de micro-organismes du microbiote [73,75,77]. L'acquisition du mycobiome est sujette à controverse et pourrait être effectuée précocement par l'alimentation [78]. Une étude basée sur l'échantillonnage longitudinal d'individus a aussi mis en évidence une dynamique de la composition du mycobiome, qui varie au cours du temps et selon l'individu considéré [75,77,78]. Des différences interspécifiques existent également, avec des espèces commensales spécifiques chez l'Humain comme *Candida albicans*, *C. parapsilosis* and *C. blabrata* qui laissent la place chez la souris à *C. tropicalis* comme espèce commune prépondérante [73]. Les changements de composition fongique peuvent être dus, de manière similaire aux bactéries, à des facteurs environnementaux comme le régime alimentaire ou la prise d'antibiotiques [73,77]. Au sein de l'intestin, la diversité fongique est plus basse que celle des bactéries, avec en moyenne moins de 20 espèces fongiques identifiées [75]. Dans le tractus GI, les phyla majoritairement retrouvés sont les Ascomycota, Basidiomycota et Zygomycota [77]. Les 10 genres prépondérants dans l'intestin et formant un « noyau » (« core ») sont *Candida* (surtout *C. albicans*), *Saccharomyces* (surtout *S. cerevisiae*), *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Malassezia* (surtout *M. restricta*), *Cladosporium*, *Galactomyces*, *Debaryomyces* et *Trichosporon* dans l'ordre décroissant d'abondance [75,77,80]. En termes de fonctions, certaines espèces fongiques possèdent des propriétés probiotiques comme *S. boulardii* et *C. kefir* [77]. En tant que probiotique, *S. boulardii* est prescrit pour prévenir de la diarrhée et d'une infection à *C. difficile* suite à la prise d'antibiotiques [77]. Son administration peut induire l'inactivation de toxines pathogènes, l'inhibition de la croissance et de l'invasion de pathogènes intestinaux [77]. *Candida kefir* peut quant à lui diminuer l'inflammation en contexte de colite, par réduction de l'abondance de *Bacteroides* et de la

production d'IL-6 [77]. Ainsi les champignons intestinaux influencent le système immunitaire, en contribuant notamment dans l'enfance à la maturation des organes lymphoïdes secondaires [75]. De manière intéressante, les bactéries et les champignons entretiennent des interactions de différentes natures, allant du mutualisme, commensalisme, à la compétition pour assurer leur survie [75].

c) Archéome

Les archées se distinguent des bactéries et des eucaryotes et forment un domaine à part, tout en partageant des éléments communs avec les deux autres domaines [77]. En éléments communs, les archées partagent avec les bactéries une morphologie et une organisation unicellulaire dépourvue de noyau ou d'organites liés à la membrane [77,81]. Elles partagent également plusieurs caractéristiques avec les eucaryotes comme les mécanismes de réplication et de réparation, de transcription et de traduction [77]. Parmi les caractéristiques propres aux archées sont retrouvées des voies métaboliques spécifiques utilisant comme sources d'énergie le soleil et des substrats organiques et inorganiques [77]. Les archées sont des composantes essentielles du microbiote, acquises dès l'enfance, et sont retrouvées à plusieurs endroits du corps dont l'intestin [77]. La détection des archées s'avère difficile, d'un point de vue de leur isolation peu efficace et de la faible abondance d'acide désoxyribonucléique (ADN) archéale dans les échantillons, mais aussi du côté de leur identification à travers des amorces inefficaces et des bases de données d'ARN ribosomal (ARNr) incomplètes [77]. Les archées détectées dans l'intestin sont en majorité des méthanogènes [77]. D'autres sont également détectées, comme des *Desulfurococcales*, *Sulfolobales*, *Thermoproteales*, *Nitrososphaerales*, et *Halobacteriales* [77]. Les méthanogènes sont retrouvés à hauteur de 10^{10} cellules/g matière fécale et représentent 10% des organismes anaérobies retrouvés dans l'intestin, avec comme archée majeure *Methanobrevibacter smithii* [77,82]. Les fonctions des archées dans l'intestin sont peu connues. Certaines fonctions émergent toutefois avec les méthanogènes. Les méthanogènes utilisent le dihydrogène (H_2) pour produire du méthane sous condition anaérobie [77]. Par cette action, ces archées peuvent contribuer à l'amélioration de l'efficacité de la fermentation bactérienne, car l'accumulation d' H_2 est connue pour inhiber la production bactérienne d'énergie [77]. Par ailleurs, *M. luminyensis* peut dégrader le triméthylamine qui est un composé impliqué dans des maladies métaboliques telles que la triméthylaminurie [77].

d) Virome

Le virome constitue l'ensemble des bactériophages et virus eucaryotes retrouvés au sein d'un organisme. Il inclut des virus à doubles (dsDNA) ou simples brins (ssDNA) d'ADN et des virus à ARN [77]. Leur présence est ubiquitaire dans le corps humain, mais l'intestin constitue la niche la plus peuplée et la plus étudiée en virus [77,78]. Le virome de l'intestin est dominé par les bactériophages, dont le nombre avoisine 10^{15} dans l'intestin [77,79]. Ainsi le nombre de bactériophages est environ dix fois plus élevé que celui des bactéries intestinales [83]. Ces bactériophages appartenant surtout aux virus dsDNA des familles *Myoviridae*, *Podoviridae*, et *Siphoviridae* de l'ordre des *Caudovirales*, et des virus ssDNA de la famille *Microviridae* [78]. Un nouveau type de phage appelé *crAssphage* a été identifié et représenterait 90% des reads du métagénome viral fécal humain [77]. Des études *in silico* analysant le génome *crAssphage* ont mis à jour des séquences métagénomiques associées aux *Bacteroidetes* qui suggèrent que des bactéries de ce phylum sont les principaux hôtes des *crAssphages* [77]. Concernant les virus

eucaryotes présents dans l'intestin, ceux-ci incluent les familles *Adenoviridae*, *Anelloviridae*, *Astroviridae*, *Parvoviridae*, *Picornaviridae*, et *Picobirnaviridae*.

De manière similaire aux bactéries, les virus colonisent progressivement l'organisme humain, dont la muqueuse intestinale, de la naissance aux 2 premières années de vie [77]. Cette évolution suggère une colonisation par exposition environnementale [77]. Toutefois, les données à ce sujet sont faibles et soulignent le besoin d'approfondir l'étude de l'acquisition du virome. La composition du virome varie entre les individus, mais que très peu au cours du temps pour un même individu hors stimuli environnementaux forts [78]. Les fonctions assurées par le virome intestinal sont multiples. Le virome peut contribuer à la fonction de barrière intestinale. En effet, les bactériophages ont la capacité d'adhérer à la couche de mucus par liaison de protéines de type Ig à la surface des capsides avec les glycoprotéines des mucines [73]. Ainsi, une infection puis la lyse des bactéries présentes au sein de la couche de mucus par les bactériophages est rendue possible. Les bactéries du mucus peuvent être néfastes pour les CEI, ainsi leur lyse est associée à une diminution de la mortalité des CEI [78]. Les bactériophages sont intégrés par ailleurs sous forme de prophages dans leur hôte bactérien, ce qui permet un transfert génétique horizontal conférant par exemple des facteurs de virulence ou des gènes de résistance aux antibiotiques aux bactéries [77,79]. Le transfert génétique horizontal augmente de ce fait la virulence de bactéries potentiellement pathogéniques comme *E. coli* ou *Vibrio cholerae* [78]. Les bactériophages peuvent induire par ailleurs une réponse immunitaire en jouant le rôle d'antigène/ligand pour renforcer l'immunité de l'hôte et l'inflammation [73]. De ce fait, les virus eucaryotes protègent l'hôte des pathogènes, par augmentation des fonctions immunitaires via l'activation des macrophages dans un modèle murin, et par interaction directe avec les pathogènes [78]. Ces mécanismes de protection sont observés par exemple chez le virus de l'herpès et le cytomégalo virus dans le but de contrer les effets de *Listeria monocytogenes* et *Yersinia pestis* [78].

e) Bactériome

Les bactéries intestinales forment l'une des composantes majeures du microbiote intestinal et est celle la mieux étudiée à ce jour. Comme vu précédemment, les bactéries sont présentes sur plusieurs parties du corps à différentes densités et compositions. L'intestin comprend un noyau de 7 phyla prédominants que sont les *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia* et les *Cyanobacteria* [27,84]. Parmi ces phyla, les *Bacteroidetes* Gram négatives et les *Firmicutes* Gram positives regroupe 90% des bactéries intestinales retrouvées chez l'adulte [27,38]. La majorité des bactéries intestinales est anaérobie [35]. La composition du bactériome varie au cours du temps et selon l'individu, mais également selon le sexe de l'individu [85]. Leur acquisition sera par la suite détaillée (p. 49).

Des études de grande ampleur comme l'étude Human Microbiome Project du NIH et le consortium européen MetaHIT lancés dans les années 2007-2008 et finalisés en 2012 ont largement contribué à l'étude de la composition et de la fonctionnalité du microbiote intestinal humain [86–88]. Le travail du consortium MetaHIT coordonné par le centre de recherche de l'INRAE de Jouy-en-Josas a abouti à la publication du premier catalogue de gènes du microbiome intestinal humain en 2010 [89,90]. Le projet Human Microbiome Project a permis quant à lui de caractériser le microbiome de différentes régions corporelles chez des individus sains, et d'acquérir des données multiomiques chez des patients MICI et des individus à risque pour le diabète de type 2 [91,92].

- *Firmicutes*

Le phylum des *Firmicutes* prépondérant dans l'intestin inclut plusieurs espèces bactériennes notables appartenant aux *Clostridium* clusters IV et XIVa de la classe *Clostridia* qui regroupe entre autres les genres *Clostridium*, *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Lachnospira*, *Ruminococcus* et *Butyrivibrio* [27,93]. La plupart des *Clostridia* sont commensales tandis que quelques espèces comme *Clostridium difficile* sont pathogènes [93]. La classe des *Clostridia* représente 60% des bactéries associées à la muqueuse intestinale. Certaines espèces contenues dans cette classe possèdent la capacité de produire des AGCC et d'activer des lymphocytes Treg, ou des macrophages et des lymphocytes B produisant de l'IL-10 [83]. Les *Clostridium* ont en ce sens des propriétés anti-inflammatoires, à travers une augmentation de la concentration de TGF- β favorisant la différenciation en lymphocytes T régulateurs Foxp3⁺ (pour « forkhead box 3 »). Ils inhibent aussi le développement des *Enterobacteriaceae* par activation du « récepteur γ activé par les proliférateurs de peroxyosomes » (PPAR- γ) qui induit une réduction du taux d'oxygène luminal [83,94].

- *Faecalibacterium prausnitzii*

Faecalibacterium prausnitzii est une bactérie anaérobie obligatoire [35]. Elle constitue l'une des espèces les plus abondantes du côlon sain humain et représente jusqu'à 5% de la population bactériale totale [95]. Cette bactérie est notamment connue pour ses propriétés anti-inflammatoires [96]. Lors de sa croissance, *F. prausnitzii* produit l'AGCC butyrate, de petites quantités de D-lactate et d'autres métabolites contribuant à la suppression de l'inflammation [38,97]. Parmi ces molécules est retrouvée la molécule anti-inflammatoire microbienne (« Microbial Anti-inflammatory Molecule ») qui inhibe *in vitro* la voie NF-KB de lignées cellulaires épithéliales [94,98–100]. Concernant les mécanismes à l'origine de l'effet anti-inflammatoire du butyrate produit par *F. prausnitzii*, de récents travaux ont montré l'implication d'une augmentation de l'expression du gène *Dact3* [101]. *F. prausnitzii* joue un rôle dans l'établissement de la tolérance en favorisant notamment *in vitro* la différenciation cellulaire de lymphocytes T en lymphocytes T régulateurs de type 1 (Tr1) sécrétant IL-10, par modulation de l'action des cellules dendritiques humaines [102]. Cette modulation s'exerce par la voie de signalisation TLR2/6/JNK et l'induction de CD39, l'indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO-1) et IL-27 [102]. En ce sens, la production d'IL-10 par des cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC) humaines est stimulée en présence de *F. prausnitzii*, tandis que la production des cytokines pro-inflammatoires IL-12 et IFN- γ est inhibée [97].

- *Lactobacillus*

Les bactéries du genre *Lactobacillus* sont anaérobies facultatives et résident de manière préférentielle dans l'intestin grêle, dont l'iléon [103]. Les *Lactobacillus* sont de même retrouvés dans le lait maternel où ils fermentent la caséine et le lactose du lait [104]. En plus de leur rôle dans la digestion, les *Lactobacillus* sont utilisés comme probiotiques et contribuent ainsi à la maintenance de la BEI et à la régulation de la réponse immune [85,105]. Ces bactéries augmentent *in vitro* l'expression de l'ARN de Muc-2 dans les CEI humains, tout en les préservant de leur apoptose induite par cytokines [105]. Ce sont des bactéries lactiques réduisant le pH luminal et produisant des composés antimicrobiens qui permettent de contrer les bactéries pathogènes [106].

○ *Bacteroidetes*

Le phylum des *Bacteroidetes* regroupe des bactéries anaérobies essentiellement issues des genres *Bacteroides* et *Prevotella* [27,74]. Les *Bacteroidetes* jouent un rôle dans l'homéostasie de la muqueuse intestinale, avec certaines espèces montrant un effet protecteur par leur action sur la BEI, le microbiote environnant et le système immunitaire [107]. Ce phylum regroupe des bactéries dont les *Muribaculaceae*, qui sont capables de produire des AGCC comme le propionate par fermentation des fibres indigestibles pour l'hôte [108,109]. En interaction étroite avec le reste du bactériome, le ratio *Bacteroidetes/Firmicutes* donne une indication sur la capacité de l'hôte à extraire de l'énergie de son alimentation [110]. Le système immunitaire est aussi influencé par les *Bacteroidetes*. La population des lymphocytes Treg est augmentée en présence de bactéries de ce phylum, par production de polysaccharide A qui favorise de ce fait la production d'IL-10 [111].

● *Bacteroides*

Plusieurs espèces bactériennes du genre *Bacteroides* ont été étudiées dans la littérature, les plus connues étant *Bacteroides fragilis*, *B. thuringiensis* et *B. thetaiotaomicron*. Certaines espèces *Bacteroides* sont des pathogènes opportunistes mais la plupart présentent des effets anti-inflammatoires comme celles citées précédemment [112]. *B. thetaiotaomicron* consomme par exemple des fibres utilisées par *C. rodentium*, une bactérie pathogène, pour produire entre autres du butyrate [35,74]. Cette bactérie produit des enzymes fucosidases qui clivent les résidus fucoses des glycanes et qui activent la sécrétion de mucines par les cellules caliciformes [27]. *B. thuringiensis* permet une défense contre des pathogènes via la sécrétion de bactériocines ciblant notamment des *Bacilli* et *Clostridia* dont le pathogène *C. difficile*. Ces bactériocines agissent entre autres en perturbant la membrane cellulaire par dépolarisation de celle-ci [35,74]. *B. fragilis* agit sur le système immunitaire en induisant une réponse systémique Th1 et le développement de lymphocytes Treg, ce qui permet d'améliorer l'inflammation induite dans différents modèles de colite comme ceux utilisant un pathogène ou un transfert de lymphocytes T [79,105].

● *Prevotella*

Les souches bactériennes du genre *Prevotella* font partie de la famille des *Prevotellaceae* qui est connue pour déstabiliser enzymatiquement la BEI [113]. Les souches au sein des *Prevotella* présentent une grande diversité génétique et interspécifique [114]. Ces bactéries commensales anaérobies colonisent les muqueuses et sont retrouvées abondamment dans la cavité buccale, la salive et les voies respiratoires en plus de l'intestin [114]. Les *Prevotella* activent en majorité le TLR2, ce qui induit la production d'IL-23 et d'IL-1 qui entraîne une réponse immune Th17 et donc une inflammation de la muqueuse [114]. La dysbiose liée à une surabondance de *Prevotella* provoque une diminution de la production d'IL-18 par les CEI par la voie dépendante de NLRP6, ce qui renforce la dysbiose existante [114].

○ *Proteobacteria*

Les *Proteobacteria* constituent à ce jour le plus large phylum du bactériome, divisé en 6 classes [115]. Plusieurs sites de leur colonisation sont dénombrés dans l'organisme, passant de la peau, la cavité buccale au tractus vaginal et à l'intestin [115]. Leur abondance est la plus élevée dans la cavité buccale [115]. Leur morphologie variée et leur physiologie adaptable représentent des avantages compétitifs pour ces bactéries qui occupent ainsi plusieurs niches écologiques [115].

Ce sont aussi pour ces raisons que la composition des *Proteobacteria* est instable au cours du temps [116]. Une augmentation de *Proteobacteria* est fréquemment associée à une dysbiose du microbiote intestinal. Un élément soutenant cette hypothèse réside dans le fait que les CEI réduisent leur capacité de β -oxydation en cas d'inflammation intestinale, ce qui induit une augmentation d'oxygène favorisant une dysbiose associée à une prolifération de *Proteobacteria* [115].

- *Enterobacteriaceae*

Les souches bactériennes de la famille des *Enterobacteriaceae* comprennent notamment les espèces *Escherichia/Shigella* dont l'adhérente-invasive *Escherichia coli* (AIEC) considérée comme pathogène [112]. Les *Enterobacteriaceae* sont connues pour leurs effets délétères, de par leur invasion de l'épithélium de la muqueuse intestinale, l'induction de diarrhées sanglantes et d'ulcères dans le côlon [112]. Les souches AIEC induisent aussi une réponse inflammatoire associée à une infection des CEI, et peuvent proliférer à l'intérieur de macrophages [83]. Leur action sur la BEI est double : par sécrétion d'entérotoxines qui affaiblissent les fonctions de barrière des protéines de TJ et par adhésion à l'épithélium intestinal qui impacte la perméabilité intestinale [74]. Ces souches ont également un impact sur l'activité et la composition du microbiote intestinal [74].

- *Helicobacter pylori*

L'infection à *Helicobacter pylori* est l'infection la plus répandue dans la population mondiale [117]. Elle constitue un facteur de risque majeur de développement d'un cancer gastrique [117]. Les souches *H. pylori* sont capables de résister à l'environnement acide de l'estomac [117]. Elles produisent par exemple des uréases afin d'augmenter le pH et diminuer la viscosité du mucus, pour pénétrer à la surface des cellules épithéliales gastriques [27]. L'adhésion des bactéries est renforcée par la présence d'adhésines [117]. La déstabilisation de la barrière épithéliale peut également passer par la perte de certaines protéines des TJ gastriques comme les claudines 4 et 5, induite par la sécrétion d'entérotoxines d'*H. pylori* [118]. De même, des dysfonctions de l'autophagie et des dommages à l'ADN des cellules épithéliales engendrés par l'infection par *H. pylori* contribuent à la carcinogenèse gastrique [117]. Ces effets pourraient potentiellement être retrouvés au niveau de l'intestin.

- *Actinobacteria*

Les bactéries du phylum *Actinobacteria* sont réparties en 3 familles anaérobies que sont les *Bifidobacteria*, les *Propionibacteria*, les *Corynebacteria* ainsi que la famille *Streptomyces* de bactéries aérobies [119]. Dans l'intestin, la famille des *Bifidobacteria* prépondère [119]. Les *Actinobacteria* font partie des bactéries produisant l'acétate [119]. Une forte concentration d'acétate protège par exemple l'hôte d'une infection entérohémorragique par *E. coli*, ou d'une infection par *Shigella* [119]. Elles produisent également du lactate qui intervient dans la production de butyrate par d'autres familles de bactéries [119]. Ces bactéries sont également impliquées dans la digestion d'amidon résistant et dans la transformation d'acide linoléique en acides linoléiques conjugués [119]. En plus de leur rôle dans la digestion, les *Actinobacteria* peuvent moduler la réponse immune inflammatoire en activant des lymphocytes Treg [119]. Par ailleurs, une diminution du nombre d'*Actinobacteria* est liée à une augmentation de perméabilité intestinale, ce qui indique aussi un effet sur la BEI [119].

- *Bifidobacterium*

Le genre *Bifidobacterium* regroupe 80 (sous-)espèces dont un nombre abondant d'espèces probiotiques [120,121]. Les bactéries de ce groupe sont retrouvées dans plusieurs niches écologiques, telles que le tractus GI et la cavité buccale [121]. Elles agissent sur le système immunitaire en influençant la capacité des cellules dendritiques à réguler la tolérance aux antigènes et aux bactéries, tout en favorisant l'inhibition des pathogènes [68,122]. *Bifidobacterium bifidum* active en ce sens les populations anti-inflammatoires de macrophages, de cellules dendritiques et de lymphocytes T [96]. *B. bifidum* inhibe aussi l'activation par LPS de NF-KB dans les CEI [96]. Ces bactéries, pour la plupart probiotiques, produisent des AGCC et augmentent la proportion de bactéries bénéfiques pour l'hôte par alimentation croisée [122]. Par exemple, des souches *Bifidobacterium* fermentent de l'amidon et libèrent des sucres utilisés par d'autres bactéries [123]. La fonction de barrière est également améliorée par les souches *Bifidobacterium*, à travers une augmentation de l'expression des protéines de TJ, telles que l'occludine et ZO-1 par action du milieu conditionné de *B. infantis* sur la lignée cellulaire épithéliale T84 [68,124]. Enfin, les souches *Bifidobacterium* contribuent au métabolisme de l'hôte par déconjugaison des acides biliaires [121]. L'action détergente des acides biliaires permet de réduire l'absorption intestinale et d'augmenter l'élimination fécale [121].

- *Verrucomicrobia - Akkermansia*

L'unique genre bactérien du phylum *Verrucomicrobia* retrouvé dans l'intestin est nommé *Akkermansia* [28]. Dans le côlon d'individu sain, l'espèce *Akkermansia muciniphila* a une abondance forte, de l'ordre de 3% [28]. L'abondance d'*A. muciniphila* varie selon l'individu et l'âge considéré [28]. Cette bactérie anaérobie est retrouvée non seulement dans le tractus GI mais aussi dans le pancréas et le système biliaire [28]. L'activité première d'*A. muciniphila* est de dégrader les mucines et glycanes de l'hôte [28,125]. Elle peut toutefois stimuler la synthèse de mucines et renforcer la BEI en adhérant à l'épithélium [28]. *A. muciniphila* produit par ailleurs une grande quantité d'AGCC comme l'acétate et le propionate [28].

3) Mise en place du microbiote intestinal bactérien

Lors de la grossesse et en particulier à la 24^{ème} semaine de gestation, les propriétés du tractus GI se développent pour permettre à la naissance une alimentation à base de lait. Cependant, les fonctions du tractus GI ne sont pas encore à maturité à la naissance, tout comme le microbiote intestinal dont la composition et la fonctionnalité varient au cours de la période périnatale (Figure 24) [104,110].

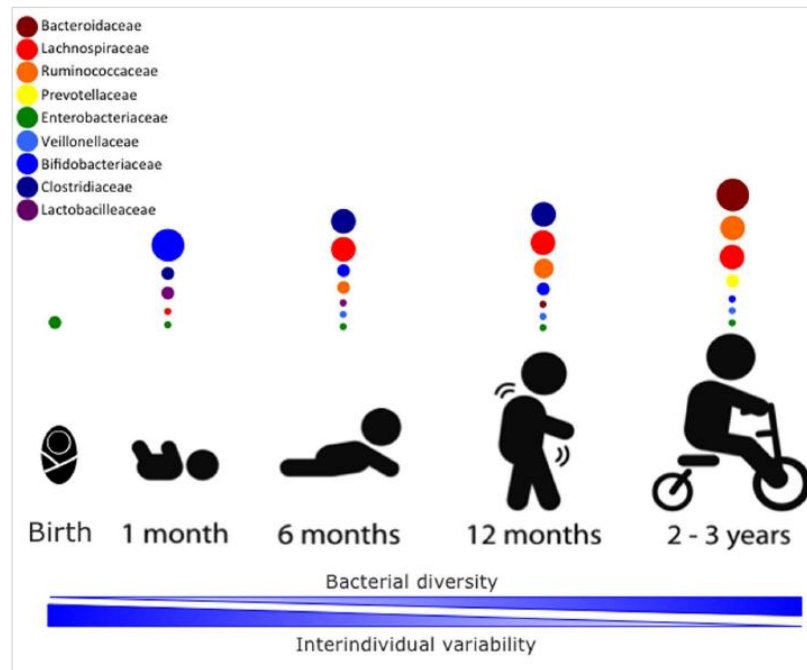


Figure 24. Acquisition du microbiote intestinal dans les premières années de vie [110]

La colonisation de l'intestin *in utero* fait encore l'objet de nombreux débats [126]. Certaines études stipulent la présence de bactéries commensales dont des *Firmicutes* dans le placenta, et la présence majoritaire de protéobactéries dans le liquide amniotique [127,128]. De même, une étude sur modèle murin démontre la présence de bactéries cultivables dans l'intestin fœtal [129]. D'autres études suggèrent la non-viabilité des bactéries détectées et le fort risque de contamination expérimentale comme explication à la présence de bactéries et positionne la capacité à générer des animaux stériles dits « germ-free » (GF) comme argument allant dans le sens d'une stérilité *in utero* [130]. Néanmoins, certaines études démontrent la potentielle transmission de métabolites bactériens de la mère à l'enfant *via* le liquide amniotique, comme l'acétate ou des acides aminés [104,109]. À la naissance, le nouveau-né est exposé aux microbiotes de la mère et à celui de l'environnement. Le mode d'accouchement influence ainsi les microbiotes rencontrés : en majorité cutané ou vaginal si la naissance a lieu par voie basse [38]. La colonisation microbienne du nouveau-né lors des premières semaines d'existence est étroitement liée au développement du système immunitaire [38]. Un processus nommé la succession microbienne a lieu, où la colonisation de certaines espèces bactériennes dépend de la colonisation antérieure d'autres espèces [104]. L'environnement anoxique de l'intestin à la naissance permet d'accueillir des bactéries initiales colonisatrices, pour la plupart anaérobies facultatives, faisant partie des genres *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* et *Streptococcus* [104]. Le développement de ces bactéries va diminuer le potentiel redox et par ce biais permettre le développement de bactéries anaérobies obligatoires comme des *Bifidobacterium*, *Bacteroides* et *Clostridium* [104]. Au cours de la première année d'existence de l'enfant, le genre *Bifidobacterium* prédomine et la diversité microbienne augmente progressivement jusqu'à 2-3 ans pour s'approcher d'une composition stable retrouvée chez l'adulte (Figure 24) [38]. L'âge de maturation finale du microbiote n'est pas totalement fixé. Une étude indique par exemple qu'à l'âge de 3-5 ans, le microbiote intestinal acquiert 40-60% de similitude à celui d'un adulte et que son métabolisme évolue pour permettre la digestion de polysaccharides végétaux, la biosynthèse de vitamines et la dégradation de xénobiotiques [27]. Le microbiote intestinal adulte bénéficie quant à lui d'une certaine stabilité et résilience [73]. Des facteurs environnementaux comme la prise de

médicaments ou le régime alimentaire, mais aussi le vieillissement, peuvent toutefois influencer le microbiote de l'adulte (Figure 24, Figure 25) [73,131].

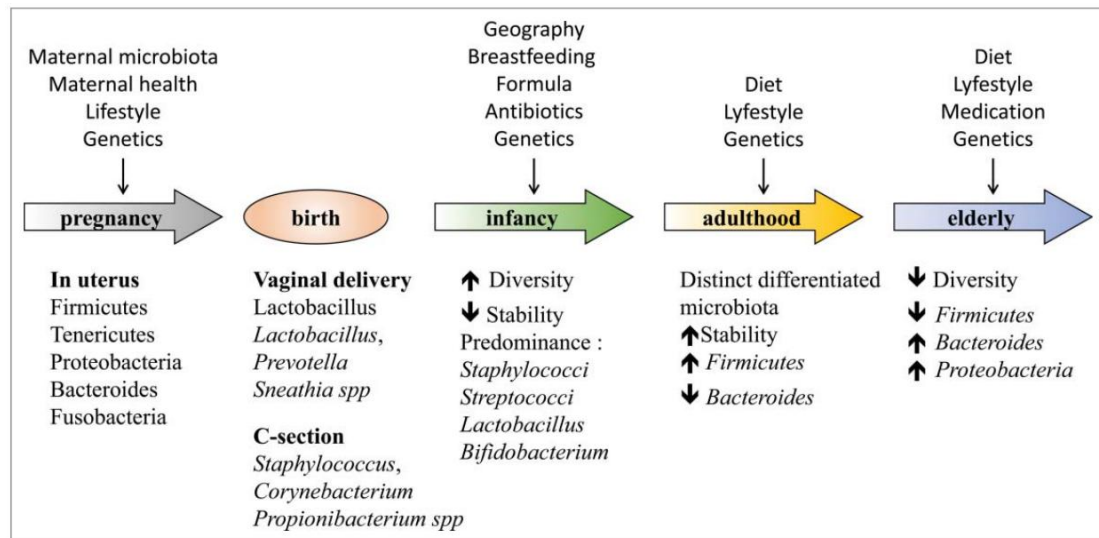


Figure 25. Evolution temporel et facteurs influençant le microbiote intestinal chez un individu [131]

4) Fonctions, focus sur le côlon

1) Interaction hôte-microbiote intestinal

Le microbiote intestinal jouit d'un environnement propice au sein de l'intestin, riche en nutriments [38]. En contrepartie, il fait bénéficier l'hôte de son panel de gènes non retrouvés chez l'humain, afin de moduler certains de ses systèmes biologiques [38]. Parmi les fonctions du microbiote intestinal sont retrouvées la prise en charge des nutriments, l'homéostasie énergétique, le développement du système immunitaire et du SNE (Figure 26) [38]. De ce fait, la relation entre l'hôte et le microbiote est davantage décrite comme commensale plutôt que mutualiste, c'est-à-dire que l'un des partenaires acquiert des bénéfices alors que la relation est considérée neutre pour l'autre partenaire [27]. Le génome de l'hôte semble aussi influencer le microbiote et son métabolisme [27]. De façon intéressante, une étude transcriptomique a mis à jour que 6000 gènes de l'épithélium colique sont liés au microbiote intestinal [27]. La communication entre l'hôte et le microbiote intestinal peut s'effectuer de plusieurs manières, à travers des motifs moléculaires associés aux microbes (MAMP) reconnus par des récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires (PRR) comme les TLR et NOD [38]. Les TLR sont présents sur une variété de cellules dont les CEI, des cellules immunes et des cellules du SNE. De manière similaire, les molécules du quorum sensing bactérien comme les *N*-Acyl-homosérines lactones peuvent agir sur les cellules eucaryotes de l'hôte, à travers un procédé nommé la signalisation « interkingdom » [43,132].

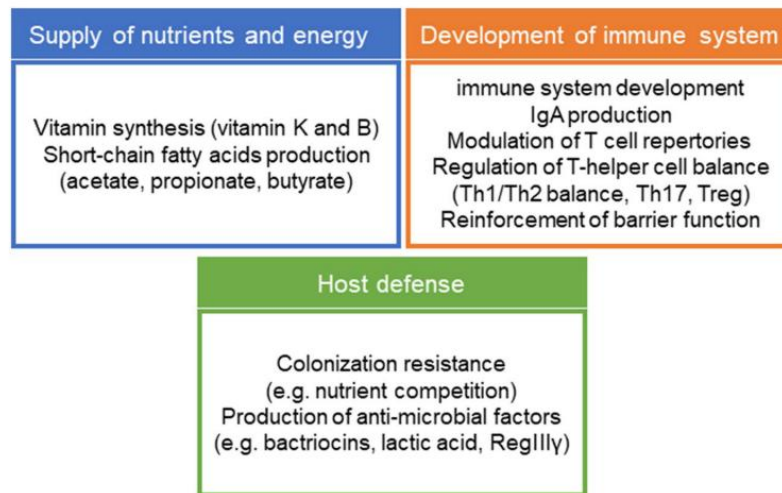


Figure 26. Exemples de fonctions assurées par le microbiote intestinal [74]

○ Digestion

Le microbiote intestinal sécrète une grande variété d'enzymes complémentaires permettant de métaboliser des substrats non digestibles pour l'hôte [39,73]. La synthèse de nutriments essentiels dont des vitamines et des AGCC est par ce biais assurée [53,73]. *Bifidobacterium* produit par exemple de la vitamine K et de la vitamine B soluble [74]. Les substrats générés par le microbiote sont soit des produits secondaires issus de la digestion d'aliments, des métabolites de l'hôte modifiés ou des composés produits de novo [133]. Le tractus GI digère 85% des glucides complexes, dont des fibres comme l'amidon résistant et des oligosaccharides [27]. Cette fermentation aboutit à la formation de gaz (méthane, hydrogène et CO₂), d'AGCC, d'acides organiques (lactate, succinate) et d'alcools (méthanol, éthanol) [27]. Certains composés formés servent de sources d'énergie pour les cellules [110]. Quelques espèces bactériennes se servent également des mucines de la couche de mucus de l'épithélium intestinal comme source alternative d'énergie [39]. En plus des glucides, le tractus GI prend en charge la digestion de 66 à 95% des protéines et des graisses [27]. Appuyant ces propos, une étude souligne le rôle du microbiome intestinal dans la variation des concentrations sanguines de lipides (triglycérides, lipoprotéines de haute densité) et de l'indice de masse corporelle [134]. La digestion de protéines par le microbiote intestinal génère des peptides, acides aminés et d'autres composés [27]. Les métabolites issus des protéines digérées comprennent des composés neuromodulateurs (tryptamine, sérotonine, dopamine...), des sulfures (H₂S), des composés aromatiques (phénol, indole...), des polyamines (dont la spermine), des AGCC et de l'ammoniaque [27].

● Acides biliaires

La génération et l'excrétion d'acides biliaires représentent la voie majoritaire du catabolisme du cholestérol chez les mammifères [135]. La production d'un acide biliaire débute dans le foie par l'hydroxylation du cholestérol, qui est ensuite conjugué à la glycine ou taurine avant d'être sécrété dans l'intestin [27]. 95% de ces acides biliaires primaires sont réabsorbés au niveau de l'iléon distal et le restant est pris en charge par le microbiote intestinal pour production d'acides biliaires secondaires par déconjugaison (perte de la glycine ou taurine) et déshydroxylation [27,135]. Ces acides biliaires secondaires incluent l'acide cholique, l'acide

lithocholique et l'acide ursodésoxycholique [27]. Ces acides biliaires secondaires sont en partie passivement absorbés par le côlon, puis transportés à nouveau au foie ou excrétés dans les selles.

Les acides biliaires primaires et secondaires jouent plusieurs rôles importants pour l'organisme. Ils contribuent au transport et à la digestion de nutriments, de graisse et de vitamines [135]. Ces acides peuvent agir en tant qu'agonistes de récepteurs couplés à la protéine G et ainsi contribuer à des fonctions endocrines, au métabolisme du glucose et énergétique de l'hôte [135,136]. Une modulation du système immunitaire est aussi observée en présence des acides biliaires, par réduction de l'expression de cytokines pro-inflammatoires par les monocytes, cellules dendritiques, macrophages intestinaux et hépatiques [133].

- AGCC dans l'intestin

Production, transport

Les AGCC sont produits par le microbiote intestinal à partir de glucides non digestibles. Les principaux producteurs d'AGCC du microbiote intestinal sont des souches membres des clusters *Clostridium* XIVa et IV dont *Roseburia*, *Eubacterium* et *F. prausnitzii* [27]. Les AGCC sont les anions majoritaires du côlon et comprennent l'acétate, le propionate et le butyrate [74]. Jusqu'à 95% des AGCC sont absorbés dans le côlon par diffusion passive ou par transport actif avec échanges ioniques [27]. Il existe plusieurs transporteurs spécifiques permettant l'absorption des AGCC et des métabolites associés, comme le pyruvate ou les corps cétoniques, par l'épithélium intestinal : le transporteur 1 de monocarboxylate (MCT1) encodé par *SLC16A1* et le transporteur 1 de monocarboxylate couplé au sodium (SMCT1) encodé par *SLC5A8* en font partie [38,137]. MCT1 est exprimé à la fois du côté apical et basolatéral de la membrane cellulaire des CEI [137]. Ces transporteurs permettent ainsi le passage des AGCC du lumen aux colonocytes, voire la lamina propria [137]. Les AGCC peuvent alors rejoindre la circulation sanguine pour interagir par exemple avec le système immunitaire [38]. L'interaction des AGCC avec les cellules avoisinantes peut également passer à travers l'activation de récepteurs comme les récepteurs couplés à la protéine G nommés GPR41 (=Ffar3), GPR43 (=Ffar2), GPR109a, ou des récepteurs olfactifs comme Olfr78 [138]. Les transporteurs et récepteurs mentionnés sont non seulement retrouvés sur les CEI mais aussi à la surface de cellules immunes [138].

Fonctions

Dès leur entrée dans les CEI et/ou contact avec les récepteurs des CEI, les AGCC activent une cascade de signalisation faisant appel à plusieurs acteurs dont des protéines kinases comme l'adénosine monophosphate (AMP) kinase ou la protéine kinase activée par des agents mitogènes (MAPK), la cible de la rapamycine chez les mammifères (mTOR), le transducteur de signal et activateur de la transcription 3 (STAT3) et NF- κ B (Figure 27) [138]. L'activation de la cascade de signalisation peut résulter en une modulation de l'expression des gènes par mécanismes épigénétiques comme l'acétylation et la désacétylation des gènes via les enzymes histone acétyltransférase (HAT) et histone désacétylase (HDAC) [138]. Les effets des AGCC au niveau intestinal sont multiples. En tant que première source d'énergie des CEI, les AGCC participent à l'homéostasie de la BEI [139]. Ils contribuent à la défense contre les pathogènes en abaissant le pH et le potentiel redox, tout en stimulant la sécrétion de peptides antimicrobiens, de chimiokines et de cytokines inflammatoires par les CEI en réponse à une intrusion [139]. La fonctionnalité de l'intestin est impactée via une régulation des hormones intestinales par les AGCC, ce qui entraîne une modulation des réponses locomotrices de l'intestin [68]. D'un point de vue immunitaire

intestinal, les AGCC augmentent la fréquence des cellules dendritiques conventionnelles et stimulent la différenciation des lymphocytes en Treg [109]. De même, l'expression génique des lymphocytes B et leur métabolisme peuvent être impactés par les AGCC afin d'augmenter la sécrétion d'IgA [38]. Les AGCC influencent aussi le SNE, en induisant par exemple la sécrétion de sérotonine par les cellules entérochromaffines [27].

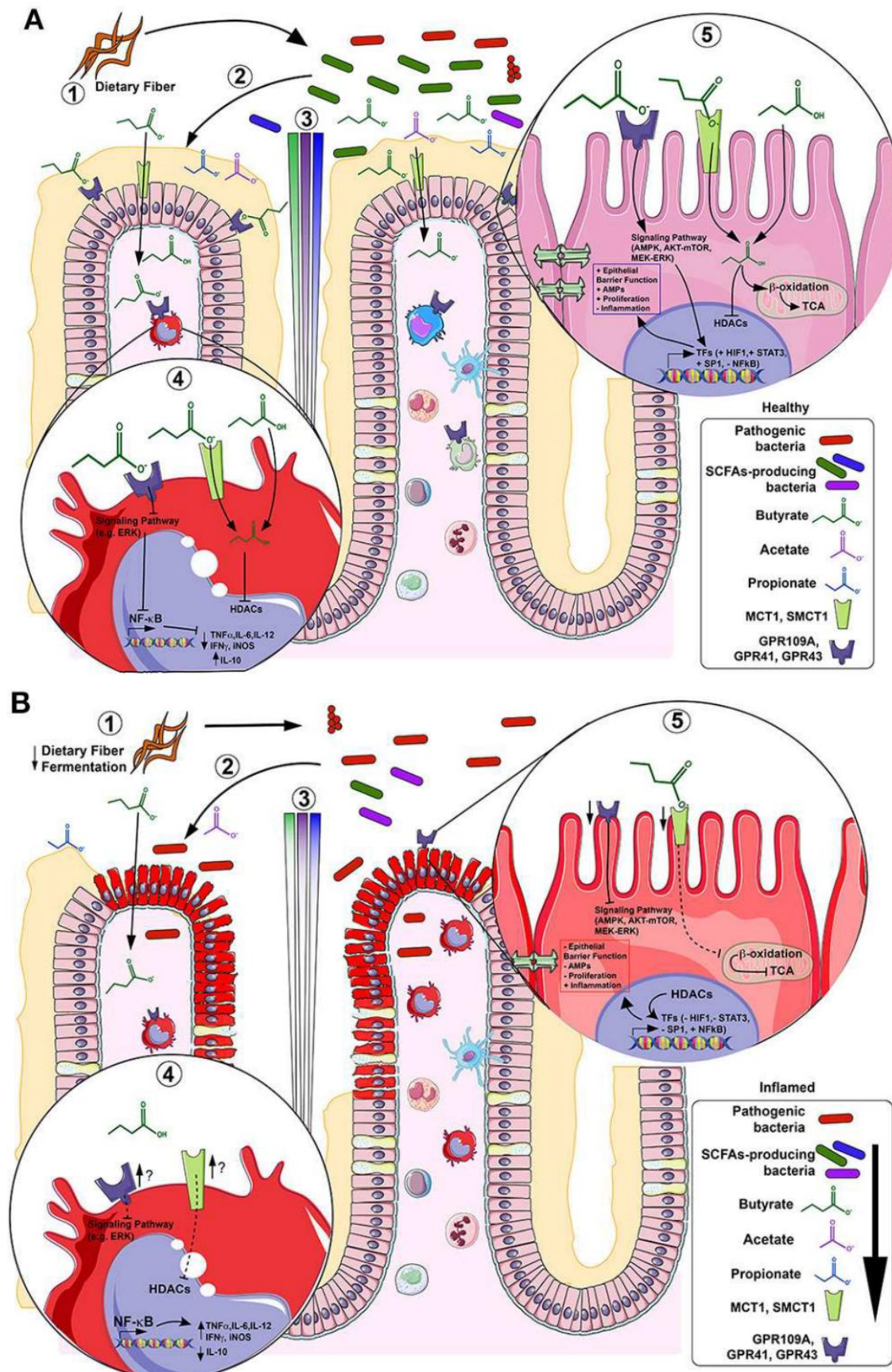


Figure 27. Actions des AGCC en contexte de muqueuse intestinale colique saine (A) et inflammatoire (B) [137]

Butyrate

Le butyrate est un AGCC produit majoritairement par des bactéries anaérobies obligatoires comme celles appartenant aux clusters *Clostridium* IV et IXa [35]. Le butyrate constitue la source première énergétique des colonocytes. Les colonocytes à la pointe apicale des cryptes β -oxydent le butyrate pour produire des corps cétoniques et du CO_2 par consommation d'oxygène fourni localement par les vaisseaux sanguins sous-jacents (Figure 28) [27,35].

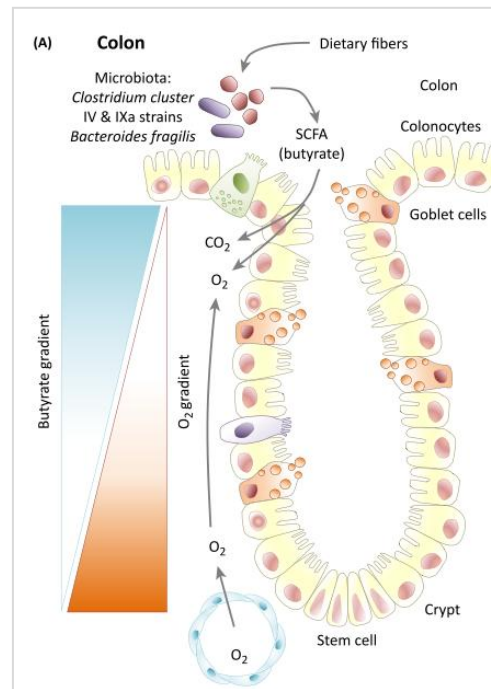


Figure 28. Production et consommation du butyrate dans le colon [35]

La régulation de l'énergie par le butyrate s'effectue par ailleurs via la stimulation de cellules entéroendocrines pour induire la production de leptine par des adipocytes [27]. Le butyrate participe à l'homéostasie de la BEI. En effet, la consommation d'oxygène par β -oxydation crée un environnement anaérobie propice au développement de bactéries butyrogènes, et donc protège la BEI des pathogènes par colonisation du milieu [35]. Le butyrate induit la différenciation des CEI et inhibe la prolifération des cellules souches coloniques [38]. Le gradient d'oxygène formé par le métabolisme du butyrate protège les cellules souches du fond des cryptes de l'effet inhibiteur [35]. De même, le renfort de la BEI passe par l'augmentation de l'expression de mucines et de peptides antimicrobiens par le butyrate, tout comme l'induction de l'assemblage de ZO-1 et de l'occludine [34,38].

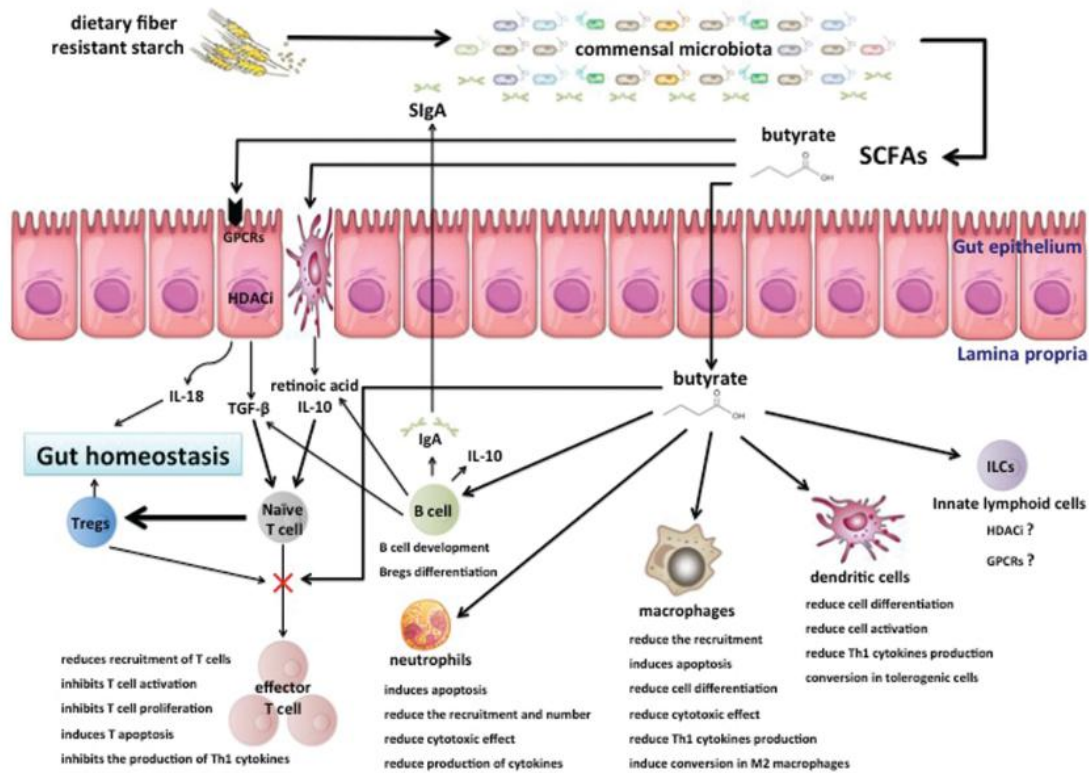


Figure 29. Impact du butyrate sur l'immunité intestinale [38]

La présence intracellulaire du butyrate permet une régulation de l'expression des gènes par des effets épigénétiques, via l'inhibition de l'HDAC. Cette inhibition a pour effet final de diminuer l'inflammation en inhibant NF- κ B et la synthèse d'oxyde nitrique [38,94]. Les effets anti-inflammatoires du butyrate sont aussi visibles à travers l'activation de l'inflammasome des CEI, l'induction de la production d'IL-18, de β -défensines et de l'expression de TGF- β pour induire la différenciation des lymphocytes B pour produire des IgA (Figure 29) [38,138]. La liaison du butyrate aux récepteurs GPR109a, GPR41 et GPR43 contribue à l'augmentation de populations immunes régulatrices comme des lymphocytes Breg, Treg et des macrophages M2, en plus de leur production de cytokines anti-inflammatoires (Figure 29) [38].

Propionate

Le propionate est connu pour être un composé issu de la fermentation du lactate par des bactéries des phyla *Actinobacteria* et *Firmicutes* comme *Propionibacterium* et *C. propionicum* respectivement [111]. Suite à sa production, le propionate est soit utilisé dans l'intestin, soit rendu disponible d'un point de vue systémique [74]. Par liaison aux récepteurs GPR41 ou GPR43, le propionate agit à la fois sur le développement de l'intestin et sur l'immunité intestinale, par des mécanismes notamment épigénétiques [38]. Tout comme le butyrate, le propionate inhibe HDAC [38]. En combinaison avec celui-ci, le propionate permet l'inhibition de l'inflammation induite au LPS, par activation des lymphocytes Treg et par diminution de la production de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-6 et l'IL-12 [27]. Par ailleurs, le développement de cellules entéroendocrines en période prénatale requiert la signalisation induite par la liaison du propionate au GPR43 [140].

Acétate

Les *Bifidobacteria* sont à l'origine de l'acétate qui contribue, par alimentation croisée, à la production de butyrate [68,141]. L'acétate est disponible au niveau systémique à travers sa présence dans la circulation sanguine à hauteur de 0,10-0,15mM, ce qui lui permet d'agir en tant que source d'énergie pour des tissus périphériques [27]. Cet AGCC contribue à renforcer la BEI en modulant la sécrétion de mucines par les cellules caliciformes, et la sécrétion d'IgA par les lymphocytes B, tout en favorisant la différenciation en lymphocytes Breg [27,35]. De manière intéressante, l'acétate se lie au récepteur GPR43 avec une meilleure affinité que le butyrate [27].

○ Barrière intestinale

En plus des effets des métabolites du microbiote intestinal sur la BEI qui comprennent l'abaissement du pH et la stimulation de la production de peptides antimicrobiens, les bactéries elles-mêmes peuvent impacter la barrière. La BEI nécessite ainsi la présence d'interactions entre les TLR des CEI et les bactéries commensales afin de préserver sa fonctionnalité. En effet, ces interactions contribuent par exemple à maintenir la distribution des protéines de TJ au sein des CEI [35]. La détection bactérienne et la signalisation induite par les TLR contribuent de plus à la capacité de réparation de l'épithélium intestinal, en stimulant la sécrétion de facteurs protecteurs des tissus, en inhibant l'apoptose et par recrutement de cellules stromales et myéloïdes aux cryptes [74,79]. Par exemple, les LPS et la flagelline dérivés des bactéries intestinales stimulent l'expression de peptides antimicrobiens et de RegIIIY par les CEI via une stimulation des cellules stromales TLR4 et les cellules dendritiques TLR5 [74]. Des bactéries comme *B. thuringiensis* produisent eux-mêmes des bactériocines à spectre étroit efficace contre *C. difficile* [35]. Par ailleurs, la sécrétion de polyamines comme la putrescine ou la spermidine par des bactéries renforce les fonctions de barrières intestinales.

○ Interaction avec le système immunitaire

Le microbiote intestinal contribue au développement et à la maturation du système immunitaire de l'hôte et inversement, le système immunitaire influence la structure et les fonctions du microbiote intestinal (Figure 30) [74]. L'importance du microbiote intestinal a été illustrée chez la souris germ-free pour qui le développement du système immunitaire est perturbé. Cette dérégulation est visible par des tissus lymphoïdes immatures, une diminution des lymphocytes intestinaux et de la sécrétion de peptides antimicrobiens [74]. La restauration du microbiote intestinal permet de rétablir un système immunitaire fonctionnel [74]. La colonisation par le microbiote stimule par ailleurs la production d'IL-22 par l'ILC3, IL-22 étant un acteur dans le maintien de la fonction de BEI et dans sa réparation [38]. Le microbiote intestinal peut initier et moduler directement la réponse immune, suite à un contact par exemple avec les cellules immunes via des récepteurs en surface comme les TLR [94]. Par ce biais, le microbiote intestinal peut induire des changements de composition des populations de lymphocytes T, voire modifier le profil de réponse immunitaire [74]. Les genres bactériens *Clostridium* ou *Bacteroides* contiennent des bactéries induisant le développement de lymphocytes Treg et donc contribuent à atténuer l'inflammation [73]. Les bactéries commensales *Clostridia* favorisent l'accumulation de lymphocytes Treg Foxp3⁺ par stimulation de la production de TGF-β et d'IDO-1 tandis que *B. fragilis* régule l'activité de ces lymphocytes via ses polysaccharides A présents à sa surface [142]. D'autres effecteurs de surface sont observés chez les bactéries comme les LPS. Les LPS les plus connus sont les LPS hexa-acylés d'*E. coli* stimulant la réponse immunitaire, alors que les LPS penta-acylés

produits par des souches *Bacteroides* spécifiques inhibe en revanche la réponse immunitaire [142]. Dans ce sens, l'interaction entre les bactéries *Helicobacter hepatica* et les récepteurs TLR2 des macrophages induit la sécrétion d'IL-10 par ces macrophages [94]. Au contraire, des bactéries telles que les bactéries filamenteuses segmentées, *C. rodentium*, AIEC et *Bifidobacteria adolescentis* vont favoriser l'activation de cellules Th17 au niveau de la muqueuse intestinale mais aussi de manière systémique [74,142]. Cette diversité d'effets sur le système immunitaire est le reflet de la diversité des espèces bactériennes peuplant l'intestin, dont les fonctions principales ont été décrites précédemment (Figure 30). Les métabolites produits par le microbiote intestinal, dont les AGCC, impactent également le système immunitaire de manière indirecte [38].

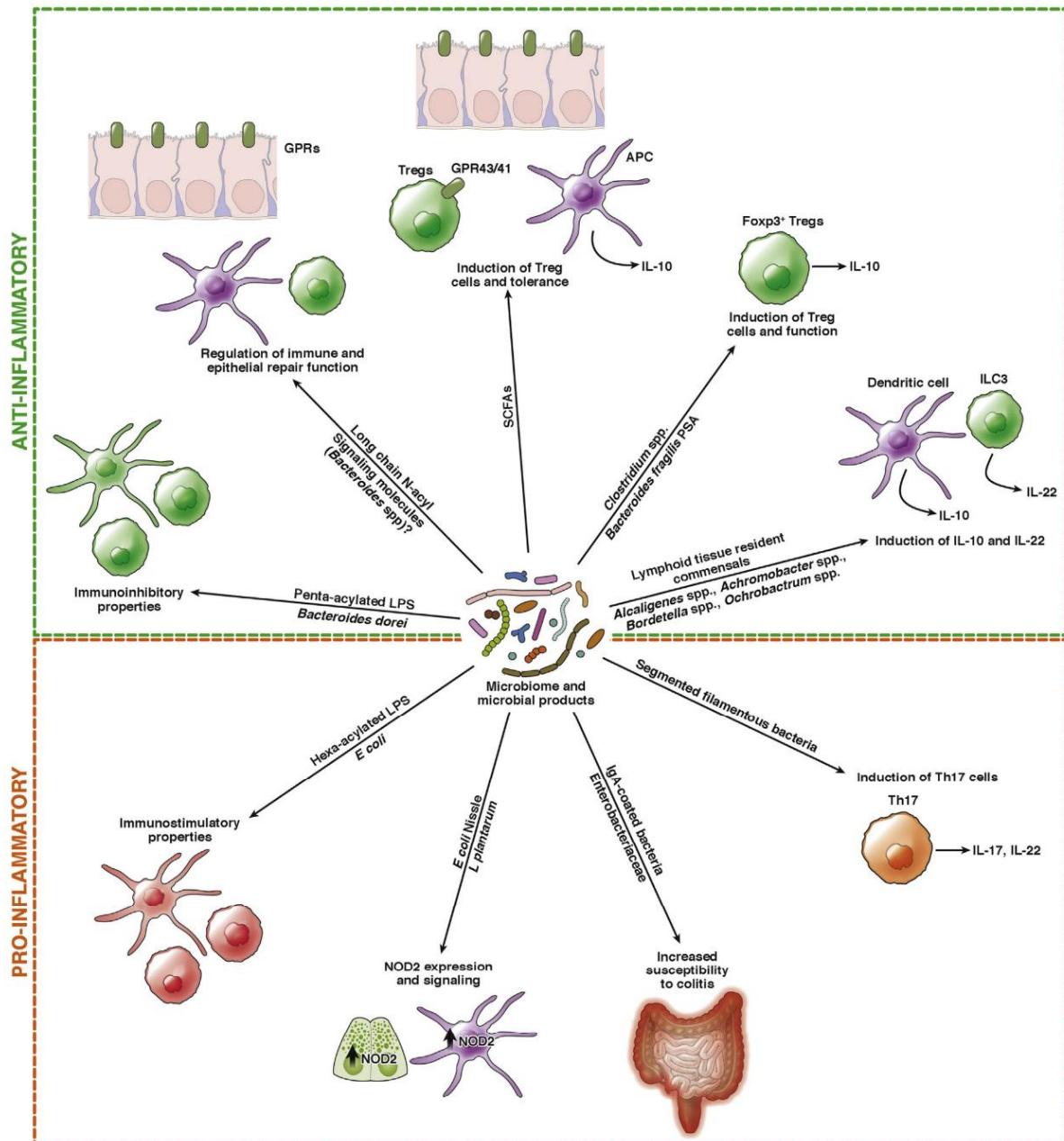


Figure 30. Illustration de la diversité des fonctions immunitaires exercées par le microbiote intestinal influençant l'inflammation [142]

○ Interaction avec le SNE

Le microbiote intestinal peut interagir avec le SNE par la production de neurotransmetteurs et de facteurs neurotrophiques, la maintenance de la BEI, la modulation des afférences entériques sensorielles, la production de métabolites et par la régulation du système immunitaire [27]. Ainsi, l'interaction est directe et indirecte, en faisant appel à d'autres systèmes que sont la BEI et l'immunité intestinale. Les cellules gliales et les neurones entériques tout comme les précurseurs neuronaux entériques disposent de récepteurs comme TLR2 et TLR4 qui permettent la détection du microbiote intestinal, ce qui peut entraîner une modulation du SNE et de ses fonctions neuromusculaires [104]. TLR2 module en effet la libération de facteurs neurotrophiques par les cellules musculaires lisses [104]. La régulation de la motilité colique par le microbiote intestinal peut faire aussi appel au facteur de transcription nommé le récepteur d'aryl hydrocarbone (AHR) exprimés par les neurones entériques coliques, qui agit en réponse à des stimuli alimentaires ou au microbiote par exemple [30,104]. L'importance du microbiote intestinal pour le développement du SNE est mise en avant chez la souris adulte GF qui présente un SNE immature, avec une altération du développement du réseau de cellules gliales entériques de la muqueuse [143,144]. Coloniser ces souris avec un microbiote de souris conventionnel induit une augmentation de la vitesse de transit intestinal, accompagnée d'une modification de la neuroanatomie du SNE, d'une production neuronale et muqueuse de sérotonine et de la prolifération de progéniteurs neuronaux entériques [143]. Près de 90% de la sérotonine du corps humain est produite par les cellules entérochromaffines intestinales, sachant que les neurones intestinaux peuvent également en produire via une autre voie de synthèse [143]. La sérotonine entérique issue de ces deux sources joue un rôle important dans la maintenance du SNE adulte. La sérotonine issue de la muqueuse s'avère être inflammatoire, tandis que la sérotonine d'origine neuronale agit à la fois comme un facteur de croissance neuronale majeur et comme inhibiteur de l'inflammation de la muqueuse intestinale [143]. La sérotonine active des récepteurs 5-HT₄ du SNE, ce qui induit la production de neurones et un effet neuroprotecteur [143]. Le microbiote intestinal est capable de moduler la production de sérotonine par la muqueuse intestinale [143]. Les souches du genre *Clostridium* favorisent par exemple la synthèse de sérotonine par les cellules entérochromaffines coliques mais aussi les neurones myentériques. Ces souches favorisent donc, par augmentation du nombre de récepteurs 5-HT₄, la motilité colique [145]. D'un point de vue immunitaire, les neurones entériques produisent un facteur de stimulation des colonies 1 (Csf1) contribuant à la survie des macrophages de la muscularis [30]. Cette production de Csf1 par les neurones entériques peut être augmentée par le microbiote intestinal via les MAMP, dont le LPS [30]. Toutefois, une dysbiose liée à une infection entérique contribue à la perte de neurones entériques [30]. Non seulement les souches bactériennes, mais également leurs métabolites, peuvent influencer sur le SNE [145]. Les AGCC régulent en ce sens le développement du SNE en augmentant la vitesse de croissance des progéniteurs neuronaux, par modulation de gènes liés à l'apoptose, la prolifération et la neurogénèse [104]. Le butyrate influence par exemple la formation postnatale de réseaux de glie chez le rat [145]. De plus, le butyrate stimule la synthèse neuronale d'acétylcholine (ACh) et par ce biais augmente la motilité GI [146].

5) Dysbiose dans les MICI

1) Changement de composition

Les patients MICI présentent une dysbiose intestinale qui s'accompagne d'une diminution de la diversité non seulement du bactériome, mais aussi du mycobiome et du phagéome (Figure 31)

[77,112]. Les données disponibles sur la composition en protozoaires, archées et helminthes des patients MICI sont rares, en partie à cause des difficultés liées à leur identification. D'autres paramètres sont à prendre en compte dans l'étude de la dysbiose dans les MICI, comme la régionalité de la dysbiose et la prise ou non de médicaments par le patient [147]. En effet, des travaux menés sur une population de patients atteints d'une MC de moins de 17 ans nouvellement diagnostiqués et non traités, démontrent l'exacerbation de la dysbiose par la prise d'antibiotiques [147]. De même, cette étude souligne l'intérêt de considérer la covariance des souches bactériennes, qui co-diminuent/augmentent dans une MC [147]. La zone d'échantillonnage du microbiote intestinal est également importante dans cette étude, qui montre que la composition du microbiote du rectum et non celle des fèces constitue un outil de diagnostic de la MC [147].

	Decreased in IBD	Increased in IBD
Microbial composition	<i>Bifidobacterium</i> sp.	<i>Proteobacteria</i>
	Groups IV and XIV Clostridium	<i>Escherichia coli</i> , adherent/invasive
	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	<i>Fusobacterium</i> species
	<i>Roseburia</i> species	<i>Ruminococcus gnavus</i>
	<i>Sutterella</i> species	<i>Pasteurellaceae</i>
	<i>Bacteroides</i>	<i>Veillonellaceae</i>
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Caudovirales</i>
Microbial function		<i>Clavispora lusitanae</i>
		<i>Kluyveromyces marxianus</i>
		<i>Candida albicans</i>
		<i>Candida tropicalis</i>
		<i>Cyberlindnera jadinii</i>
	SCFAs, butyrate	Auxotrophy
	Butanoate and propanoate metabolism	Amino acid transport
	Amino acid biosynthesis	Sulfate transport
		Oxidative stress
		Type II secretion system
		Secretion of toxins

Figure 31. Changement majeurs de la composition du microbiote intestinal observé dans les MICI [77]

L'importance du microbiote intestinal dans les MICI est mise en avant dans une étude de transfert de microbiote de patients MICI à des souris GF [148]. Ce transfert induit une réponse immune chez ces souris, corrélée au degré de sévérité de la MICI et avec un nombre de lymphocytes intestinaux Th17 et Th2 augmenté tandis que le nombre de lymphocytes Treg RORγt⁺ est diminué [148]. De plus, cette colonisation est à l'origine de l'exacerbation d'un modèle de colite de transfert de lymphocytes T naïfs chez des souris Rag1^{-/-} [148].

○ Protozoaires

Les données disponibles sur les changements de composition des protozoaires chez les patients MICI sont faibles et mitigées. Certaines études indiquent une diminution de *Blastocystis hominis* chez les patients RCH par rapport à des individus sains, ou par rapport à des patients RCH en rémission [77]. Une autre étude montre à l'inverse une diminution de *B. hominis* chez des patients RCH actif par rapport à ceux en rémission [77]. De même, l'effet de *B. hominis* n'est pas encore tranché. Cette espèce est commune du microbiote intestinal mais est, dans le cadre d'une infection, associée à une aggravation des symptômes RCH et à une réduction de l'efficacité des traitements [77].

○ Helminthes

L'absence d'helminthes chez l'hôte est associée au développement d'une MICI [73]. Les helminthes possèdent des propriétés immunorégulatrices, visibles par exemple chez *Trichuris muris* et *Heligmosoides polygyrus* qui protègent des souris déficientes en NOD2 d'une inflammation, par inhibition de souches bactériennes *Bacteroides* inflammatoires [73].

○ Archéome

Chez les patients MICI, une hausse de l'abondance en *Methanospaera stadtmannae*, à fort potentiel immunogène, et une diminution de l'abondance de *Methanobrevibacter smithii* sont observés par rapport à des individus sains [77]. Ces changements pourraient être corrélés à la dysbiose bactérienne et à une modification de l'environnement nutritif [77].

○ Virome

Des analyses métagénomiques de patients MICI ont permis de mettre en évidence que l'avancement de la maladie est liée à une augmentation de la variabilité interindividuelle du virome intestinal et à une diminution de sa diversité [78]. De même, une augmentation de la richesse des bactériophages et en particulier des *Caudovirales* est observée chez les patients MICI, et est associée à une réduction de la diversité bactérienne [79,149]. La proportion de virus eucaryotes augmente aussi chez les patients MICI, avec une augmentation des virus de la famille des *Herpesviridae* [77]. Des différences entre RCH et MC sont néanmoins retrouvées : les patients RCH présentent une diminution de l'abondance des familles virales *Polydnaviridae* et *Tymoviridae* tandis que les patients MC présentent une diminution de *Virgaviridae* [77].

○ Mycobiome

Plusieurs éléments soulignent l'importance du mycobiome dans les MICI. Différents gènes de susceptibilité à une MICI encodant la protéine 9 contenant le domaine de recrutement des caspases (CARD9), la dectine 1, l'IL-23 et d'autres protéines des voies Th1 et Th17 sont liés à la reconnaissance et à la réponse aux champignons [75]. Leur rôle dans les MICI est confirmé dans plusieurs modèles murins KO pour la dectine 1 ou CARD9, où une susceptibilité accrue au développement d'une colite induite au DSS et une concentration intestinale de champignons élevée sont observés mais atténués suite à un traitement antifongique [75]. La dectine 1 a un effet protecteur en contexte de colite par sa contribution dans la baisse de production des peptides antimicrobiens S100A8 et S100A9, engendrant la surabondance de *Lactobacillus spp.* qui induisent la différenciation des lymphocytes en lymphocytes Treg [75].

Les résultats disponibles concernant les variations de mycobiome dans le cadre d'une MICI sont hétérogènes [79]. Une dysbiose fongique accompagnée d'une réduction de la diversité du mycobiome ont été toutefois observées, à la fois chez les patients MICI pédiatriques et/ou adultes [77]. Le ratio *Basidiomycota/Ascomycota* est augmenté, en comparaison avec des individus sains ou des patients en rémission [77]. Ce changement de ratio s'explique majoritairement par l'augmentation de l'abondance de certaines espèces *Candida* comme *C. albicans* et une réduction de celle de *Saccharomyces cerevisiae* [75,77]. *C. albicans* a été démontré comme exacerbant la colite chez la souris [75]. De plus, la diminution de *S. cerevisiae*, visible dans les fèces et biopsies de patients MICI, est positivement corrélée à la réduction de plusieurs souches bactériennes des genres *Bifidobacterium*, *Blautia*, *Roseburia* et *Ruminococcus* [75,77]. De manière intéressante, une

augmentation de la concentration d'anticorps ciblant *S. cerevisiae* (mais aussi d'autres champignons) a été associé à la MC [75]. Les effets protecteurs d'une supplémentation en *S. cerevisiae* ou *C. albicans* contre l'induction d'une colite par DSS peuvent compenser la perte des fonctions des bactéries du microbiote déplétées par antibiotiques [75]. L'abondance d'autres espèces fongiques est également impactée dans une MICI et dépend de la nature de la maladie [77]. Cependant, le faible nombre d'études ne permet pas de dégager une tendance générale, que ce soit pour la RCH ou la MC.

○ Bactériome

Une dysbiose du bactériome intestinal est visible chez les patients MICI, avec des disparités entre la RCH et la MC [112]. Les patients MC présentent des changements microbiens plus important que les patients RCH, avec l'inflammation de l'iléon comme acteur majeur de la différence de bactériome entre ces maladies [112]. La diversité du microbiote intestinal est réduite, avec une diminution de l'abondance de phyla tels que *Firmicutes* et une augmentation de *Proteobacteria* [73,79].

Des espèces bactériennes pathogènes dont certaines souches adhérentes comme l'AIEC sont augmentées, tandis que la diversité d'espèces bactériennes bénéfiques comme *F. prausnitzii* est réduite chez les patients MICI [83,110,112,150]. De même, la proportion de plusieurs bactéries productrices d'AGCC comme *Roseburia* ou *Phascolarctobacterium* est diminuée chez les patients MC [73,112]. Les bactéries proliférant le plus dans une MICI sont aérotolérantes (aérobies ou anaérobies facultatives) et tolèrent l'augmentation du stress oxydant environnant [83,151,152]. En ce sens, une augmentation transitoire des bactéries d'un clade de *Ruminococcus gnavus* est observée chez les patients MICI. Ces bactéries possèdent en effet des gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant en plus d'autres gènes dont certains sont liés à l'utilisation des mucines [152]. Parmi les bactéries à caractère pro-inflammatoire, la souche *Klebsiella pneumoniae* isolée d'un patient MC et membre de la famille *Enterobacteriaceae*, induit expérimentalement une colite à forte réponse immune Th1 [83]. À noter aussi que certaines souches *Enterobacteriaceae* couvertes d'IgA sont associées aux spondyloarthrites associées à la MC et induire chez la souris une colite [142]. Un certain nombre de bactéries réductrices de sulfate comme *Desulfovibrio* sont par ailleurs augmentées en MICI, ce qui peut contribuer à l'inflammation de la muqueuse par impact de la production de sulfure d'hydrogène sur les CEI [74]. Une autre bactérie pathogène nommée *Prevotella intestinalis* a démontré une exacerbation de la susceptibilité à une colite aiguë induite au DSS suite à sa colonisation chez des souris exemptes d'organismes pathogènes spécifiques (SPF), accompagnée d'une augmentation de TNF- α et d'IL-6 dans le côlon distal ainsi que du recrutement de neutrophiles dans la lamina propria [153].

Certains travaux montrent de manière surprenante un effet protecteur de l'infection à *Helicobacter pylori* contre le développement de maladies dont les MICI, à travers l'induction d'une tolérance immunitaire et d'une limitation de la réponse immunitaire [73]. Les effets protecteurs peuvent également s'exercer par ciblage de bactéries pathogènes telles que certaines espèces *Candida* inductrices de colite, inhibées par la production du peptide antimicrobien CRAMP (pour « cathelicidin-related antimicrobial peptide ») par la bactérie *Bacteroides thetaiotaomicron* [142]. D'autres bactéries possèdent des effets protecteurs contre les MICI comme certaines souches *Clostridia* dont la colonisation chez des souris est associée à une résistance à l'induction d'une colite par stimulation du développement de lymphocytes Treg [142]. De même dans des modèles de

colite chez la souris, les *Lactobacillus* améliorent la maladie à travers une induction de la différenciation des lymphocytes Treg et une diminution de la perméabilité de la muqueuse [105,139]. Outre ces souches, une des espèces bactériennes les plus connues pour ses effets bénéfiques est *F. prausnitzii*, qui produit une molécule anti-inflammatoire microbienne efficace pour prévenir du développement d'une colite sévère ou modérée induite à l'acide sulfonique dinitrobenzène (DNBS) ou au « dextran sodium sulfate » (DSS) chez la souris [94,98–100]. L'administration orale de souches vivantes *F. prausnitzii* A2-165 ou de son surnageant réduit aussi la sévérité d'une colite induite au « 2,4,6-trinitrobenzenesulphonic acid » (TNBS) chez la souris [95,97]. Dans un modèle d'inflammation chronique de bas grade induite au DNBS, l'administration de *F. prausnitzii* ou son surnageant ont un effet bénéfique sur la BEI en diminuant la perméabilité et les concentrations de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-6 [154]. De par ses propriétés, *F. prausnitzii* se révèle être un bon marqueur prédictif de l'évolution des MICI. Le risque de récurrence de la MC iléale après chirurgie est en effet plus élevé si la concentration de *F. prausnitzii* dans la muqueuse intestinale est faible [73,74,94]. Sa proportion faible dans des résections de muqueuse MC iléale est de même associée à une récurrence endoscopique à 6 mois [97].

L'utilité de la caractérisation du microbiome intestinal se situe non seulement dans le suivi d'une MICI, mais également dans son diagnostic. Une étude a ainsi montré que des méthodes de diagnostics basées sur le microbiome permettent d'identifier des patients MICI pédiatriques, dont le diagnostic est connu pour être difficile du fait de la non-spécificité de leurs symptômes rencontrés [152]. Cette classification selon le microbiome s'avère intéressante en complément des techniques préexistantes de détection d'une MICI (endoscopie, examen histologique...) [152].

2) Changement du métabolisme

Les changements avérés de composition du microbiote impactent directement ses fonctions, et donc en parallèle potentiellement l'hôte (Figure 31). Une étude suggère même que l'altération dans les MICI du métabolisme du microbiote est plus grande que celle de sa composition, avec 12% des voies analysées modifiées contre 2% des genres bactériens [155]. Les patients MICI rapportent une faible tolérance aux aliments fermentables riches en fibres [156]. Ceci va de pair avec la diminution de gènes du microbiote fécal de patients MICI liés au métabolisme de glucides complexes [110]. Une altération de la transcription du microbiote est observée dans les MICI, à travers une diminution de gènes induisant une modification des voies métaboliques [151]. En plus du métabolisme des glucides, la voie de biosynthèse des acides aminés est diminuée chez les patients MICI en faveur des voies de virulence, de l'assimilation de nutriments, du métabolisme d'acides aminés composés de soufre et de la prise en charge du stress oxydant [79,139,152]. Les MICI sont en effet associées à une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et d'espèces réactives de l'azote qui sont à l'origine d'un stress oxydant pour les CEI et le microbiote intestinal [152]. La production d'AGCC est par ce biais impactée, avec une diminution de la concentration du butyrate et du propionate associée à une augmentation de lactate chez les patients MICI [111]. L'augmentation de lactate est corrélée dans la littérature avec une augmentation du risque de diarrhée et d'inflammation de la muqueuse [111]. L'altération des voies enzymatiques microbiennes en MICI impacte le métabolisme des acides biliaires de l'hôte [79]. Le potentiel de déconjugaison des acides biliaires et de biotransformation du microbiome des patients MICI est diminué, entraînant une proportion plus élevée d'acides biliaires conjugués que déconjugués dans les selles des patients MICI [136].

Le microbiote intestinal

- Le microbiote intestinal est composé d'une diversité de micro-organismes dont les ensembles les plus prépondérants sont le bactériome, le virome, le mycobiome, l'archéome et les parasites intestinaux.
- L'abondance, la composition et l'activité du microbiote dépendent de gradients physico-chimiques : pH, taux d'oxygène, vitesse de transit, mais aussi de facteurs environnementaux comme la disponibilité en nutriments. Les micro-organismes s'influencent aussi, dans une interaction allant du mutualisme à la compétition.
- Une dysbiose intestinale est associée à la survenue des MICI. La composition et la fonctionnalité du microbiote est altérée, avec une diminution de micro-organismes bénéfiques comme *F. prausnitzii* ou *S. cerevisiae*, et l'augmentation de pathogènes comme l'AIEC et *C. albicans*. Ces modifications entraînent une exacerbation de l'inflammation et une reprogrammation métabolique du microbiote en faveur de la prise en charge de cette inflammation, au détriment d'autres fonctions importantes pour l'hôte comme la fermentation de glucides complexes et la production d'acides biliaires secondaires.

D. Système immunitaire intestinal

1) Composition

Le système immunitaire intestinal, appelé également tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT), représente un organe lymphoïde secondaire jouant un rôle important dans la prise en charge d'antigènes et le développement d'une réponse immune au sein de l'intestin [138]. Il s'organise en 3 couches dépendantes de la localisation de ses composantes dans l'intestin : le GALT peut être retrouvé au cœur de l'épithélium intestinal, dans la lamina propria ou dans des follicules lymphoïdes comme les plaques de Peyer (Figure 32) [27,157]. Parmi ces localisations, l'épithélium et la lamina propria font partie des sites effecteurs de l'immunité intestinale tandis que les autres sites sont dits inductifs [158].

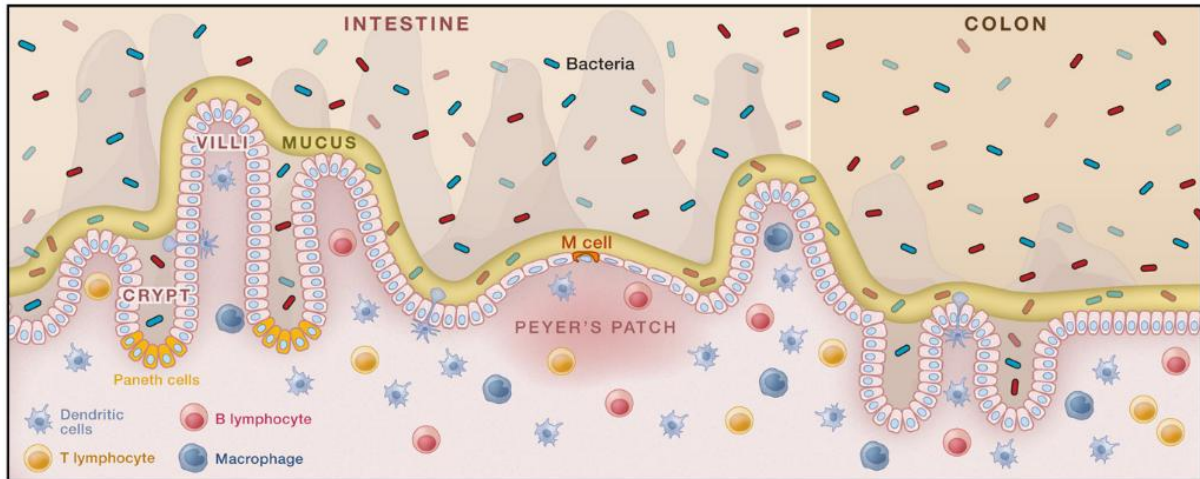


Figure 32. Architecture de l'intestin et représentation de cellules immunes [158]

Les follicules lymphoïdes sont répartis tout le long de l'intestin, en particulier à l'extrémité terminale de l'iléon où ils forment des agrégats nommés plaques de Peyer (Figure 32) [157]. Le côlon possède également des structures similaires sous forme de patches caecaux et coliques comprenant des petits agrégats lymphoïdes de tailles variables, dont les plus grands sont appelés des follicules lymphoïdes isolés (ILF) [159]. Plus précisément, les follicules lymphoïdes sont situés dans la muqueuse et sous-muqueuse, entourés d'un épithélium associé aux follicules qui comprend des cellules M [159]. Un dôme sous-épithélial est retrouvé en dessous, concentrant des cellules dendritiques et des cellules immunes adaptatives [159]. Au contraire de ces follicules, les plaques de Peyer ne sont pas encapsulées et contiennent des centres germinatifs (clusters de lymphocytes B en maturation et prolifération) [159]. Les plaques de Peyer représentent la source principale de plasmablastes résidents sécrétant d'IgA, tandis que les patches caecaux jouent un rôle dans la génération de plasmocytes sécrétant d'IgA migrant dans le côlon en réponse au microbiote intestinal [159]. Les ILF contiennent quant à eux essentiellement des lymphocytes B et des centres germinatifs [159].

De même, des ganglions lymphatiques mésentériques sont présents dans l'intestin et drainent de manière différenciée chaque partie de l'intestin (Figure 33) [157,159]. Le système lymphatique intestinal se distingue en deux compartiments distincts, avec un compartiment drainant la couche musculaire et l'autre la muqueuse jusqu'à atteindre le cœur des villosités [159]. La vascularisation lymphatique est importante pour drainer et éliminer les antigènes et les leucocytes des sites d'inflammation [71].

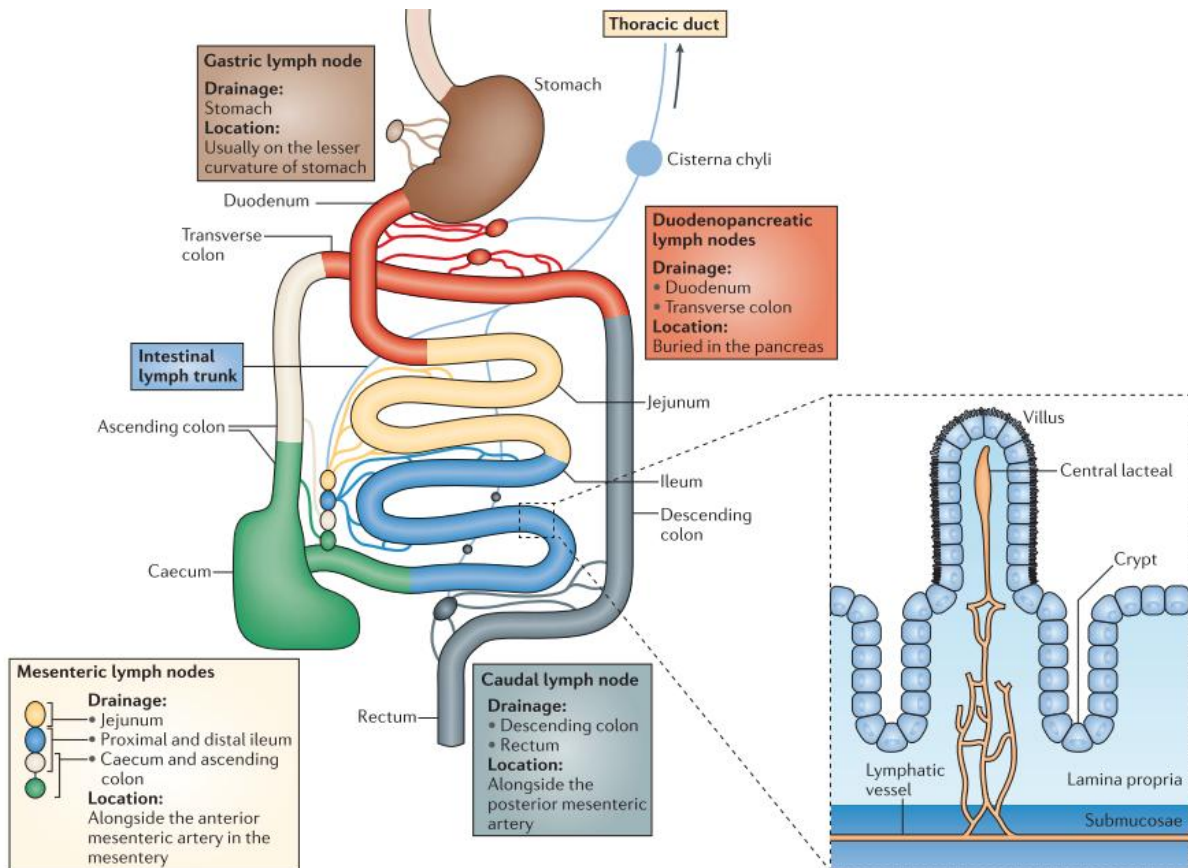


Figure 33. Drainage lymphatique de l'intestin [159]

La composition en cellules immunes varie non seulement en fonction de la couche considérée mais également selon le segment d'intestin [7]. Le côlon proximal est peuplé d'une part importante de lymphocytes T $CD8^+$ et B $CD19^+$ alors que le côlon distal et le rectum sont enrichis en lymphocytes T $CD4^+$ en majorité producteurs d'IL-17, et de cellules sécrétrices d'anticorps [7,159]. Le côlon transverse présente un nombre important de lymphocytes $\gamma\delta$ et de cellules Natural Killer (NK) [7]. Tout le long de l'intestin sont retrouvés des macrophages, tout comme des plasmocytes pour la plupart sécréteurs d'IgA [159].

L'épithélium contient essentiellement des cellules immunes adaptatives comme des lymphocytes intra-épithéliaux (LIE) situés entre les CEI (10-15 lymphocytes pour 100 CEI), et des cellules NK [38,157,159]. Les LIE comportent des lymphocytes conventionnels $\alpha\beta TCR^+$ (TCR pour récepteur des lymphocytes T) dont $\frac{3}{4}$ de lymphocytes T $CD8\alpha\beta^+$ (des lymphocytes T $CD8^+$ mémoires effecteurs résidents des tissus) et des lymphocytes T $CD4\alpha\beta^+$, mais aussi des lymphocytes T non conventionnels $CD8\alpha\alpha^+$ dont $TCR\gamma\delta^+$ ou $\alpha\beta TCR^+$ et des cellules NK [36,38,159]. Les LIE sont plus abondants dans l'intestin grêle que dans le côlon [159]. Chez la souris, les LIE du côlon les plus abondantes sont $CD4^+$ et $CD8\alpha\beta^+$ [159]. Cette localisation permet aux cellules immunes d'être en interaction étroite avec les CEI environnantes [36].

En dessous de l'épithélium intestinal, la lamina propria constitue un réservoir de cellules dendritiques, de lymphocytes T mémoires effecteurs $CD8^+$ sinon majoritairement des lymphocytes T $CD4^+$, de lymphocytes B et de macrophages résidents non migratoires en majorité M2 [38,157]. Elle contient également des cellules stromales et des ILC [38]. Les lymphocytes $CD4^+$ retrouvés

dans la lamina propria présentent une grande diversité, avec entre autres des lymphocytes IL-2⁺, IL-17⁺, Treg dont des lymphocytes FOXP3⁻ Tr1 [159].

2) Système immunitaire inné

Le système immunitaire inné est la première ligne de défense de l'intestin contre des pathogènes (Figure 34) [160]. La réponse immune engendrée est non spécifique et ne confère pas d'immunité durable [160]. Les acteurs impliqués dans celle-ci sont des macrophages, neutrophiles, cellules dendritiques et NK, ILC, des basophiles mais aussi les CEI et des myofibroblastes [161]. La détection de micro-organismes pathogènes, microbiens ou fongiques par exemple, est effectuée par des PRR comme les TLR et les récepteurs cytoplasmiques de type NOD [160]. Une cascade signalétique est enclenchée suite à détection, pour aboutir à l'activation de NF- κ B qui entraîne la transcription et la production de médiateurs pro-inflammatoires, l'assemblage d'inflammasomes et l'activation de voies de réparation épithéliale [79,160].

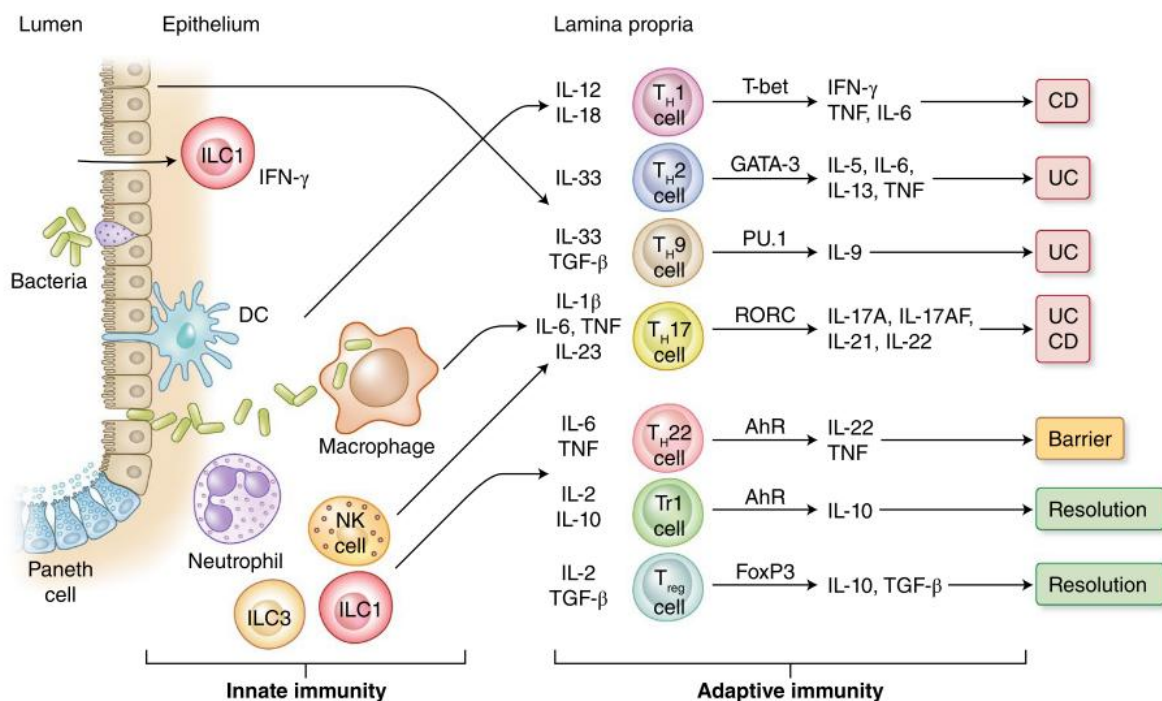


Figure 34. Immunité intestinale innée et adaptative avec les principales cellules immunes impliquées et leur impact fonctionnel [9]

a) Neutrophiles

Les neutrophiles (ou leucocytes polymorphonucléaires) sont d'importantes cellules de l'immunité innée représentant près de 50-60% des leucocytes de la circulation sanguine [162]. Ces cellules peuvent être recrutées par des monocytes résidents de l'intestin jusqu'aux sites d'inflammation par production de chemokines [162]. Les neutrophiles possèdent des PRR dont la plupart des TLR excepté TLR3, et contribuent à la défense contre des pathogènes microbiens par une variété de fonctions qui comprennent la phagocytose et la dégranulation [162,163]. Le contact de pathogène avec les neutrophiles induit la génération massive de ROS et la libération de granules qui contiennent des peptides antimicrobiens comme des cathelicidines, la myéloperoxydase, des enzymes hydrolytiques dont des lysozymes, des phospholipases cationiques et des chélateurs de métaux comme la lactoferrine [162]. De manière intéressante, les neutrophiles

peuvent aussi séquestrer des pathogènes dans des structures appelées des pièges extracellulaires des neutrophiles [162].

b) Cellules NK

Les cellules NK sont des cellules immunes innées CD3-CD56⁺ présentes dans le GALT [36]. Les cellules NK de la muqueuse intestinale se distinguent des cellules NK conventionnelles par leur expression du facteur de transcription RORC, un récepteur C orphelin apparenté aux récepteurs de l'acide rétinoïque, d'IL17RA, de NKp44 et de NKp46 [159]. Leur production d'IL-22 contribue à la survie des CEI par modulation de leurs gènes [36]. Elles jouent également un rôle dans la réponse immune contre une infection intestinale, via l'interaction de leurs TLR tels que TLR2, TLR3, TLR4 et TLR9 avec les pathogènes [36]. Les cellules NK sécrètent de l'IFN- γ qui active les cellules myéloïdes pour favoriser la phagocytose et l'élimination des pathogènes [36].

c) Cellules dendritiques

Deux sous-types de cellules dendritiques (DC) sont majoritaires : les plasmacytoïdes pDC et les conventionnelles myéloïdes cDC [158]. Tous deux sont retrouvés aux sites effecteurs et inducteurs du GALT [158]. Parmi les cellules dendritiques conventionnelles, 4 sous-groupes sont distingués chez la souris sur la base de leur expression de CD103 (appelée aussi intégrine α E) et CD11b [159]. Les cellules dendritiques CD103⁺CD11b⁻ constituent le sous-groupe majoritaire du côlon, et leurs rôles restent encore à être précisés tout comme celui des autres sous-groupes [159]. Les pDC semblent être restreints à l'intestin grêle chez la souris, hors recrutement au côlon en réponse à une infection/inflammation [159]. Chez la souris, les pDC ne rejoignent pas les ganglions lymphatiques mésentériques mais stimulent la migration des cDC dans la lymphe en réponse à l'action de TLR7 et/ou TLR8 [159].

Les DC sont d'importantes cellules présentatrices d'antigènes (APC) ayant la capacité à la fois d'interagir directement avec le microbiote intestinal via des TLR, par extension de leurs dendrites à travers les TJ jusqu'au lumen, mais aussi indirectement en prenant le relai des cellules M qui ont au préalable pris en charge des micro-organismes [164]. Suite à l'acquisition des antigènes du microbiote, ces cellules migrent aux ganglions mésentériques [38]. Les DC détectent non seulement les produits du lumen mais aussi les fragments de cellules apoptotiques [158]. Elles sécrètent des cytokines et des molécules de co-stimulation contribuant à la détermination du type de réponse immunitaire mise en place (Th ou Treg) par activation de lymphocytes T naïfs et/ou mémoire [158,164]. Ainsi, les DC participent également à la tolérance des antigènes alimentaires et des organismes commensaux [38]. En ce sens, des travaux ont montré la potentielle liaison sélective du polysaccharide A dérivé de *B. fragilis* aux TLR2 des pDC, qui mène à la génération de lymphocytes T producteur d'IL-10 [159]. De ce fait, les cellules dendritiques contrôlent en partie l'interaction entre l'immunité innée et adaptative [71].

d) Cellules lymphoïdes innées

Les ILC sont des cellules effectrices hématopoïétiques résidentes des tissus dérivant d'un progéniteur commun exprimant Id2 et partageant comme caractéristiques : une morphologie lymphoïde, une lignée cellulaire négative (CD3⁻, B220⁻, GR1⁻, CD11b⁻, Ter119⁻) et l'absence de récepteurs d'antigènes RAG-dépendant [161,165]. Trois groupes d'ILC sont recensés [161]. Le premier groupe d'ILC est constitué des ILC1 et se définit par sa capacité à produire des cytokines associées aux cellules Th1 dont IFN- γ [161]. Le deuxième groupe d'ILC composé des ILC2 se caractérise par sa production de cytokines Th2 comme IL-5 et IL-13, mais aussi par l'influence à

laquelle sont soumises ces cellules qui est exercée par l'activité alimentaire dépendante du rythme circadien lui-même sous contrôle du peptide intestinal vasoactif (VIP) [159,161]. Enfin, le troisième groupe d'ILC représenté par les ILC3 et leurs précurseurs de type cellules inductrices des tissus lymphoïdes (LTi) sécrètent des cytokines de type Th17 comme IL-17 et IL-22 [161]. Ce troisième groupe présente dans l'intestin grêle différents sous-types par rapport au côlon [159]. D'intérêt, les ILC3 peuvent inhiber la réponse immunitaire Th17 aux bactéries filamenteuses segmentées [159].

e) Macrophages

Les macrophages sont les leucocytes majoritaires de la lamina propria intestinale et sont dérivés de monocytes sanguins différenciés localement par un contrôle de l'environnement muqueux [159]. Ces cellules assurent des fonctions multiples comme la phagocytose et la dégradation de débris cellulaires et de micro-organismes, ainsi que la production de médiateurs stimulant le renouvellement cellulaire [159]. Ils sont divisés en plusieurs phénotypes, M1 et M2, se distinguant selon les stimuli présents dans leur microenvironnement local (Figure 35) [1]. Les macrophages de type M1 se développent en présence d'IFN- γ , de cytokines ou de stimuli microbiens comme le LPS [166]. Ils permettent de lutter contre les pathogènes par la production de cytokines pro-inflammatoires et par un renforcement de l'activité antimicrobienne [167]. Les macrophages M2 présente plusieurs sous-catégories selon les stimuli rencontrés (Figure 35) [167]. Ils sont toutefois assimilés de manière globale (hors M2d) à un phénotype anti-inflammatoire, avec la production de médiateurs pro-résolutifs comme la résolvine D5 ou la protectine D1 [167]. Leur production d'IL-10 contribue également à prévenir de l'inflammation et favorise la survie et les fonctions de lymphocytes Treg de la muqueuse [159].

Phenotypes	Stimuli	Markers	Functions	References
Human monocytes/macrophages				
M1	IFN- γ , LPS, GM-CSF, TNF- α	CXCL9, IL-12 high/IL-10 low, iNOS, IL-6, CD80, CD86, TNF- α	Pro-inflammation, microbicidal effect, tumor resistance	1,26-8,11,27,63,105
M2a	IL-4, IL-13	CCL17, IL-1R, CD206, Dectin-1, IL-10, DC-SIGN	Anti-inflammatory, wound healing	1,26-8,63,105,141
M2b	LPS+IC, IL-1 β +IC	CCL1, IL-10 high/IL-12 low, TNF- α , CD86, IL-6	Immunoregulation, promoting infection, tumor progression	1,26-8,11,27,39,41,63,75, 90,136,163,164
M2c	IL-10, Glucocorticoids	CXCL13, CD206, CD163, IL-10, TGF- β , MerTK	Immunosuppression, phagocytosis, tissue remodeling	1,6-8,63
M2d	LPS+A2R ligands, IL-6	VEGF, IL-10, TGF- β	Tumor progression, angiogenesis	1,8,17,19
Mouse monocytes/macrophages				
M1	IFN- γ , LPS, GM-CSF, TNF- α	CXCL9, IL-12 high/IL-10 low, iNOS, IL-6, CD80, CD86, TNF- α	Pro-inflammation, microbicidal effect, tumor resistance,	1,26,8,11,26,63
M2a	IL-4, IL-13	CCL17, IL-1R, Dectin-1, IL-10, Arg-1, Chi3, FIZZ1	Anti-inflammatory, wound healing,	1,26,8,31,63
M2b	LPS+IC, IL-1 β +IC	CCL1, IL-10 high/IL-12 low, TNF- α , CD86, IL-6, LIGHT	Immunoregulation, promoting infection, tumor progression	1,26,8,11,41,43,63,71,164
M2c	IL-10, Glucocorticoids	CXCL13, CD206, CD163, IL-10, TGF- β , MerTK, Arg-1	Immunosuppression, phagocytosis, tissue remodeling	1,6,8,63
M2d	LPS+A2R ligands, IL-6	VEGF, IL-10, TGF- β , iNOS	Tumor progression, angiogenesis	1,8,12,18,19,63

Figure 35. Description des différents types de macrophages chez l'Humain et la souris [168]

D'autres cellules immunitaires innées sont présentes dans l'intestin comme des lymphocytes T invariants associés à la muqueuse (MAIT) et des lymphocytes NK invariants (iNK) qui, en cas d'activation par des bactéries, induisent une activité cytolytique ou la production d'IL-4 et IFN- γ respectivement [159]. Une part importante d'éosinophiles est retrouvée dans la muqueuse intestinale où ils peuvent représenter jusqu'à 30% des cellules myéloïdes [159]. Leurs potentiels rôles intestinaux incluent le maintien du nombre de plasmocytes sécrétant d'IgA, de cellules

dendritiques CD103⁺ et de lymphocytes T Treg FOXP3⁺ dans la lamina propria de l'intestin grêle par la production entre autres de TGF- β [36]. Des mastocytes sont également retrouvés dans l'intestin, en majorité dans la lamina propria et la sous-muqueuse [159]. Leurs rôles sont variés, allant de la régulation de l'intégrité, de la perméabilité de la BEI et du péristaltisme à la détection de micro-organismes par des TLR dont TLR2, TLR4, TLR5 et TLR6 [159,169].

3) *Système immunitaire adaptatif*

La réponse immune adaptative est à l'opposé de la réponse innée, par son haute spécificité et son immunité durable [160]. Cette réponse est portée par les lymphocytes T et B qui coopèrent entre eux, mais aussi avec le système immunitaire inné, pour assurer une réponse immune efficace (Figure 34) [160,161]. Suite à interaction entre un antigène ou produit microbien avec une APC, une cascade de signalisation pro- ou anti-inflammatoire active des populations de leucocytes résidents et circulants afin qu'ils rallient le lieu d'inflammation [40]. La migration s'appuie sur l'interaction entre les molécules d'adhésion des leucocytes, comme des intégrines ($\alpha_L\beta_2$, $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_4\beta_7$ et $\alpha_E\beta_7$), avec des molécules d'adhésion cellulaires exprimés à la surface des cellules endothéliales [40]. Des chimiokines produites par les cellules endothéliales soutiennent aussi cette migration en attirant les leucocytes [40]. La réponse immune engendrée dépendra du type d'activation des lymphocytes.

a) *Lymphocytes T*

Les lymphocytes sont générés dans la moelle osseuse et achèvent leur développement dans le thymus avant de rejoindre la circulation sanguine (Figure 36) [9]. Ils peuvent accéder à des ganglions lymphatiques où des APC vont les activer [9]. Les lymphocytes vont alors rejoindre le lieu d'inflammation via la circulation sanguine [9]. Au niveau de l'intestin, l'activation peut être directement effectuée dans la lamina propria ou les plaques de Peyer [9]. L'activation des lymphocytes va engendrer leur différenciation, ce qui va déterminer le type de réponse immunitaire locale induite [9]. Suite à la prise en charge des antigènes ou de l'inflammation, une partie des lymphocytes deviennent des lymphocytes mémoires centraux, effecteurs ou résidents au lieu de résolution (Figure 36) [9].

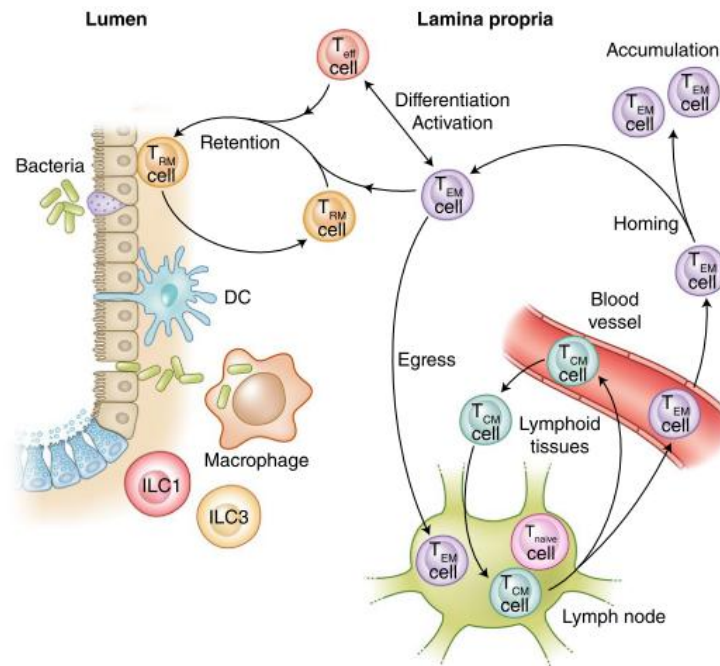


Figure 36. Circulation des lymphocytes T dans l'intestin avec les lymphocytes T : mémoires centraux T_{CM}, mémoires effecteurs T_{EM}, mémoires résidents des tissus T_{RM}, effecteurs T_{eff} et naïfs [9]

○ Lymphocytes Th

Les lymphocytes Th assurent une protection envers les organismes pathogènes de manière conjointe avec les lymphocytes T cytotoxiques et les lymphocytes B [170].

• Th1

Induits par l'IL-12 et l'IFN- γ , les lymphocytes Th1 se caractérisent par leur importante sécrétion d'IFN- γ , d'IL-2, de TNF- α , de lymphotoxine α et d'IL-6 (Figure 34) [161,171,172]. Ils sont à l'origine d'une immunité dite de type 1, caractérisée par une phagocytose importante [172,173]. Celle-ci est associée à la prise en charge de pathogènes intracellulaires et l'élimination de cellules cancéreuses [172–174]. Les cytokines produites sont importantes dans la réponse immunitaire engendrée. En effet, l'IFN- γ induit l'apoptose des entérocytes et la libération de TNF- α par les macrophages activés de la muqueuse [160]. Le TNF- α contribue aussi à la réponse immunitaire en induisant la différenciation des cellules stromales en myofibroblastes et leur production de MMP, qui digèrent la membrane basale des entérocytes [160]. Cette digestion participe à l'apoptose des CEI [160].

• Th2

Les lymphocytes Th2 sont induits par l'IL-4 et se démarquent par leur production d'IL-4, IL-5, et IL-13 [160,171]. L'IL-13 est par exemple connu pour son effet d'augmentation de la perméabilité intestinale et d'induction de la différenciation et apoptose des entérocytes [160]. Les lymphocytes Th2 stimulent une immunité de type 2 caractérisée par une production importante d'anticorps permettant la prise en charge de parasites extracellulaires [172,174]. La réponse immune induite impacte les autres réponses pro-inflammatoires, comme Th1 et Th17 qui sont diminuées [78]. Elle induit aussi une protection par augmentation de la production de mucus par les CEI et stimulation de la contraction musculaire lisse [78].

- *Th17*

Les lymphocytes se différencient en Th17 en présence d'IL-6, et TGF- β et leur multiplication est induite par l'IL-23 [160]. Ces lymphocytes sécrètent une quantité importante d'IL-17A, IL-17F, IL-21 et IL-22 [74,160]. Ces cytokines jouent un rôle important en contexte inflammatoire, avec l'IL-17A induisant le recrutement de neutrophiles au site d'inflammation et l'augmentation de la production de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1 β [160]. L'IL-21 stimule quant à lui la production de MMP par les cellules stromales et d'une protéine chimiotactique de lymphocytes T nommée MIP-3 α (pour « macrophage inflammatory protein 3 α ») par les CEI [160]. La réponse immunitaire induite par les lymphocytes Th17 est liée à une réponse des neutrophiles et peut être déclenchée suite à détection de cellules apoptotiques infectées [174]. Elle contribue de même à l'élimination de bactéries extracellulaires et d'espèces fongiques pathogènes [160]. De plus en plus d'intérêt est par ailleurs porté sur un sous-type de lymphocytes appelé Th1/Th17 (ou Th1-like Th17), qui exprime à la fois l'IFN- γ et l'IL-17A [160,170].

D'autres sous-types de lymphocytes, et donc réponses immunes, ont été identifiés et peuvent contribuer à la pathogenèse de maladies comme les MICI. Parmi ces nouveaux sous-types sont retrouvés Th9, TH22 et les lymphocytes T folliculaires helper [161,175].

- *Lymphocytes Treg*

Les lymphocytes Treg forment un sous-ensemble de lymphocytes dont la différenciation est soumise à l'influence de facteurs environnementaux et à des signaux du microbiote intestinal [79]. Une diversité de sous-populations est retrouvée chez les lymphocytes Treg : les lymphocytes Treg naturels différenciés dans le thymus se distinguent des lymphocytes dits induits, différenciés en périphérie [176]. Tout d'abord, les lymphocytes Treg CD4⁺ naturels participent à la tolérance aux auto-antigènes par différentes fonctions, dont la stimulation de cellules dendritiques tolérogènes et la production d'IL-10 [177]. Les lymphocytes Treg induits (iTreg), générés en présence de TGF- β et d'acide rétinoïque, contribuent à la tolérance des antigènes alimentaires et du microbiote intestinal [178]. Un sous-type de iTreg nommé Tr1 a une activité immunosuppressive basée sur la production d'IL-10 mais aussi sur l'inhibition de la production d'IL-1 β et de TNF par des cellules myéloïdes tout en supprimant la prolifération de lymphocytes effecteurs [179]. Un autre sous-type d'iTreg, que sont les lymphocytes Th3 CD4⁺ induits par TGF- β ou par un antigène, sécrète du TGF- β pour exercer un effet supresseur sur les lymphocytes Th1 et Th2 [176].

Ils contribuent à la maintenance de l'homéostasie intestinale en assurant la tolérance envers les antigènes alimentaires et du microbiote intestinal commensal [160]. Leur action réside dans la suppression de la prolifération, de l'activation et de l'activité des lymphocytes effecteurs [160]. Un contrôle de la réponse immunitaire innée est de même assuré par les lymphocytes Treg [40].

- b) *Lymphocytes B*

Les lymphocytes B sont générés dans la moelle osseuse tout comme les lymphocytes T à partir d'un progéniteur commun lymphoïde [180,181]. La maturation des lymphocytes B débute dans la moelle osseuse puis continue dans le système immunitaire périphérique [181]. Les lymphocytes B matures présentent des Ig à leur surface [180]. Ils sont présents dans la circulation sanguine et les lymphocytes B non activés résidents dans des ganglions lymphatiques et la rate [182]. Les lymphocytes B circulants peuvent être activés par des lymphocytes T qui vont induire leur entrée dans des follicules où ils vont proliférer et se différencier en plasmocytes sécréteurs

d'anticorps et en lymphocytes B mémoires [182]. L'activation des lymphocytes B peut également être indépendante des lymphocytes T. Les anticorps sécrétés sont spécifiques d'antigènes donnés et constituent un mécanisme de défense contre des micro-organismes [73,182]. Au sein de l'intestin, les lymphocytes B produisent des IgA pouvant migrer jusqu'au lumen via le récepteur d'Ig polymérique (plgR) où ils vont neutraliser les pathogènes par séquestration dans le mucus [27]. La présence du microbiote intestinal s'avère importante car la production d'IgA sécrétoires et l'augmentation de l'expression de plgR dans le côlon en dépendent [159].

○ *Lymphocytes Breg*

En plus de leur fonction de présentation d'antigènes et de sécrétion d'anticorps, les lymphocytes B jouent un rôle dans l'établissement de la tolérance et la régulation de la réponse immunitaire [183]. Les lymphocytes Breg constituent un groupe récent et hétérogène de lymphocytes B à propriétés régulatrices. Il reste encore à ce jour à clarifier l'induction de ces cellules, et à déterminer des marqueurs spécifiques des Breg pour approfondir leur étude [183]. Une caractéristique commune aux lymphocytes Breg est leur production de facteurs immunosuppresseurs tels que l'IL-10, TGF- β et l'IL-35 [183]. Ces facteurs contribuent à induire la différenciation des lymphocytes T en Treg [109].

○ *Lymphocytes ChAT⁺*

La présence de lymphocytes exprimant la choline acétyltransférase (ChAT) capables de synthétiser de l'acétylcholine, a été observée dans l'intestin [184,185]. Toutefois, leurs fonctions dans l'intestin restent à ce jour à préciser. La production de ChAT par les lymphocytes est induite par activation cellulaire comprenant la liaison aux PRR ou aux TCR [185]. Les lymphocytes ChAT⁺ sont par exemple stimulés suite à l'activation des récepteurs adrénergiques des cellules dendritiques [184]. Dans l'intestin, la majorité des lymphocytes ChAT⁺ possèdent des caractéristiques similaires aux lymphocytes Th17 comme la co-expression d'*IL17A*, d'*IL22* et *RORC* [185]. Des souris KO en lymphocytes ChAT⁺ présentent un nombre réduit de peptides antimicrobiens dans la muqueuse du jéjunum et une augmentation de la diversité microbienne intestinale [185]. En absence de ces lymphocytes, l'expression d'iNOS par les CEI est également diminuée [185]. Ainsi des données suggèrent le rôle des lymphocytes ChAT⁺ dans la réponse aux micro-organismes [185].

4) *Modification du système immunitaire en MICI*

Plusieurs gènes de susceptibilité aux MICI sont associés aux réponses immunitaires innée et adaptative comme le locus *IL10*, *ATG16L1* et *IRGM* [159]. *ATG16L1* et *IRGM* sont deux gènes impliqués dans l'autophagie [71]. De manière intéressante, les déficiences de gènes restreintes aux cellules CD11c⁺ montrent une régionalité des atteintes [159]. Un KO spécifique de la signalisation du récepteur à l'IL-10 chez les macrophages entraîne une colite, alors que des souris KO spécifiquement pour les cellules CD11c⁺ du facteur δ associé au récepteur du TNF développent une inflammation de type Th2 uniquement dans l'intestin grêle [159]. Le polymorphisme des gènes des récepteurs de type immunoglobuline tueuse (KIR) a été montré comme impliqué dans la susceptibilité à la MC, avec le génotype KIR2DL3/HLA-C1 associé à la MC et le KIR 2DL5/2DS1 associé à la RCH [159].

Un dysfonctionnement du système immunitaire est observé en MICI, que ce soit par une activation anormale de mécanismes effecteurs, par défaut de mécanismes anti-inflammatoires ou

par une insuffisance de la défense contre des pathogènes [160,175]. La résultante de ces dérégulations engendre une inflammation intestinale accrue et chronique [160]. La fréquence des populations immunitaires est en parallèle impactée (Figure 37).

Un des premiers signes d'inflammation est l'infiltration de neutrophiles dans la muqueuse intestinale, qui persiste en présence de l'inflammation au cours de la MICI [71]. Les neutrophiles contribuent aux MICI par des dommages tissulaires, la dérégulation de la BEI et à la persistance de l'inflammation [71]. Le système immunitaire inné est ainsi impacté, avec également la présence d'une perturbation de la balance des cellules NK $\text{NKp44}^+\text{NKp46}^-$ et $\text{NKp44}^-\text{NKp46}^+$ de la muqueuse intestinale dans la MC qui est associée à une production d'IFN- γ [70]. Les cellules NK peuvent être ciblées dans la MC par un traitement utilisé en RCH qui est le 6-mercaptopurine et par lequel en RCH une apoptose des cellules NK est observée [159]. Cette déplétion peut potentiellement limiter l'inflammation [159]. D'autres cellules de l'immunité innée sont modifiées dans les MICI. Les cellules dendritiques s'accumulent dans la lamina propria intestinale des patients MICI, ce qui impacte le trafic de cellules immunitaires au niveau des follicules lymphatiques et donc l'activation de la réponse immunitaire [6]. Une augmentation de l'expression des TLR2 et TLR4 des cellules dendritiques est observée dans les MICI, accompagnée d'une production plus élevée d'IL-12 et d'IL-6 [71]. Dans un modèle murin de colite induite par infection pathogène, les ILC sont par ailleurs associées à la production d'IL-23 et d'IL-17 [70]. Toujours chez la souris dans le cadre d'une colite induite au DSS, les macrophages M1 sont associée à la pathogenèse de la colite alors que les macrophages M2 contribuent à sa résolution [1].

Les cellules de l'immunité adaptative sont également altérées dans les MICI. Un sous-type de lymphocytes T CD4^+ exprimant NKG2D produit dans la MC de l'IL-17 et de l'IL-22 [70]. À noter que des anticorps dirigés contre NKG2D montrent des résultats prometteurs avec l'induction d'une rémission clinique chez certains patients atteints de la MC [159]. Par ailleurs, une augmentation du nombre de lymphocytes T produisant de l'IL-9 est observée pour les patients atteints de RCH mais aussi chez des souris atteintes de colite induite par oxazolone, suggérant l'implication de lymphocytes Th9 dans le développement de cette colite et de la RCH [71]. L'exacerbation des réponses immunitaires s'avère globale car elle entraîne aussi une augmentation des lymphocytes Treg dans la muqueuse intestinale des patients MICI [160]. Le nombre de cellules immunitaires mémoires résidentes de l'intestin augmente en parallèle, ce qui pourrait contribuer à l'augmentation de la production de cytokines pro-inflammatoires et participer aux épisodes de poussées inflammatoires rencontrés par les patients MICI [9]. La concentration de cytokines et de médiateurs pro-inflammatoires comme l'IFN- γ , le TNF- α et la PGE_2 est en effet augmentée dans l'intestin des patients MICI [9,186,187]. La concentration intestinale d'IL-21 est plus élevée chez les patients atteints d'une MC et dans des modèles murins DSS et TNBS de colite [71]. L'augmentation d'IL-21 favorise une signalisation Th1 et la production d'IFN- γ [71]. De même, l'expression d'IL-22 est augmentée dans les tissus inflammés dans la MC, mais est diminuée dans la RCH [71]. Par ailleurs, la concentration d'anticorps est impactée dans les MICI. Un auto-antigène de l'épithélium colique a été décrit dans la RCH et est reconnu par les anticorps IgG liés au tissu [71]. Cet auto-antigène est aussi retrouvé dans des zones du corps comme la peau, les yeux, les articulations qui sont des zones typiques des symptômes extra-digestifs rencontrés dans la RCH [71]. Ces résultats suggèrent l'existence d'une réponse immunitaire engendrée par des anticorps qui pourrait être à l'origine de symptômes à la fois digestifs mais aussi extra-digestifs [71]. De manière intéressante, la production d'anticorps souligne l'interaction du système immunitaire avec les micro-organismes. Ainsi, la présence

d'anticorps dirigés contre *S. cerevisiae*, la flagelline et la protéine C de membrane externe d'*E. coli* est associée à la MC [71].

L'altération de la fréquence des populations immunitaires observée dans les MICI pourrait être en partie expliquée par une défaillance de l'apoptose de ces populations [71]. En effet, les lymphocytes T de la muqueuse sont dans la MC résistantes à l'apoptose [71]. De plus, ces lymphocytes T de la muqueuse se propagent plus vite dans la MC qu'en condition contrôle [71]. La prolifération des lymphocytes T peut être en partie due par une perte d'un mécanisme de régulation basé sur l'action du gène suppresseur de tumeur nommé TP53 [71]. En complément, l'expression du gène de l'inhibiteur d'apoptose survivine est augmentée en MC pour les lymphocytes T [71].

Non seulement les populations immunitaires mais aussi le système lymphatique et le système sanguin sont impactés dans les MICI. Ceci est visible à travers l'augmentation du facteur de croissance endothéliale vasculaire (VEGF-A) dans le plasma et la muqueuse des patients MICI [71]. En ce sens, le peptide anti-angiogénique ATN-161 diminue la sévérité d'une colite chez des souris KO pour l'IL-10 [71]. À l'inverse pour le système lymphatique, l'administration du facteur pro-lymphangiogénique VEGF-C protège les souris du développement d'une colite aiguë ou chronique, par recrutement de cellules immunitaires et par migration des bactéries des tissus inflammés aux ganglions drainants [71].

La MC a longtemps été considérée comme une maladie majoritairement Th1 tandis que la RCH était associée à un profil Th2 [160]. L'inflammation transmurale observée dans la MC serait due à une réponse immunitaire Th1 et Th17 excessives, induite par la production d'IL-12, IL-18, IL-23 et TGF- β par les APC et macrophages [40,160]. Cette inflammation serait alors auto-entretenu par les réponses Th1 et Th17 qui amènent à la production d'IL-17, IFN- γ et TNF- α stimulant les APC, macrophages mais aussi les cellules endothéliales [40]. Des études montrent par ailleurs une augmentation de la différenciation Th17 chez les patients MICI, avec une expression élevée d'IL-17A et d'IL-21 dans la muqueuse intestinale des patients MC et RCH [40,160]. La RCH est quant à elle associée à une réponse immune de type Th2 régulée par IL-5, IL-13 et TGF- β qui sont présents en concentration élevée [2]. Cette réponse immune stimule l'activation des lymphocytes B et des lymphocytes T Natural Killer (NKT) qui produisent de l'IL-13 [6]. L'IL-13 s'avère important dans la RCH, car sa diminution par un traitement avec l'IFN- β 1a est associée à une amélioration des symptômes cliniques de patients atteints d'une RCH [159]. Aujourd'hui, de plus en plus d'études nuancent ces affirmations et montrent un profil dynamique de la réponse immunitaire [161]. En effet, de récents travaux ont démontré le rôle pathologique de l'IL-22 et l'IL-9 favorisant l'inflammation dans des modèles de colite murine, mais dans le cas de l'IL-9, ces résultats sont controversés car l'IL-9 a également des effets protecteurs en inhibant la sécrétion d'IFN- γ et d'IL-17A [175,188]. En particulier, les cellules Th1-like Th17 témoignent de la plasticité des lymphocytes T par leur capacité de transdifférenciation en condition inflammatoire, ce qui contribue à la pathogenèse des MICI [170].

L'importance du système immunitaire dans les MICI est telle qu'il fut pendant longtemps la cible privilégiée de la mise au point des stratégies thérapeutiques. L'usage d'anticorps anti-TNF- α constitue encore aujourd'hui la référence comme traitement pour la prise en charge des MICI, et ce malgré des effets secondaires notables comme le risque de tuberculose [159]. Concernant leurs effets, le traitement anti-TNF augmente le nombre de lymphocytes T Treg FOXP3⁺ dans la

muqueuse de patients pédiatriques atteints d'une MC et inverse l'apoptose des lymphocytes Treg FOXP3⁺ dans la muqueuse de patients adultes avec une MICI active [71].

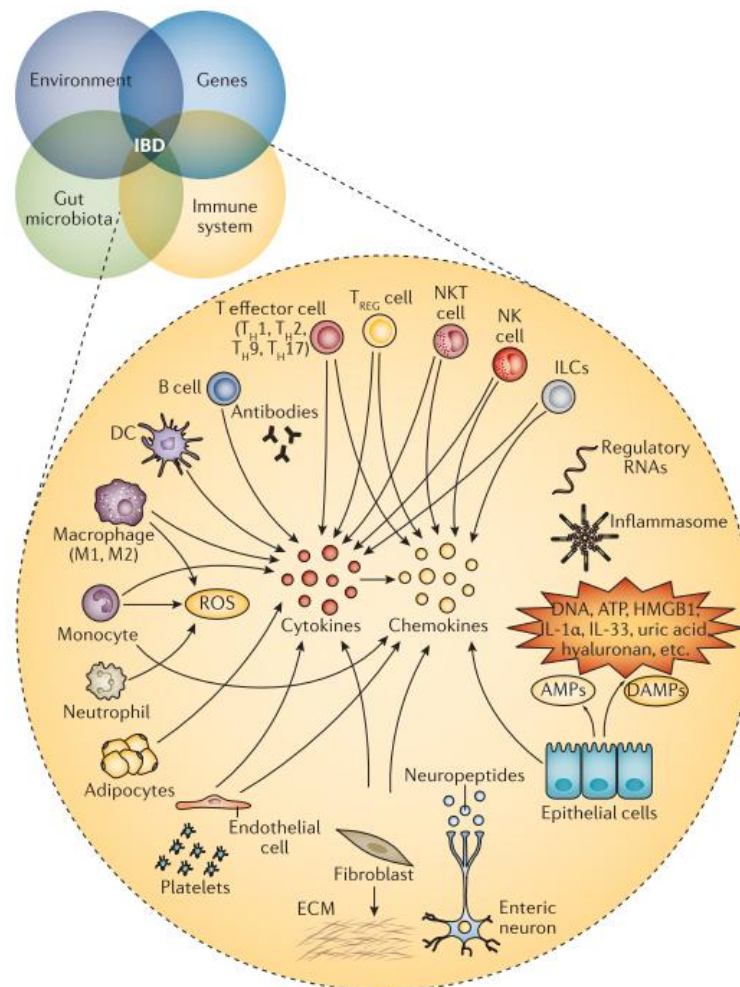


Figure 37. L'immunopathogénèse des MICI et les acteurs associés immuns et non-immuns [71]

Le système immunitaire intestinal

- Appelé GALT, le système immunitaire intestinal se caractérise par sa diversité d'acteurs cellulaires de l'immunité innée et adaptative répartis tout le long de l'intestin, et dans les différentes couches tissulaires.
- De manière intéressante, le microbiote intestinal, les CEI et les cellules endothéliales sont également acteurs de la réponse immunitaire et ce, de manière directe ou indirecte.
- Une réponse immunitaire à dominante Th1/Th17 est classiquement associée à la MC, et à dominante Th2 pour la RCH. Ces assignations sont toutefois sujettes à débat de par la capacité de transdifférenciation des lymphocytes qui témoigne de leur plasticité. Aujourd'hui de nouveaux profils immunitaires dans les MICI comme les Th9 et Th22 sont à l'étude.

E. Système nerveux entérique

1) Innervation extrinsèque : axe intestin-cerveau

Les fonctions principales du tractus GI comme la motilité, la sécrétion, la vasorégulation sont sous contrôle du système nerveux autonome qui comprend le contrôle extrinsèque de l'intestin par des composantes sympathiques et parasympathiques (Figure 38) [189]. Ces deux systèmes comportent des fibres nerveuses efférentes projetant vers le tractus GI et des fibres afférentes projetant vers le système nerveux central via le tronc cérébral et la moelle épinière. Dans ce cadre, le SNE assure l'innervation intrinsèque de l'intestin [30].

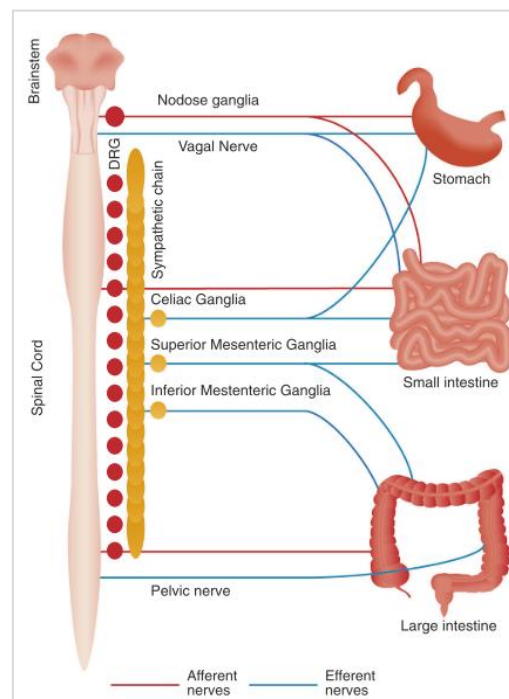


Figure 38. Innervation extrinsèque du tractus GI [30]

Les neurones sympathiques sont répartis dans l'ensemble des couches de l'intestin et le long du tractus GI [189]. L'innervation sympathique du côlon distal et du rectum passe notamment par les nerfs pelviens (Figure 38) [30]. La signalisation sympathique est assurée par des catécholamines comme la dopamine, l'épinéphrine (ou adrénaline) et la norépinéphrine (NE, ou noradrénaline) qui agissent sur des récepteurs α ou β adrénergiques [30]. Le principal neurotransmetteur sympathique est la norépinéphrine qui se lie à des récepteurs adrénergiques qui sont des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR) [189]. La composante parasympathique est cholinergique, avec ACh comme principal neurotransmetteur qui se lie à des récepteurs muscariniques et nicotiniques [189]. La majorité de l'innervation parasympathique s'effectue à travers le nerf vague, avec un gradient de densité rostro-caudale (donc moins élevée dans le côlon que l'estomac) (Figure 38) [30].

Outre les neurones cités, des neurones sensoriels sont présents dans l'intestine et sécrètent des neuropeptides comme le peptide relié au gène de la calcitonine (CGRP) et la substance P (SP) [30]. Ces neurones sensoriels détectent au niveau de l'intestin les composés du lumen, des stimuli

immunitaires ou mécaniques et assurent une transduction des signaux jusqu'au système nerveux central [30]. Ainsi, une communication bidirectionnelle est assurée entre l'intestin et le système nerveux central. Le cerveau n'est pas le seul organe à contrôler les fonctions intestinales. Le SNE contribue de manière importante au bon fonctionnement de l'intestin et est lui-même en interaction avec le système nerveux central (Figure 39).

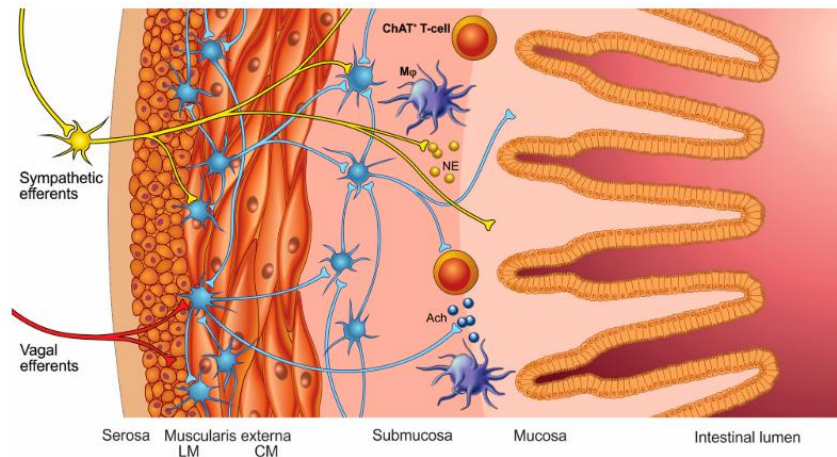


Figure 39. Innervation de l'intestin grêle par le SNE et le système nerveux central [189]

2) Composition du SNE

Le SNE est un système nerveux autonome et intégratif, capable d'assurer la supervision de la digestion sans impliquer le système nerveux central, par régulation des fonctions de la muqueuse et le contrôle des muscles lisses [26]. Le SNE se compose de plus de 100 millions de neurones et de 400 millions de cellules gliales organisées en ganglions entériques, reliés par des fibres interganglionnaires formant un réseau dense présent dans la paroi intestinale du tiers inférieur de l'œsophage à l'anus [189]. Ce réseau est organisé en deux plexus : le plexus myentérique situé entre les couches musculaires circulaires et longitudinales, et le plexus sous-muqueux dans la sous-muqueuse (Figure 40) [30].

a) Plexus myentérique et sous-muqueux

Le plexus myentérique, aussi appelé le plexus d'Auerbach, est visible dans une grande partie du tractus GI, de l'œsophage jusqu'au sphincter interne [189]. Ce plexus contrôle la motilité des couches de muscles lisses afin d'assurer le mouvement du bolus alimentaire, par péristaltisme le long du tractus GI [53,189]. Des cellules interstitielles de Cajal sont présentes au sein de ce plexus et assurent une fonction pacemaker par des décharges rythmiques qui contribuent à la régulation de l'activité musculaire [190]. Le plexus sous-muqueux, dit de Meissner, est retrouvé dans l'intestin et en faible proportion dans l'estomac [189]. Il permet de contrôler l'absorption et la sécrétion d'eau et de chlore [53]. Les deux plexus sont en interaction à travers la présence d'interneurones, de neurones moteurs et de cellules gliales [30]. Cette interaction permet de maintenir une bonne coordination des deux plexus, ce qui est déterminant pour assurer le bon fonctionnement de la digestion [53].

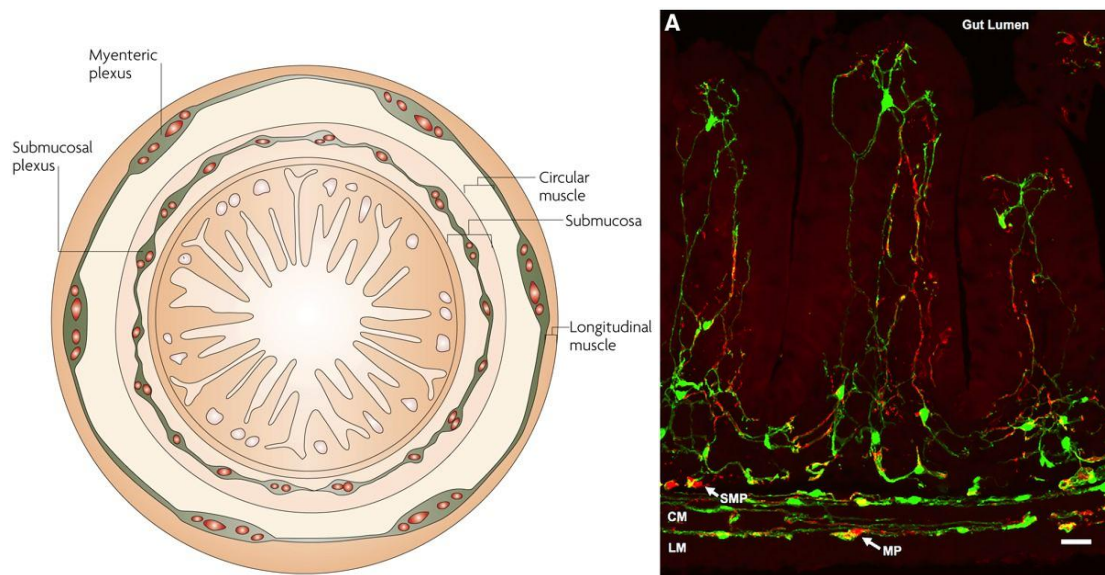


Figure 40. Schéma des plexus du système nerveux entérique dans l'intestin grêle (gauche) et immunomarquage d'un intestin grêle de souris avec le réseau glial en vert et neuronal en rouge (droite) [33,191]

b) Cellules gliales entériques

Les cellules gliales entériques désignent une population hétérogène de cellules, diverse par leur morphologie qui dépend de leur localisation tissulaire : dans la muqueuse, dans un ganglion ou intramusculaire. Les cellules gliales se démarquent aussi par leur taux d'expression de 3 marqueurs que sont la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP), S100 β et SOX10 qui est exprimé par les cellules gliales matures [146]. Plusieurs fonctions de la BEI sont influencées par les cellules gliales, notamment la perméabilité, la réparation et la différenciation des CEI décrites ultérieurement.

c) Neurones entériques

Le SNE comporte une variété de neurones permettant l'intégration des informations au sein du tractus GI : les neurones afférents primaires (IPAN) sont connectés aux interneurons qui contrôlent à la fois l'activité des neurones moteurs régissant la partie musculaire GI, et les neurones sécrétomoteurs en contact avec les cellules sécrétrices [26]. Par ailleurs, les neurones entériques coliques peuvent détecter la présence du microbiote intestinal tout comme d'autres composés du lumen par expression du facteur de transcription AHR [30]. La voie de signalisation AHR est de plus essentielle à la régulation de la motilité [30].

3) Fonctions du SNE

Le SNE coordonne plusieurs fonctions physiologiques intestinales qui comprennent la motilité, la sécrétion, l'absorption et le débit sanguin [143,146]. Plus de 30 neurotransmetteurs peuvent être détectés par le SNE et contribuent ainsi à ses fonctions [27].

- *Régulation de la digestion*

L'action conjointe et coordonnée des plexus entériques assurent le bon déroulement de la digestion, ce qui comprend non seulement le mouvement du bolus alimentaire mais aussi la sécrétion d'enzymes digestives et l'absorption de nutriments, d'ions et d'eau [26,53].

- *Régulation de la BEI*

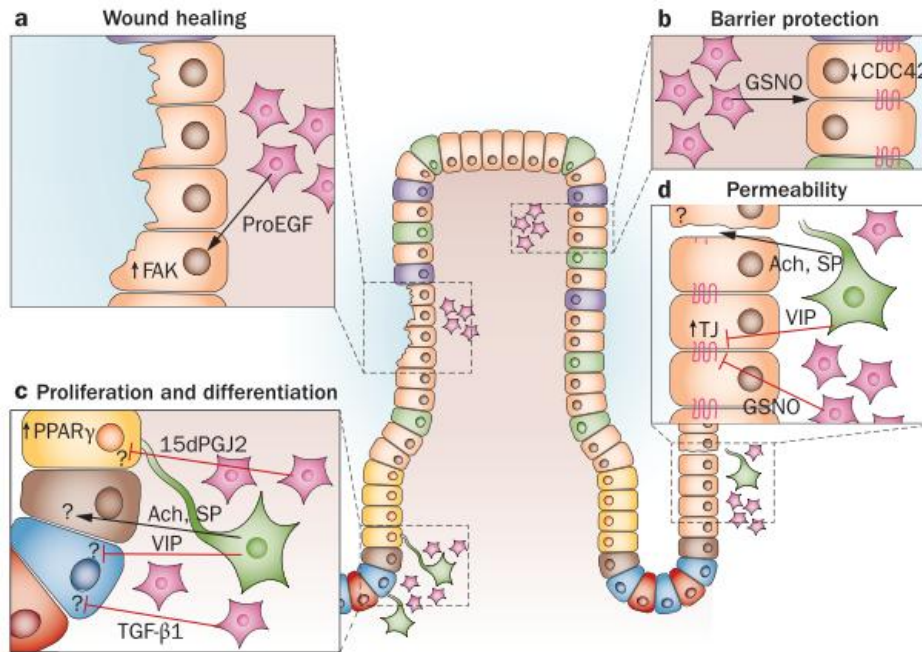


Figure 41. Régulation des fonctions de la BEI par les cellules gliales (violet) et les neurones (vert). Différentes CEI sont impactées : les entérocytes (beige), les cellules souches (bleu), cellules de Paneth (rouge), cellules caliciformes (vert), cellules entéroendocrines (violet) [146]

Les neurones entériques sécrètent un panel de protéines effectrices comme l'acétylcholine, le VIP et l'oxyde nitrique (NO) qui régulent les fonctions de la BEI par modulation de la sécrétion de mucus, du débit sanguin de la muqueuse ou du recrutement de lymphocytes par exemple (Figure 41) [192]. L'IL-18 produite par les neurones entériques coliques peut contribuer au développement d'une réponse immunitaire innée contre une infection, dont celle à *Salmonella*, et à la production de peptides antimicrobiens par les cellules caliciformes [30,193]. De même, les cellules caliciformes assemblent des passages d'antigènes associés aux cellules caliciformes (GAP) permettant d'échantillonner les antigènes du lumen [30]. La formation de GAP peut être modulée par des neurotransmetteurs comme l'ACh et ses analogues [30]. De ce fait et comme évoqué dans la partie sur le microbiote, le SNE contribue à une régulation du microbiote intestinal et à la prise en charge des pathogènes.

La perméabilité intestinale est influencée par les neurones et les cellules gliales entériques. Les neurotransmetteurs sécrétés par les neurones comme l'ACh et la substance P peuvent augmenter la perméabilité paracellulaire, tandis que VIP est associé à une diminution de cette perméabilité [146]. L'acétylcholine augmente de plus la perméabilité transcellulaire [146]. VIP augmente quant à lui l'expression de la protéine de TJ ZO-1, et peut contribuer à abroger l'augmentation de perméabilité paracellulaire induite par infection par *C. rodentium* [146]. Les cellules gliales participent de même au contrôle de la perméabilité à travers la sécrétion de NO, S-nitrosoglutathion et du facteur neurotrophique dérivé des cellules gliales (GDNF) [146]. GDNF contribue au maintien des fonctions de la BEI en inhibant la mort cellulaire des CEI induite par TNF [146]. La résistance de la BEI est par ailleurs augmentée par action des cellules gliales entériques [194]. Concernant la prolifération des CEI, des effets antiprolifératifs ont été observés pour VIP et pour les cellules gliales [146]. La prolifération des CEI est inhibée par les cellules gliales entériques par voie TGF-β1 ou par des médiateurs lipidiques comme la 15-désoxy-D-prostaglandine J2 [194]. La SP et l'ACh stimulent au contraire la prolifération des CEI [146]. Les

cellules gliales stimulent d'autre part la différenciation des CEI [146]. Les effets des cellules gliales sur la différenciation et la prolifération passent par l'activation des voies PPAR- γ [146]. Concernant la réparation de la BEI, les neurones entériques peuvent produire des endocannabinoïdes stimulant ce processus [146]. De même, les cellules gliales contribuent à cette réparation par augmentation de l'expression et de l'activité de la kinase d'adhésion focale FAK dans les CEI [146].

- *Interaction avec le système immunitaire*

Le SNE et le système immunitaire entretiennent un dialogue bidirectionnel par la présence pour l'un, de récepteurs aux médiateurs de l'inflammation, et pour l'autre de récepteurs aux neurotransmetteurs à la surface des cellules du système considéré qui seront détaillés ici [30]. La proximité spatiale des acteurs des deux systèmes permet leur étroite collaboration sous forme d'unités, qui peuvent être modulées par les composants du lumen [30].

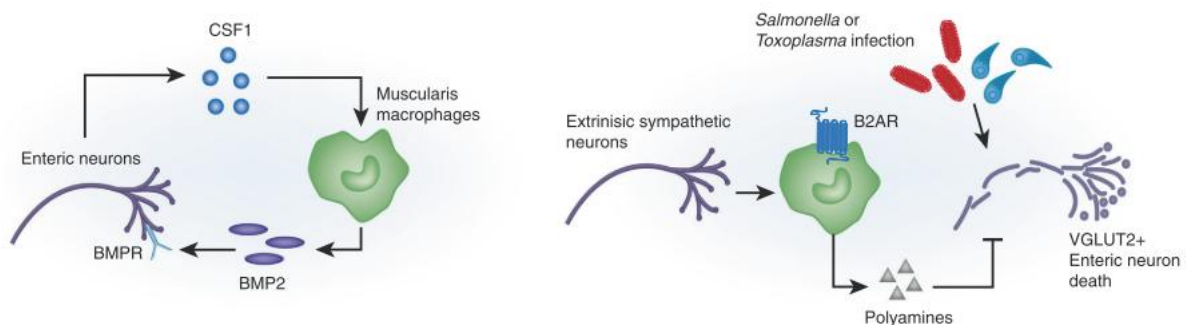


Figure 42. Interaction entre les neurones et les macrophages dans l'intestin [30]

Les macrophages musculaires situés dans la couche du même nom possèdent un phénotype protecteur du tissu par rapport aux macrophages lamina propria plus proches du lumen, qui sont dotés d'effets pro-inflammatoires [30]. Les macrophages musculaires régulent la motilité intestinale par production de la protéine morphogénétique osseuse 2 (BMP2) qui est un facteur de croissance se liant à son récepteur BMPR sur les neurones entériques pour induire la contraction musculaire (Figure 42) [30]. En cas d'infection, les macrophages musculaires peuvent limiter la mort cellulaire induite des neurones entériques. Cet effet protecteur repose sur la production de polyamines des macrophages musculaires suite à l'activation d'une voie de signalisation par les neurones sympathiques innervants le plexus myentérique (Figure 42) [30].

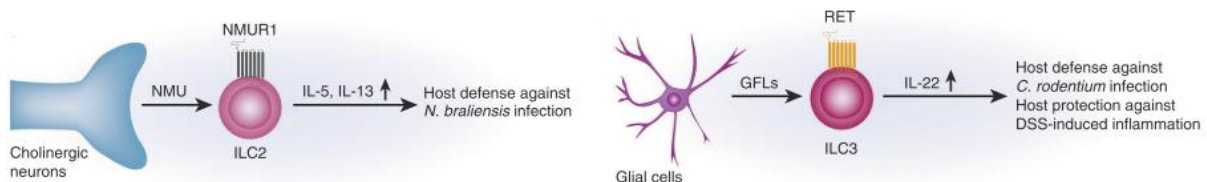


Figure 43. Interaction du SNE avec les ILC intestinaux [30]

D'autres cellules immunitaires entrent en interaction avec le SNE. Les ILC2 et ILC3 jouent un rôle dans l'homéostasie intestinale et la lutte contre les infections pathogènes par action combinée avec le SNE (Figure 43). Lors d'une infection par helminthe, les neurones entériques cholinergiques expriment le neuropeptide protecteur neuromédine U (NMU) qui active les ILC2 via liaison à leur récepteur 1 de la NMU (Nmur1). L'activation des ILC2 entraîne leur prolifération et leur sécrétion

de cytokines de type 2 [30]. La CGRP est un autre neuropeptide modulateur de l'activité des ILC2 inhibant l'expansion des ILC2 et leur production d'IL-13 [30]. Elle est produite à la fois par les neurones entériques et les neurones extrinsèques sensoriels [30]. Les ILC3 expriment fortement des récepteurs au GDNF nommés RET (pour « Rearranged during transfection ») qui indique un contrôle par les cellules gliales [30]. La voie de signalisation par RET induit la production d'IL-22 par les ILC3. De plus, un déficit en RET rend les animaux plus susceptibles au développement d'une colite induite au DSS ou par *C. rodentium* [30].



Figure 44. Interaction entre le SNE et les lymphocytes T (à gauche) et B (à droite) [30]

Les lymphocytes T interagissent avec des neurotransmetteurs sous infection du type *C. rodentium* (Figure 44). Dans le cadre de cette infection, des lymphocytes T ChAT⁺ sont recrutés dans le côlon et peuvent produire de l'ACh [30,195]. L'acétylcholine module de même les lymphocytes T, seule ou par liaison aux récepteurs d'ACh muscariniques M3 (M3R), en induisant leur production d'IL-13 et d'IFN-γ en réponse à une infection par *Salmonella Typhimurium* [30]. Des données *in vitro* démontrent par ailleurs un effet de neurotransmetteurs sur les lymphocytes B (Figure 44). VIP induit *in vitro* la production d'IgA par des lymphocytes B humains, et la SP favorise la prolifération de lymphocytes B producteurs d'immunoglobulines [30].

4) Dérégulation du SNE dans les MICI

Plusieurs éléments indiquent une implication du SNE dans les MICI. En plus de gènes de susceptibilité à une MICI liés au SNE, une hypertrophie des fibres nerveuses de la muqueuse, sous-muqueuse et du plexus myentérique intestinaux a été observée dans l'intestin inflammé de patients MICI [196]. De même, des défauts structurels sous-muqueux pouvant induire une hyperexcitabilité neuronale et des lésions neuromateuses (tumeur du tissu nerveux) sont observés chez ces patients [196].

La concentration de plusieurs neuromédiateurs est altérée dans les MICI. La SP est entre autres augmentée dans les MICI, avec des données montrant une augmentation du nombre de neurones SP⁺ dans le plexus myentérique de patients atteints d'une RCH [196]. L'expression de GDNF et S100β est augmentée chez les patients MICI [146]. L'augmentation de S100β est associée à une augmentation de NO qui est connu pour endommager la BEI à haute concentration [146,197]. Plus précisément, l'expression d'iNOS de la muqueuse intestinale de patients atteints d'une RCH active ou non est augmentée, tandis que celle de la NOS neurale est diminuée [196]. En contexte de colite induite au DSS, le GDNF permet de rétablir les fonctions de la BEI [146]. Son expression est augmentée dans les zones inflammées de patients MICI [146]. VIP joue aussi un rôle potentiel dans les MICI, car la délétion génétique de sa voie de signalisation altère la production d'IL-22 par les ILC3 et augmente la susceptibilité à la colite [196]. L'IL-18 produite par les neurones entériques est augmentée chez les patients MICI. Son importance est soulignée du fait qu'un traitement à base d'anti-IL-18 s'avère efficace pour améliorer les symptômes GI [196]. La

production gliale de 15-HETE est par ailleurs diminuée chez les patients MC [146,194]. Ce médiateur lipidique joue un rôle important dans le contrôle de la perméabilité de la BEI, en augmentant entre autre l'expression de ZO-1 [194].

Le phénotype et l'activité des cellules gliales sont par conséquent altérés chez les patients MICI et contribuent à l'inflammation intestinale [146,197]. La distribution des cellules gliales entériques dans les parties saines du côlon des patients MICI est réduite, associée à une augmentation de l'expression de GFAP chez les patients RCH ou une diminution de celle-ci chez les patients MC [146,194]. Par ailleurs, la colite chez l'Humain et l'animal est associée à une perte de neurones et à une diminution de la sécrétion de neurotransmetteurs [189].

De manière intéressante, des cellules immunes comme les lymphocytes ChAT⁺ et dont la production d'acétylcholine peuvent impacter le SNE. Leur nombre est augmenté suite à une infection à *C. rodentium* chez la souris [185]. Dans un modèle aigu de colite induite au DSS, un KO de ces lymphocytes atténue l'inflammation alors que l'effet inverse est montré pour ce même KO dans un modèle de résolution de la colite au DSS [195]. Ces résultats suggèrent à la fois que les lymphocytes ChAT⁺ exacerbent la réponse immunitaire innée et qu'ils contribuent également à la résolution de l'inflammation [195].

Le système nerveux entérique

- Le SNE est composé de cellules gliales et de neurones, regroupés en ganglions spatialement répartis tout le long de l'intestin dans les plexus myentérique et sous-muqueux.
- Le SNE fait partie du système nerveux autonome et assure principalement des fonctions régulatrices portant sur la digestion (dont la motilité et l'absorption), la BEI et le système immunitaire.
- Une part croissante d'études caractérise les dysfonctions du SNE dans les MICI. L'altération de la production gliale de médiateurs lipidiques comme le 15-HETE ou de ses marqueurs comme le S100 β contribue à cette inflammation.

Les MICI sont des maladies complexes dont le développement altère plusieurs systèmes biologiques de l'hôte et son microbiote, dans leur composition et leurs fonctions. Ces différentes composantes sont interconnectées et s'influencent mutuellement, entraînant une dynamique à l'origine de nouveaux symptômes. Ainsi, les MICI évoluent au cours du temps et modulation sur le long terme les mécanismes biologiques (Figure 45).

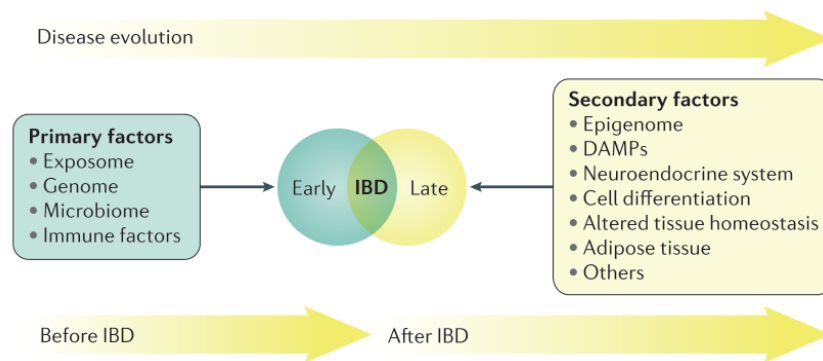


Figure 45. Impact des différents systèmes biologiques sur les MICI et son évolution temporelle [81]

3. Étiologie des MICI

L'étiologie exacte des MICI n'est actuellement pas connue [107]. Il est toutefois aujourd'hui accepté d'inclure dans la pathogenèse des MICI l'exposome, le génome, l'épigénome, le système immunitaire et le microbiome (Figure 46) [81]. Les facteurs environnementaux et génétiques pourraient influencer la pathogenèse des MICI par modulation du microbiome [40]. L'induction d'une inflammation par le microbiome requiert cependant une dégradation de l'intégrité de la BEI, et l'activation immunitaire associée dépend de la balance en cellules immunes effectrices et régulatrices présentes dans la muqueuse intestinale [40].

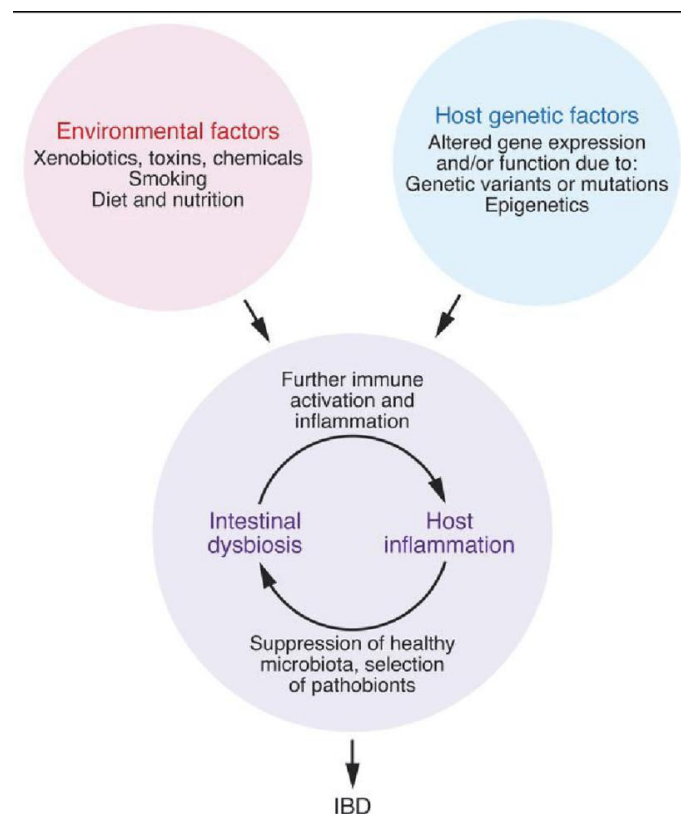


Figure 46. Étiologie des MICI [198]

A. Facteurs génétiques et épigénétiques

1) Facteurs génétiques

Des études ont montré une concordance des MICI chez des jumeaux, avec jusqu'à 58% de concordance pour des jumeaux monozygotiques MC [6]. De plus, des personnes apparentées au premier degré à un patient MICI présentent 5 fois plus de risque de développer une MICI. Les personnes apparentées proches qui sont asymptomatiques présentent de plus une BEI endommagée [34]. Ces résultats montrent l'importance d'une composante génétique dans les MICI. À ce jour, 201 mutations génétiques sont recensées comme étant associées au développement d'une MICI (Figure 47) [6]. Parmi ces mutations, 41 sont spécifiques de la MC et 30 de la RCH [6]. De manière intéressante, 80-90% des loci déterminés sont non codants et pourraient donc désigner des marqueurs épigénétiques, de l'ARN non codant ou des microARN [6].

Table 1 Inflammatory bowel disease-associated genes	
UC-associated Genes	TNFRSF14, RFTN2, PLCL1, PRKCD, ITIH4, NFKB1, MANBA, SLC9A3, CARD11, GNA12, DLD, IRF5, JRKL, MAML2, FAM55A, FAM55D, ITGAL, ZFP90, CALM3, ADA, HNF4A
CD-associated Genes	PTPN22, ADAM30, UCN, FASLG, TNFSF18, SP140, ATG16L1, IL6ST, IL31RA, CPEB4, TAGAP, CEB5, JAZF1, RIPK2, LACC1, RASGRP1, SPRED1, NOD2, LGALS9, NOS2, GPX4, FUT2, HMHA1, IFNGR2, IFNAR1
IBD-associated Genes	TNFRSF18, TNFRSF4, TNFRSF9, IL23R, RORC, CD48, FCGR2A/B, FCGR3A, C1orf53, KIF21B, IL10, ADCY3, FOSL2, BRE, REL, SPRED2, IL18RAP, IL1R1, IFIH1, IL18RAP, IL1R1, GPR35, MST1, PFKB4, IL2, IL21, DAP, PTGER4, ERAP2, ERAP1, IBD5 locus, SPRY4, NDFIP1, IRGM, IL12B, DOK3, TRAF3IP2, TNFAIP3, PHACTR2, CCR6, RPS6KA2, ZPBP, IKZF1, SMURF1, EPO, TRIB1, JAK2, NFIL3, TNFSF15, CARD9, IL2RA, IL15RA, MAP3K8, CREM, CISD1, IPMK, TSPAN14, C10orf58, NKX2-3, TNNI2, LSP1, CNTF, LPXN, CD6, RELA, CCDC88B, CXCR5, MUC19, LOH12CR1, VDR, IFNG, SMAD3, GPR183, GPR18, ZFP36L1, FOS, MLH3, GPR65, GALT, CRT3, SOCS1, LITAF, PRKCB, IL27, IRF8, CCL13, CCL2, ORMDL3, STAT3, TUBD1, RPS6KB1, SMAD7, CD226, TYK2, CEBPG, HCK, CD40, DNMT3B, CEBPB, ZNF831, CTSZ, ICOSLG, TNFRSF6B, LIF, OSM

Figure 47. Liste des gènes associés aux MICI [6]

Plusieurs gènes identifiés comme associés aux MICI sont liés à la régulation de la BEI. Certaines mutations des protéines de TJ comme MYO9B, PARD3 et MAGI2 en font partie, tout comme les mutations de MUC19 ou NOD2 [34,94,110]. NOD2 est un PRR intracellulaire exprimée essentiellement par les cellules caliciformes de l'iléon, et contribue en condition physiologique à l'élimination de pathogènes intracellulaires [6,159]. En ce sens, le nombre de bactéries adhérentes de la muqueuse porteuses d'une mutation NOD2 est vu augmenté chez les patients MICI [94]. Un défaut de NOD2 chez la souris entraîne de plus une agrégation de cellules caliciformes et de lymphocytes, associée à l'expression de facteurs pro-inflammatoires [94].

Le nombre de gènes liés au microbiome s'avère important [94]. Non seulement NOD2 mais également IL23R et ATG16L1 contribuent à la prise en charge de micro-organismes par l'initiation d'une réponse inflammatoire ou par autophagie [17]. Une mutation d'ATG16L1 induit une augmentation de l'abondance d'*E. coli*, et la déficience en ATG16L1 chez des souris KO diminue le nombre de lymphocytes Treg et Th2 [94]. L'immunité antifongique est quant à elle assurée par des acteurs comme la protéine CARD9 qui a été identifiée comme mutée dans les MICI [38,94]. Une étude a associé 11 mutations génétiques fonctionnelles liées à la prise en charge des bactéries

comme celles évoquées ci-dessus pour établir un score génétique de risque d'une MICI qui a été corrélé chez des individus sains à une diminution de *Roseburia* dans leur microbiote intestinal, une souche bactérienne convertissant l'acétate en butyrate et dont la diminution est observée chez des patients MICI [199]. Les gènes cités participent à la réponse immunitaire, qui est d'autant plus impactée dans les MICI par la mutation d'autres gènes, comme CCL8 et IL8R qui sont liés au recrutement de cellules innées, ou FOXP3 et IL-10 qui sont associés à la tolérance immunitaire [79,110]. Ananthakrishnan *et al.* suggèrent par ailleurs en 2018 un concept intéressant de réseaux d'interaction de composés biologiques qui, selon leur connexion, vont chacun induire une maladie différente (Figure 48).

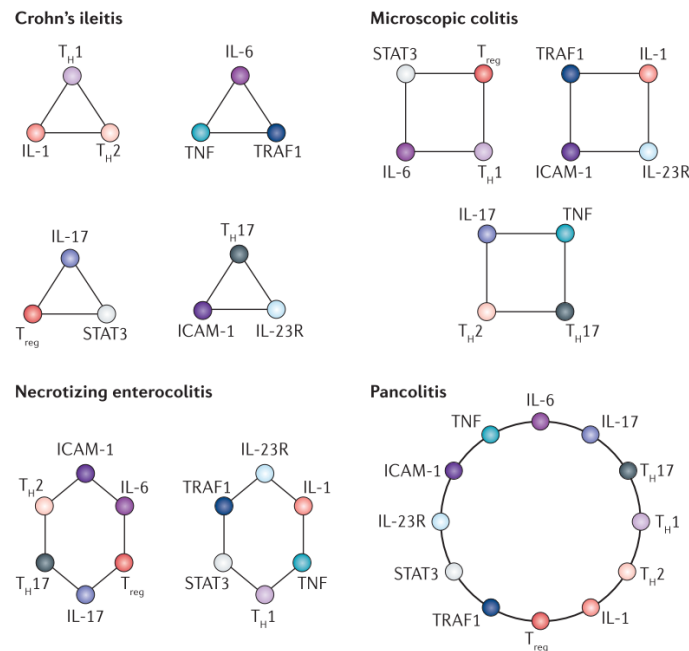


Figure 48. Réseaux d'interactions biologiques potentiellement liés au développement d'une MICI [81]

2) Facteurs épigénétiques

Quelques éléments soulèvent l'hypothèse de la contribution d'une plasticité épigénétique dans l'étiologie des MICI, à travers notamment des modifications d'histones et de micro-ARN (Figure 49) [200]. Des variations de méthylation de l'ADN associées à la RCH ont été identifiées et impactent par exemple l'IL4R lié à l'immunité T_H2 , et SAA1 qui est une apolipoprotéine pro-inflammatoire [42,200,201]. En réponse à une modification microbienne, la muqueuse intestinale et orale peuvent subir des modifications épigénétiques au niveau de gènes d'intérêt comme *HBD2* qui encode la β -défensine 2 humaine [200]. L'empreinte épigénétique est plus élevée en période périnatale, et donc son rôle potentiel dans les MICI pourrait être plus important à cette période plutôt que chez l'adulte où les mécanismes non génétiques prennent une place plus prépondérante (Figure 49).

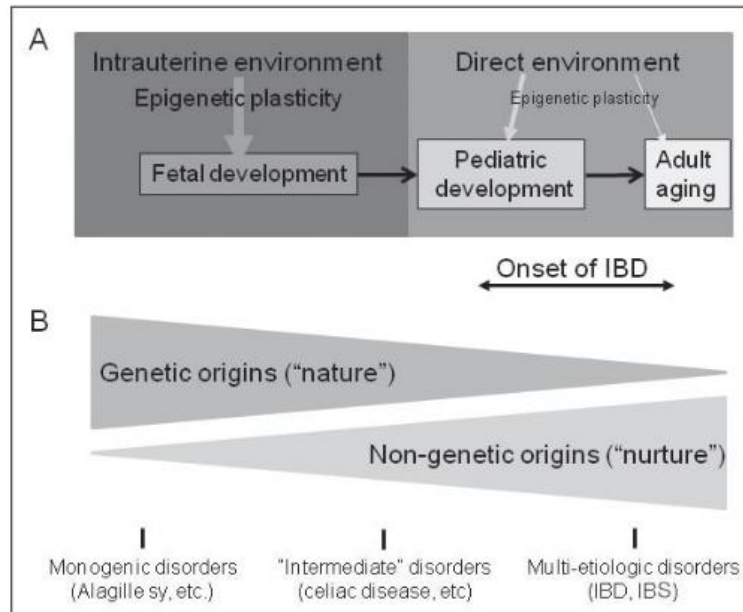


Figure 49. Empreinte épigénétique dans le développement d'une MICI [200]

B. Facteurs environnementaux

1) Généralités

Plusieurs facteurs environnementaux sont associés à l'étiologie d'une MICI. Certains sont reliés à la période périnatale comme l'allaitement, alors que d'autres sont amenés à évoluer au cours du temps comme l'hygiène, le régime alimentaire, la prise de médicaments voire la situation géographique [81,200]. L'allaitement réduit la prévalence des MICI chez la descendance par ses effets protecteurs contre des infections GI, en contribuant au développement de son tractus GI [10]. Au contraire, la prise de médicament comme des antibiotiques ou des anti-inflammatoires non stéroïdiens peut être délétère et augmenter le risque de MICI par dérégulation du microbiome et/ou la réduction de la synthèse de prostaglandines protectrices [6,81]. L'hypothèse d'hygiène suggère par ailleurs la possibilité d'une diminution élevée dans l'enfance de l'exposition à des agents infectieux de l'environnement due à l'amélioration des conditions sanitaires. Cette diminution serait ensuite à la base d'une disproportion de la réponse immunitaire induite à la première exposition, plus tardive, de l'individu à ces agents.

Les facteurs environnementaux peuvent aussi s'associer et covarier. Par exemple l'industrialisation, l'urbanisation, l'hygiène, l'hypoxie, l'alimentation et la pollution sont très dépendant de la situation géographique du patient MICI. Les gènes de susceptibilité à la MC peuvent de la même manière être différents selon la population considérée : dans les peuples asiatiques, la mutation NOD2 est différente de celle d'individus européens, et ATG16L1 n'est pas associé à une MICI [17]. L'exposition d'un individu à un environnement hypoxique comme une haute altitude peut induire une inflammation GI et des ulcères, en partie expliqués par l'accumulation de cellules inflammatoires dans plusieurs organes et un taux élevé de cytokines [81]. La pollution, comme celle engendrée par l'exposition chronique à des particules fines en suspension dans l'air, a été étudiée chez la souris [81]. Dans ce modèle animal, une augmentation de cytokines pro-inflammatoires et une altération du microbiote et des fonctions intestinales ont été observées [81]. De plus, cette pollution aérienne exacerbe la colite chez les souris KO IL-10^{-/-} [81]. Vivre dans un environnement urbain est par ailleurs associé aux MICI tout comme le fait de

fumer [17,81]. De manière intéressante, émigrer dans une région à plus haute prévalence de MICI augmente le risque de MICI [10]. Ce risque est d'autant plus grand chez les descendants des personnes immigrées [10].

2) Alimentation

L'alimentation de l'individu peut avoir des implications géographiques, par un mode de vie et des aliments disponibles différents. Le régime alimentaire occidental est associé à une augmentation du risque de développer une MICI, alors que la consommation importante de thé en Asie a un effet protecteur [8,17]. Certains aliments sont en particulier à l'origine d'effets délétères, comme les acides gras saturés qui activent les TLR2 et TLR4 [202]. Une consommation élevée d'acides gras saturés et un ratio élevé n-6/n-3 d'acides gras polyinsaturés sont associés à une rechute de MICI [202]. En combinaison avec une alimentation riche en sucre, un taux élevé de matières grasses dans l'alimentation induit une dysbiose intestinale liée à une surabondance de *Proteobacteria* [203]. À l'inverse de ce régime, une alimentation riche en fruits, légumes et en fibres réduit le risque de développer une MICI [6,202,203]. L'inflammation chronique couplée ou non à la prise en charge médicamenteuse est à l'origine d'un risque de carences nutritionnelles en fer, vitamine A ou vitamine D par exemple [204]. Des informations complémentaires seront présentées ultérieurement dans la partie détaillant les modulations possibles du microbiote dans les MICI.

C. Importance des facteurs environnementaux à un stade précoce de la vie dans l'induction d'une MICI : concept de DOHaD

Les facteurs environnementaux s'avèrent être des acteurs clés dans le développement d'une MICI. D'autres maladies chroniques sont soumises à l'influence de paramètres environnementaux, et ce très tôt dans la vie d'un individu.

1) DOHaD

L'hypothèse de l'origine développementale de la santé et des maladies (dit DOHaD, pour « Developmental Origins of Health and Disease ») stipule que des stimuli environnementaux ayant lieu à différents stades développementaux d'un individu peuvent laisser une empreinte à long terme sur son organisme. Cette empreinte le prédispose ou le protège du développement futur, à l'âge adulte, d'une maladie non transmissible [126]. Les maladies non transmissibles se caractérisent par leur aspect chronique et se distinguent des maladies à composante génétique ou infectieuse [126]. Elles incluent les maladies cardiovasculaires, le diabète de type 2, le cancer du sein et l'asthme par exemple [126]. Les facteurs environnementaux impliqués sont variés, allant de la prise de médicaments comme des antibiotiques, le stress, le tabagisme, l'activité physique au régime alimentaire [126]. Les facteurs environnementaux mentionnés sont similaires à ceux évoqués pour les MICI, ce qui suggère que le concept de DOHaD s'applique également aux MICI.

2) Reprogrammation in utero

La période prénatale est une période clé du développement de l'enfant où l'environnement maternel influence le système immunitaire du fœtus par transmission de facteurs immuns et potentiellement de métabolites bactériens par le placenta, le liquide amniotique et le sang du cordon ombilical [109]. Ainsi, les systèmes biologiques de l'enfant sont sensibles à l'environnement utérin fourni par la mère, et bénéficient à ce stade d'un degré élevé de plasticité

[126]. Ces conditions sont propices à une programmation *in utero* dont les effets sont visibles à long terme chez l'individu [126]. À titre d'illustration, une sous-nutrition maternelle prolongée impacte le développement des organes, dont les reins de l'enfant tout comme son épigénome [126]. L'hypothèse controversée mais existante d'un microbiote fœtal, mentionnée dans le chapitre sur le microbiote, constitue également une potentielle reprogrammation *in utero*.

3) Alimentation maternelle

Parmi les facteurs environnementaux impliqués dans la reprogrammation *in utero*, l'alimentation maternelle joue un rôle particulièrement important [126]. Sa modulation a démontré des effets protecteurs dans le cadre de maladies non transmissibles. Un régime alimentaire maternel riche en acides gras n-3 protège ainsi les descendants du développement d'une allergie [109]. De même, une alimentation maternelle riche en fibres protège les descendants des effets délétères induits par un régime riche en matières grasses que sont l'intolérance au glucose et la résistance à l'insuline [140]. Concernant les MICI, il a été démontré qu'un régime alimentaire maternel riche en donneurs de méthyles accroît la susceptibilité à la colite chez la descendance murine [205]. Néanmoins peu d'études explorent le potentiel préventif d'une modulation de l'alimentation maternelle dans le cadre des MICI. Cet aspect sera abordé ultérieurement dans l'aspect préventif de la modulation du microbiote, par l'usage notamment de prébiotiques et de régimes alimentaires enrichis en acides gras n-3 et n-6.

4) Modèle « Triple Environmental Hit » dans les MICI

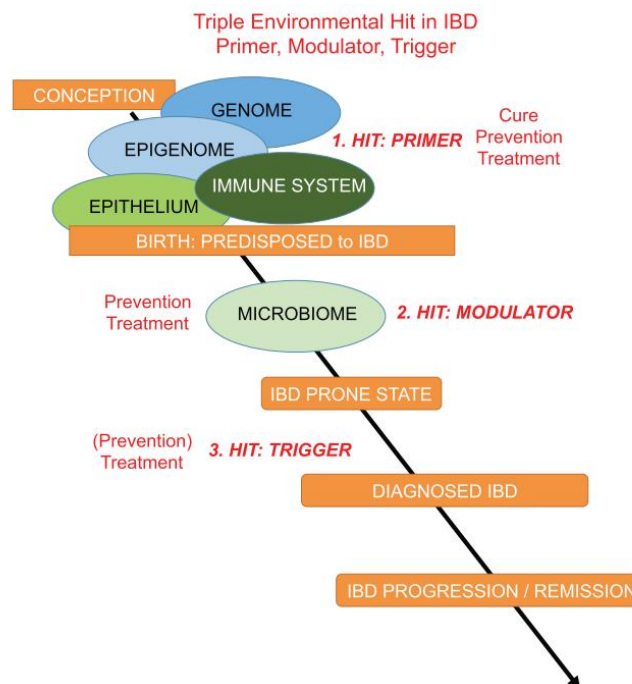


Figure 50. Schéma récapitulatif du concept de "Triple Environmental Hit" dans les MICI [206]

En s'appuyant sur le concept de DOHaD, Kellermayer et al. ont proposé en 2020 un modèle de développement de MICI intitulé « Triple Environmental Hit » [206]. Dans ce modèle, 3 périodes temporelles clés ont été identifiées et regroupent la période prénatale, postnatale précoce et la période avant diagnostic de la MICI (« near-onset ») (Figure 50) [206]. Ces fenêtres temporelles contribuent collectivement à l'établissement d'une prédisposition aux MICI [206]. La période prénatale s'accompagne de changements épigénétiques importants alors que la période

postnatale précoce initie la mise en place du microbiote intestinal. Ces deux périodes sont propices à dérégulation, mais ne suffisent pas à elles seules à causer une MICI. Un troisième stimulus est nécessaire et peut être par exemple de nature infectieuse. La résultante de ces 3 stimuli serait potentiellement à l'origine d'une MICI diagnostiquée chez le jeune adulte [206].

Étiologie des MICI

- Les causes exactes des MICI ne sont à ce jour que partiellement définies.
- En plus des systèmes biologiques vu précédemment, la pathogenèse des MICI est associée à des facteurs génétiques, épigénétiques et environnementaux liés à la régulation de ces systèmes.
- Les facteurs environnementaux impliqués dans les MICI sont multiples et peuvent covarier. L'intensité et la durée de leur impact sont étroitement liées à la fenêtre temporelle considérée.
- Le concept de DOHaD souligne l'importance des périodes périnatales dans le développement de maladies non transmissibles dont potentiellement les MICI, avec une empreinte à long terme des facteurs environnementaux comme l'alimentation maternelle.

4. Stratégies thérapeutiques

Malgré d'importants travaux de recherche menés sur la prise en charge des MICI, les traitements proposés à ce jour ne permettent pas une guérison totale du patient [20]. Même si l'efficacité des traitements augmente, la nécessité de recourir à la chirurgie subsiste et concerne jusqu'à 30% des patients RCH et 2/3 des patients MC [4,8]. L'objectif principal de la prise en charge d'une MICI est la rémission complète, que ce soit d'un point de vue histologique, endoscopique ou symptomatique [4]. De même, l'amélioration de la qualité de vie du patient et la diminution du risque de cancer font partie intégrante des considérations prises en compte dans la prise en charge [4].

A. Arsenal thérapeutique actuel

Le choix du traitement dépend des caractéristiques du patient et de ses antécédents : âge d'initiation et durée de la maladie, nombre de rechutes, historique médical etc. Ce choix n'est pas arrêté et sera amené à évoluer selon la dynamique de la maladie [8]. En effet, l'étendue de l'atteinte tout comme la sévérité de la maladie évoluent au cours de la maladie [8]. Ces différents éléments vont impacter la réponse au traitement et donc leur efficacité.

1) Médicaments

Différentes catégories de médicaments se distinguent et permettent à la fois l'induction et la maintenance de la rémission [4]. Ces médicaments comportent également des effets secondaires dont la survenue augmente avec la durée d'utilisation [107].

a) Aminosalicylés

Les formulations comprenant de l'acide 5-aminosalicylique (5-ASA) constituent le traitement de première intention pour les patients atteints de RCH d'intensité légère à modérée [8]. Leurs effets dans le cadre d'une MC sont plus controversés [4]. Les médicaments de cette catégorie comprennent notamment la sulfasalazine, premier médicament développé de la classe, et la mesalamine [7]. La voie d'administration peut être orale ou rectale, à libération prolongée ou retardée, avec une action restreinte au côlon ou allant jusqu'à l'intestin grêle [7]. Le mécanisme d'action des composés à base de 5-ASA n'est pas encore clairement défini mais une inhibition de la synthèse de médiateurs pro-inflammatoires tels que les leucotriènes, les prostaglandines et les radicaux libres est observée, par inhibition des enzymes LOX et COX de la voie de l'acide arachidonique [4]. Parmi les potentiels effets secondaires de ces composés sont retrouvés l'hépatite et la pancréatite [207].

b) Stéroïdes et corticostéroïdes

Les stéroïdes topiques et les corticostéroïdes, représentent une alternative pour les patients RCH ne répondant pas ou étant intolérant à 5-ASA [8]. Les corticostéroïdes comme la prednisone sont utilisés pour induire la rémission [107]. Leur utilisation est largement répandue dans le cadre de la MC et s'inscrit dans la prise en charge de la RCH d'intensité modérée à sévère [8]. Leurs effets sur le système immunitaire présentent un spectre d'action large. Ils diminuent la production de cytokines pro-inflammatoires, inhibent les molécules d'adhésion et induisent l'apoptose de lymphocytes activés [4]. Parmi les complications liées à leur utilisation prolongée sont retrouvées le gain de poids, la perte de cheveux et l'ostéopénie [207].

c) Immunomodulateurs pharmacologiques

Ces composés sont utilisés pour le maintien de la rémission à la fois dans le cadre d'une RCH et MC. Ces composés regroupent notamment les thiopurines et le methotrexate [4]. Les thiopurines sont des antagonistes des purines qui inhibent la prolifération des lymphocytes B et T en interférant avec la synthèse de l'ADN et de l'ARN [4]. Comme alternative aux thiopurines, le methotrexate est un antagoniste de la vitamine B9 [4].

d) Thérapie biologique

La mise sur le marché des thérapies biologiques dans les années 2000 a permis de réduire les chirurgies et d'améliorer considérablement la qualité de vie des patients MICI [17]. Parmi les composés de cette classe sont retrouvés les agents anti-TNF- α tel que l'infliximab, qui est l'agent biologique le plus utilisé pour induire la rémission chez les patients souffrant d'une sévère RCH [8]. Les agents anti-TNF- α sont également efficaces pour induire et maintenir la rémission chez les patients MC [4]. Ce sont des anticorps IgG1 chimériques ou humanisés se liant à la cytokine pro-inflammatoire TNF- α [4].

Une autre catégorie d'agents biologiques est constituée des molécules anti-adhésion. Ces agents sont adaptés à la prise en charge de patients MICI atteints d'une RCH modérée à sévère, ainsi qu'aux patients à MC modérée à sévère non répondeurs au traitement anti-TNF- α [8]. Le Vedolizumab en fait partie et agit par blocage de l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ exprimée par les lymphocytes, dont CD4⁺ régulateurs et effecteurs, empêchant ainsi leur extravasation et de ce fait leur résidence dans la lamina propria intestinale [5]. La plus récente classe de médicaments approuvée en 2018 pour la prise en charge des RCH modérées et sévères comprend des

inhibiteurs de Janus kinases (JAK) comme la petite molécule Tofacitinib ciblant toutes les JAKs (JAK1/JAK2/JAK3/TYK2) [8].

La suppression immunitaire induite sur le long terme par l'utilisation prolongée de ces agents biologiques, mais aussi des immunomodulateurs, augmente toutefois le risque infection opportuniste et de lymphome [17].

2) Chirurgie

Les principaux indicateurs de la nécessité à recourir à une chirurgie pour un patient MICI sont une perforation, une hémorragie incontrôlée, un cancer, une obstruction récurrente, une dysplasie et la non-réponse au traitement médical [4,8]. Avant chirurgie, la continence fécale doit être vérifiée et son absence constitue une contre-indication à la chirurgie [8]. Les actes chirurgicaux employés dans la MC sont variés, allant de la stricturoplastie, le drainage d'abcès à la résection intestinale [4]. En RCH, la chirurgie se focalise sur la résection intestinale avec comme chirurgie majoritaire la coloproctectomie réparatrice avec anastomose iléo-anale (IPAA) (Figure 51) [8]. Cette chirurgie peut être curative chez les patients RCH, avec un gain en qualité de vie. Mais celle-ci s'accompagne aussi de complications à court et long terme comme des saignements ou une pochite [8]. La pochite est une inflammation non spécifique de la poche iléale constituée après anastomose et représente la complication la plus courante après IPAA [8]. Dans les 10 ans suivants chirurgie, près de 50% des patients développent cette complication [8].

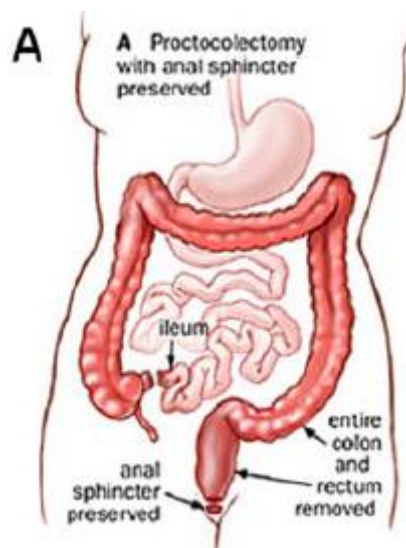


Figure 51. Coloproctectomie réparatrice avec anastomose iléo-anale [208]

De même pour les patients atteints de MC, la rémission peut ne pas être totale et s'accompagner d'une récurrence de la maladie au niveau endoscopique, symptomatique et chirurgical [4]. En effet, 35% des patients MC nécessitent une seconde résection intestinale 10 ans après la première opération [4].

B. Modulation du microbiote intestinal pour les MICI

La prise en charge des MICI par traitements médicamenteux et la chirurgie présentent des limitations et des effets secondaires incitant à développer de nouveaux traitements. En effet, la stratégie actuelle se focalise sur le système immunitaire tandis qu'une piste d'étude récente cible la modulation du microbiote intestinal, acteur majeur dans la physiopathologie des MICI.

La présente revue écrite conjointement avec des membres du laboratoire Inserm U1235 et du laboratoire INRAE BIA synthétise les études récentes menées sur la modulation du microbiote intestinal en contexte de MICI. Elle distingue les protocoles de stratégie primaire et secondaire (prévention et traitement) tout en permettant de comparer les données cliniques aux travaux menés sur l'animal et *in vitro*. La question d'une intervention alimentaire comme la supplémentation en acides gras n-3 et n-6 sera abordée, tout comme la caractérisation des prébiotiques, probiotiques, synbiotiques et postbiotiques, avec une ouverture sur la transplantation de microbiote fécal. Les résultats majeurs mis en avant par la revue soulignent tout d'abord la différence de modulation du microbiote et de l'hôte obtenue entre la MC et la RCH, l'importance de la fenêtre d'intervention ainsi que des potentiels effets secondaires générés. Malgré ces disparités, le développement de stratégies permettant d'améliorer le microbiote intestinal reste une piste prometteuse dans la prise en charge des MICI, *a minima* en complément des thérapies existantes.

Inflammatory bowel disease therapeutic strategies by modulation of the microbiota: how and when to introduce pre-, pro-, syn- or postbiotics?

Amélie Lê^{1,*}, Marine Mantel^{1,*}, Justine Marchix¹, Marie Bodinier², Gwenaél Jan³ and Malvyne Rolli-Derkinderen¹

*Co-first authors

¹Université de Nantes, Inserm, TENS, The Enteric Nervous System in Gut and Brain Disorders, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, F-44093 Nantes, France

² UR1268 BIA, INRAE, F-44093, Nantes, France

³ UMR STLO, Agrocampus Ouest, INRAE, F-35042 Rennes, France

Correspondence

M.Rolli-Derkinderen (malvyne.derkinderen@univ-nantes.fr)

Acknowledgments

Figures were created with BioRender.com

Grants

This study was supported by the « Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale » (Inserm), the Université de Nantes, the Région Pays de la Loire (MiBioGate) and the consortium PROLIFIC. Amélie Lê benefits of a doctoral fellowship from the Région Pays de la Loire (MiBioGate). Marine Mantel benefits of a doctoral fellowship from the consortium PROLIFIC. MRD is supported by the Centre National pour la Recherche Scientifique (CNRS).

Disclosures

No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the authors.

Author Contributions

A.L. and M.M prepared figures; A.L, M.M. and J.M. drafted manuscript; J.M., M.B., G.J., and M.R.D edited and revised manuscript; A.L. and M.M and J.M., M.B., G.J., and M.R.D approved final version of manuscript.

ABSTRACT

Inflammatory bowel diseases (IBD), a heterogeneous group of conditions that encompass both ulcerative colitis and Crohn's disease, represent a major public health problem. The etiology of IBD is not yet fully understood and no cure is available, with current treatments only showing long-term effectiveness in a minority of patients. There is a need to increase our knowledge on IBD pathophysiology, in order to define preventive measures, to improve disease outcomes and to develop new effective and lasting treatments. IBD pathogenesis is sustained by aberrant immune responses, associated with alterations of the intestinal epithelial barrier (IEB), modifications of the enteric nervous system and changes in microbiota composition. Currently, the majority of treatments are targeting the inflammation and the immune system, but holistic approaches targeting lifestyle and diet improvements are emerging. As dysbiosis is suspected to play a role in IBD pathogenesis, pre-, pro-, syn- and postbiotics are used/tested to reduce the inflammation or strengthen the IEB. The present review will resume these works, pointing out the stage of life, the duration and the environmental conditions that should go along with microbiota or microbiota-derived treatments.

INTRODUCTION

Inflammatory bowel diseases (IBD), a heterogeneous group of conditions that encompass both ulcerative colitis and Crohn's disease, are complex chronic inflammatory disorders with increasing incidence and prevalence worldwide in the past decade [1]. IBD is now a major public health problem that affects approximately 3.6 million people in the United States and Europe [2]. IBD onset typically occurs between the second and third decades of life. A majority of affected individuals progress to a relapsing and chronic disease characterized by an immune activation and inflammation of the gastrointestinal (GI) tract that severely alter its function. Common IBD symptoms include bleeding, severe diarrhea, cramps, abdominal pain, fever, and weight loss. In CD as well as UC, inflammation of the gut is associated with the breakdown of intestinal barrier integrity, abnormal secretions, and changes in motility patterns. UC features include diffuse mucosal inflammation that extends proximally from the rectum whereas CD may be patchy, segmental, and with transmural inflammation. This uncontrolled chronic inflammation can result in a complicated disease course with undesirable abdominal abscesses, fistulae, strictures, subsequent bowel obstruction and an increased risk for GI malignancy. As such, a greater understanding of IBD pathophysiological mechanisms is required.

IBD Etiology

IBD develop in genetically predisposed individuals under the influence of environmental factors. Family aggregation has long been recognized and first-degree relatives of affected individuals have a relative IBD risk of fivefold or greater. More than 240 genetic risk loci have been associated with IBD [3]. Despite susceptibility genes that are for the most part different between CD and UC, 30% of IBD-related loci are common to these two intestinal diseases. These genes are involved in the immune system modulation (immune cell recruitment, innate mucosal defense, antigen presentation, T and B cell regulation) as well as in the control of IEB functions (permeability, restitution, migration, repair, autophagy, cell death). Most interestingly, many of the known IBD susceptibility genes are associated with recognition and processing of bacteria, which is consistent with a role of the gut microbiota in the pathogenesis of IBD [4].

It is of interest that in several countries with historically low rates of IBD, a pattern of rising incidence in the past one to two decades and particularly for Crohn's disease, has occurred. These data suggest that environmental factors are also involved. Potentially relevant environmental IBD risks factors encompass mode of childbirth, major life stressors, diet and/or lifestyle. They span the spectrum of life from birth and early-life exposures (breastfeeding and antibiotic exposure in infancy) to exposures later on, in adulthood (smoking, depression, impaired sleep, low fiber diet, low vitamin D or UV exposure, and poor hygiene and physical activity) [2,5].

IBD Pathophysiology

Though the etiology of IBD has not been fully elucidated, it is currently known that IBD pathogenesis is sustained by aberrant immune responses associated with alterations of the

intestinal epithelial barrier (IEB) as well as changes in microbiota composition [6–8]. Accumulating evidence also suggests that the enteric nervous system could play a role in the pathogenesis of IBD, particularly for CD [9]. Defective intestinal epithelial barrier (IEB) participates in IBD pathogenesis, not only by cell death abnormalities but also by deregulation of the permeability [10]. Indeed, one of the early features of IBD is the increase of the IEB permeability [11]. The reduction of IEB permeability appears to protect against the induction of inflammation [11]. On the other hand, data demonstrated that an increase of gut permeability occurred before the onset and relapse of CD and at areas with no inflammation, suggesting a defect of the intestinal permeability independent of the inflammation [11]. Moreover, clinical remission is linked to intestinal mucosal healing [11]. Another common disease denominator in all IBD patients is the infiltration of inflammatory CD4⁺ T-cells in intestinal tissue encompassing an increase in inflammatory T cells (Th1, Th2, Th9, Th17, and Th17.1) response, associated with a reduced regulatory T cells (Treg and Tr1) response [12]. CD4CD8 $\alpha\alpha$ T lymphocytes for example have been shown to function as Treg and to be decreased in the colonic mucosa of IBD patients [13]. In addition, the immune chronic activation in IBD involves a dysfunction of neutrophil granulocytes and phagocytes, T- and B-cell selection and activation, and immune inhibitory mechanisms. In recent years, a new type of lymphocytes, termed innate lymphoid cells, has been described and classified into three subtypes of innate lymphoid cells-group 1, group 2 and group 3 [14,15]. An imbalance interaction among these cell subsets and with the gut microbiome, and other immune cells affects intestinal mucosal homeostasis [16,17]. In addition, widespread damage of the enteric nervous system (ENS) has been described in Crohn's disease for a long time and its dysfunction has been recently demonstrated. There are conflicting results regarding the expression of neuronal marker or neurochemical composition of the ENS of CD patients, but structural abnormalities of the ENS have consistently been observed in CD and, less frequently, in UC [18–22]. Coarse nerve fibers and axonal necrosis have been observed in CD ileum or colon [23,24]. In these segments, enteric glial cells have lost their control upon intestinal healing and permeability [25,26]. Finally, many studies have associated IBD with dysbiosis, and the use of antibiotics in childhood was associated with an increased risk of IBD, younger age and longer exposure being aggravating parameters [27,28]. Alterations of the gut microbiota have not only been observed in mice models of colitis but also in IBD patients [29–33]. The dysbiosis are different between UC and CD patients, but they are observed in both pediatric and adult population, in active or quiescent phases of the pathology and in treatment-naïve CD patients [34]. The most consistent observation in IBD is a reduced bacterial diversity, with a decrease of *Firmicutes* phylum and *Bifidobacteriaceae* family, an increase of the *Enterobacteriaceae* and *Fusobacteriaceae* families, *Porphyromonas* and *Akkermensia* genera (*Akkermensia muciniphila*). Periods of disease activity are also marked by increased transient microbial changes with characteristic/compositional taxonomic, functional, and biochemical shifts [35]. The strain *Faecalibacterium Prausnitzii* is not only decreased in patients with CD compared to healthy subjects, but its absence also correlates with the risk of relapse of ileal CD after surgery and its recovery is associated with the maintenance of clinical remission [36–39]. Increasing studies describe how *F. Prausnitzii* can dampen the inflammation through reduction

of pro-inflammatory cytokine production, regulation of Treg or intestinal epithelial cells [13,40–43]. Altogether, these studies highlight the concept that host–microbiota interactions play a central role in IBD pathogenesis and are potential therapeutic targets [44,45].

Treatments

At present, the mainstay of IBD treatment is immunosuppressive and immune-modulating agents. Therapeutic agents comprising anti-TNF demonstrated significant changes in our ability to obtain and maintain clinical response and remission, but similar to anti- $\alpha 4\beta 7$ integrin or anti-IL-12/IL-23 antibodies, they show some limitations. A significant percentage of IBD patients do not respond primarily to the treatment or lose responsiveness over time [46]. Various new agents targeting cytokines, adhesion molecules or tyrosine are currently in clinical trials. In addition to the failure of approved therapies and in some cases, the inability to provide a surgical treatment due to physical extension and/or mislocalization of lesions represent a major challenge in the management of IBD [47,48]. Therapies targeting or based on the gut microbiome and targeting host–microbiome interactions are under extensive investigation in IBD, with varying success. Modulating the metabolome or the gut microbiota by targeting selected strains, by fecal microbiota transplantation and/or by dietary exclusions or modification, emerge as attractive novel therapeutic approaches for patients with IBD.

MICROBIOTA-BASED INTERVENTIONS

A major task force has recently been dedicated to study the human gut microbiota, as well as the factors shaping its structure and functionality. A microbiota is defined as an “assemblage of microorganisms (all the bacteria, archaea, eukaryotes, and viruses) present in a defined environment” and is found in all multicellular organisms [49]. The gut microbiome, that encompasses about 600,000 microbial genes, contributes to trophic functions, metabolism, barrier function, immune stimulation, and signalization. Its link with the host’s physiology and health is increasingly recognized, although the full composition of our microbiota, and the mechanisms involved in the crosstalk between the gut microbiota and the host, remain largely unknown. It has however become obvious that host-microbiota interaction plays a key role in human health, with alterations of the microbiota reflecting a pathological status and are associated with numerous neurological and chronic diseases [50–53]. These alterations are encompassed in a global concept of dysbiosis which describes the imbalance of the microbiota in its composition and metabolism [54,55]. Of note, the definition of dysbiosis remains challenging as the definition of a healthy microbiota is complex and in constant need of refinement [56].

Resulting from this, different strategies are experimented in order to compensate or restore the default observed in microbiota-to-host communication, and treat dysbiosis and/or inflammation. Among many factors which may influence it, the diet is now well recognized for being able to rapidly and reproducibly alter the gut microbiota [57]. Different dietary and microbial factors indeed elicit either health benefits or detrimental consequences in the host

[58]. In a more targeted way, the use of prebiotics aims at enriching the microbiome, and fecal transplantation or ingestion of microorganisms are under study, in preventive as well as therapeutic strategies. Finally, in order to circumvent the difficulty of manipulating microorganisms, and because our knowledge is increasing as to how they regulate the host, the uses of products derived from or associated with the microbiota are being tested. The present review will examine the uses of pre-, pro-, syn- or postbiotics, fecal microbiota transplantation and diet modification in the IBD patient care.

PREBIOTICS

Prebiotics definition

Since the first definition of a prebiotic in 1995 by Gibson and Roberfroid, its meaning has evolved to reach in 2017 the following description by the International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics: a substrate selectively used by micro-organisms of the host conferring benefits for his health [59]. A prebiotic should follow certain criteria to be granted this designation, such as being resistant to the digestion by endogenous enzymes of the stomach and the small intestine, being fermentable by the gut microbiota and to selectively promote the growth and/or the activity of specific beneficial intestinal bacteria for the host [60,61].

Types

Several types of prebiotics exist and include mainly oligosaccharides, non-digestible carbohydrates, other products like pectin and potentially polyphenols or polyunsaturated fatty acids [62–64]. Many substrates constitute potential prebiotics, but only a few components have been rigorously proved to be prebiotics. Due to their modulatory effects on the microbiota, fructo-oligosaccharides (FOS) and inulin, as part of the fructans, but also galactans like galacto-oligosaccharides (GOS) represent the most studied prebiotics [60]. Prebiotics are found naturally in vegetables (leek, onion, garlic, artichoke, chicory root, agave, asparagus), fruits (apple, banana) and cereals (wheat, rye, corn) [60,65]. Furthermore, human milk contains also prebiotics that are called human milk oligosaccharides (HMOs) [66]. So, prebiotics are part of our diet with GOS and inulin being the most occurring ones [60]. A second generation of prebiotics is emerging as well, which aims to enhance the beneficial effects of current prebiotics by engineering their chemical structure with probiotic enzymes [60].

Effects

The effects of prebiotics are not only limited to the gut and can have beneficial effects on multiples organs/system (lung, metabolism...) [60]. They influence the host health by two distinct mechanisms: direct and indirect. The described mechanisms impact different biological systems which are in close interaction: the immune system, the epithelial barriers and the microbiota [60].

Direct effects on host:

Prebiotics can bind to cell surface receptors (Toll-like receptors TLR4, mannose receptors, PRRs for pattern recognition receptors...) on skin, gut and lung epithelial cells as well

as immune cells [67,68]. Prebiotics may serve as decoy receptors to inhibit the adhesion of pathogens or, on the contrary, increase the adhesion of probiotic strains [69]. FOS and GOS bind for example to TLR4 on immune cells, leading to a potential increase of cytokines production. Amongst them, anti-inflammatory cytokines including IL-10 and pro-inflammatory cytokines like IL-1 β and TNF- α are released by blood monocytes. By this mean, prebiotics can exert immunomodulatory effects, including the enhancement of tolerance through the induction of Treg cells and the production of IL-10 by dendritic cells [60]. Prebiotics may interact with physical barriers like the skin, the lungs or the gut to promote barrier integrity, so influencing as well the organ functions such as wound repair, intestinal permeability and transit [60,63]. In a broader sense, prebiotics have also a positive effect on the metabolism of glucose or psychological processes including mood and memory [60,63].

Indirect effects on host:

The indirect effects of prebiotics are mainly driven by the products of their fermentation by specific commensal bacteria which can influence the gut microbiota activity and composition that would benefit the host [60]. Prebiotics promote the growth of probiotic strains populations like known *Bifidobacterium* species and inhibit the adherence and expansion of pathogens such as *Clostridium difficile* [70,71]. For example, inulin intake increases specific beneficial bacteria, like strains of the *Bifidobacteria* and *Lactobacilli* genera [72].

Among the products of bacterial fermentation, short-chain fatty acids (SCFA) and lactic acid are bioactive metabolites that can regulate the epithelial and immune cells [62]. SCFA constitute themselves energy sources for epithelial cells and activate signaling pathways to modulate genes expression, thus acting on biological processes like satiety, metabolism, antimicrobial activity or the cellular cycle [60,73,74]. Butyrate is for example the primary substrate for colonocytes and is known for its multiple effects on the barrier and the intestinal immunity [61,75]. SCFA also influence the differentiation of T cells into Treg cells by induction of tolerogenic CD103⁺ dendritic cells (DC) through retinoic acid [60]. They enhance in turn host immunity against infections and aggressions by inhibiting the growth of pathogens, and by increasing the release of antimicrobial peptides, inflammatory cytokines and chemokines [60]. They have a broader impact on gut functions, through the regulation of the enteric nervous system and gut motility, and are thereby interesting in the context of IBD treatment [76].

Table 1. Primary prevention with prebiotics in IBD. AOS = acidic oligosaccharides.

In vitro studies			
Reference	Model	Prebiotic	Treatment duration
Vendrig, 2013	Primary equine PBMC Inflammation: LPS.	At 0.5-2% (w/v): GOS, GOS/FOS (9:1), GOS/FOS/AOS (9:1:2). Minor endotoxin contamination.	6h (with 2h before LPS)
Ishisono, 2019	RAW264.7 cell line Inflammation: LPS or Pam3CSK4.	Orange pectin (250µg/mL) Side chain-derived polysaccharides (50µg/mL)	24h before inflammation
Preclinical studies			
Reference	Model	Prebiotic	Age
Videla, 2001 Cherbut, 2003	Male Sprague-Dawley and Wistar rats. Inflammation: Acute DSS and TNBS colitis.	Inulin: oral (1% in water or 400 mg/day gavage), rectal enema (400mg/day). FOS (2 intragastric infusions/day <= 1g/day)	6-7 weeks inferred from weight
Kittana, 2018	Colonic explants of female C57BL/6 mice. Inflammation: C. rodentium colitis.	GOS (0.026 g/mL in water)	7 weeks old
Liu, 2018 Ishisono, 2019 Xu, 2021	SPF housed or not C57BL/6 mice. Inflammation: Acute DSS and TNBS colitis.	Potential prebiotic: quinoa (907g/kg diet) Orange or citrus pectin (5%, antibiotics pre- treatment) At 495.69g/kg of diet: native potato starch (PS), pea starch (PEAS), Chinese Yam starch (CYS).	6-8 weeks old

Colors legend:

Prevention
IBD resolution/anti-inflammatory
IBD exacerbation/pro-inflammatory
Mitigated
No effect
Early life intervention

Table 2. Secondary prevention with prebiotics in IBD. PGlyRP3 = peptidoglycan recognition protein 3, TSLP = thymic stromal lymphopietin, CBMC = cord blood mononuclear cells, aHMO = acidic fraction of HMO, nHMO = neutral fraction of HMO, BMDC = bone marrow-derived dendritic cells, CAI=clinical activity. Index, DAI = disease activity index, IBDQ = inflammatory bowel disease questionnaire. RCT = randomised controlled trial, DB = double-blind, RPCT = randomised placebo controlled trial, UBT = under baseline treatment.

In vitro studies				
Reference	Model	Prebiotic	Treatment duration	Effect on IBD
Intestinal models				
Grimoud, 2010 Zenhom, 2011 Newburg, 2016	HT29, Caco-2, H4, T84, NCM-460 cell lines. Immature ex vivo human small intestinal tissue (20-22 weeks gestation) Inflammation: LPS+IFN- γ , TNF- α or IL-1 β , Salmonella enterica, Listeria monocytogenes.	Glucosyligosaccharides (10g/L) Galactosyligosaccharides (5g/L) α 3-Sialyllactose (10-100 mg/mL) Ratitose P95 (0.05-50 g/L) HMOs from human milk (5 g/L)	3h-24h	No effect of glucosyligosaccharides +/- probiotics on HT-29 cells under LPS+IFN- γ . Galactosyligosaccharides, HMOs: attenuation of TNF- α -induced inflammation in NCM-460/H4 cells and ex vivo tissue by change of genes expression. α 3-Sialyllactose, Ratitose P95: anti-inflammatory effects in Caco-2 cells by reduction of pro-inflammatory cytokines.
Rasmussen, 2017 Uerlings, 2020	PSIc1 and IPEC-J2 cell line. In vitro pig's GI tract model: hydrolysis, dialysis, batch fermentation with faecal microbiota (pre-weaned 3 weeks old piglets, 2.5% w/v)+3 mucin microcosms. Inflammation: LPS.	Blend of 4 HMOs (4-HMO, 0.005-5 g/L) or >25 HMOs (25-HMO, 0.007-7 g/L) Filtered 12h-fermentation supernatant (FS, 2.5-50% v/v): inulin, chicory root, chicory or citrus pulp, rye bran, soya hulls.	6h-72h	4-HMO, 25-HMO: attenuation of LPS-induced inflammation in IPEC-J2 cells by change cell proliferation and cytokines production. All FS: immunomodulatory effects in IPEC-J2 cells by increase of SCFAs/ Bifidobacterium spp. and modulation of genes expression.
Oliver, 2020	Feces of: 16 healthy subjects, 5 UC and 6 CD patients.	Grape-derived prebiotic (200-600mg) Apple pectin (200 mg)	72h	Both prebiotics promote SCFAs production and SCFAs producing bacteria expansion.
Notararigo, 2021	Human colonic mucosa from biopsies of 4 CD patients (mean age= 47 years old)	O2-substituted-(1-3)- β -D-glucan polymers: EPS P and L polymers with O-4 and O-6 ramification respectively (100 μ g/mL)	4h	EPS P and L reduce inflammation of the intestinal epithelial mucosa by decreasing pro-inflammatory cytokines production.
Immune models				
Eiwegger, 2004 Bode, 2004 Capitán-Cañadas, 2014 Lehmann, 2015	HUVEC cell line. Primary human CBMC, PBMC. Immature primary human peripheral blood MoDC +/- naïve T cells. Primary female Wistar rats monocytes and T cells. Primary male TLR4-/- mice or C57BL/6J (WT) mice splenocytes. Inflammation: hrTNF- α , PMA+ionomycin, LPS.	aHMO (1-125 μ g/mL), nHMO (10-125 μ g/mL), fucoidan of low molecular weight (LMWF, 10 μ g/mL) 3'NeuAc-Lac, 3'NeuAc-3Fuc-Lac (125 μ g/mL) FOS, inulin, GOS (0.005-5g/L), goat milk oligosaccharides (GMOS, 0.005-5g/L), scGOS/lcFOS (9:1. 5mg/mL)	1h-20 days	aHMO, LMWF: influence CD4 and CD8 lymphocytes maturation in primary human CBMC and adhesion. aHMO, 3'NeuAc-Lac, 3'NeuAc-3Fuc-Lac: anti-inflammatory effects on primary human monocytes and lymphocytes by reducing adhesion and increasing CD25+ expression. FOS, inulin, GOS, GMOS: change inflammatory cytokines secretion in mice splenocytes, rat monocytes and T cells, human PBMC. scGOS/lcFOS: anti-inflammatory properties on T cells function and primary human MoDC cytokines production.
Lin, 2014	Immature primary murine BMDC from: C3H/HeN, C3H/HeJ, C57BL/6 female 5-8 weeks old mice or TLR2 KO mice or NF- κ B/luciferase transgenic mice. C3H/HeN and C57BL/6 mice primary T cells.	Potential prebiotic: feruloylated oligosaccharides of rice bran (FO, 6.25-100 μ g/mL)	6h-24h	FO induces phenotypic maturation of murine dendritic cells, enhance the antigen-specific T cell immune response induced by murine dendritic cells.
Other models				
Kittana, 2018	Hep-2 cell line. Inflammation: C. rodentium.	GOS (10-50 mg/mL)	90 min	GOS decreases adherence properties of C. rodentium.

Preclinical studies				
Reference	Model	Prebiotic	Age Early life	Intake duration
Koleva, 2012	HLA-B27 TG rats. Spontaneous colitis.	Inulin or FOS (8g/kg)	4 weeks old	12 weeks
Grabinger, 2019 Singh, 2019	C57BL/6J and IL10 ^{-/-} mice. Acute colitis.	2FL (5mM in drinking water), inulin (ICD, 75g/kg + 25g/kg cellulose) or pectin (PCD, 75g/kg + 25g/kg cellulose)	3-4 weeks old.	10-28 days
Effect on IBD				
FOS, inulin: decrease inflammation in colon and caecum by reduction of histological score and gross gut score. Impact on microbiota composition and decrease of caecal IL-1 β .				
2FL: decreases IL10 ^{-/-} colitis severity by decrease of diarrhea, histological score in distal colon and intestinal permeability. Impact on cytokines and SCFAs production, microbiota composition. ICD: worsens dIL10R-induced colitis with higher body weight loss, emptied shrunken caeca, enlarged spleen, thickened colon. Impact on SCFAs production and microbiota composition. PCD: mitigates dIL10R-induced colitis by improved faecal Lcn-2 and serum amyloid A concentrations, attenuated splenomegaly. Impact on cytokines production and microbiota composition.				
Adulthood				
Segarra, 2016	IBD dogs of different breeds (IBD score >4)	Daily mix of chondroitin sulfate (CS, 10 mg/kg), prebiotics (215mg/kg α -glucan butyrogenic resistant starch, 26 mg/kg β -glucans and mannaoligosaccharides).	Mean age = 4.85 years old	180 days
Desai, 2016	Germfree male and female wild-type Swiss Webster mice colonized with a synthetic microbiota. Inflammation: C. rodentium infection.	Prebiotic diet: 2.1% of purified soluble fibers (including inulin, arabinosylxylan and other prebiotics) in diet.	10-11 weeks old (after 2 weeks of colonization)	40 days
Hoentjen, 2005 Araki, 2007 Cai, 2019	SPF housed HLA-B27 and Sprague-Dawley rats. Inflammation: spontaneous colitis, acute colitis, "chronic" TNBS colitis.	Rafitose Synergy 1 (5g/kg in drinking water) Germinated barley foodstuff (GBF, 100g/kg diet) Chinese Yam polysaccharides and inulin (CP, 1:1, 300mg/kg/day)	5-11 weeks old, inferred from weight	8-49 days
The diet does not prevent the microbial erosion of the mucus barrier, increases Bacteroides abundance and shifts the transcriptomic profile.				
Rafitose Synergy 1 decreases gross cecal score and inflammatory/histological scores in caecum and colon in spontaneous colitis. Change of pro-inflammatory cytokines production and microbiota composition. GBF decreases DSS-induced colonic mucosal damage and mucosal mast cells infiltration. CP attenuates TNBS-induced inflammation, reduces DAI and attenuates colonic damages. CP restores the diversity of faecal microbiota and increases SCFAs production.				

Clinical studies					
Reference	Study design (incl. no. of participants without withdrawals)	Prebiotic	Age of supplement ation	Intake duration	Effect on IBD
Hallert, 2003 Brotherton, 2014 James, 2015	Controlled pilot trial: quiescent UC patients (22 oat bran, 10 controls). Single-blind RCT: active CD patients without biological drug treatment (4 wheat bran, 3 controls). Single-blind RCT: remission UC patients (19 high and low RS/WB, 10 controls).	Potential prebiotics: oat bran (60g/day in diet) wheat bran (1/2 cup/day) wheat bran (WB) and amylose-associated resistant starch (RS): high RS/WB (15g RS+12g WB/day) or low (2-5g RS+2-5g WB/day)	mean age (control, substrate)= 24.33-43 and 33.3-44 years old	17 days - 3 months	Good tolerance of oat bran, wheat bran and resistant starch for UC patients, of wheat bran for CD patients. Oat bran decreases abdominal pain and gastroesophageal reflux for UC patients, increases butyrate concentration. Wheat bran increases IBDQ scores and decreases pHBI scores for CD patients. No impact of RS/WB diet on disease for UC patients but changes SCFAs concentrations.
Hanai, 2006	Multicenter DB RPCT: quiescent UC patients UBT (45 curcumin, 44 controls).	Potential prebiotic: curcumin (2g/day)	mean age (control, curcumin)= 39.7 and 45.2 years old.	6 months	Curcumin decreases the recurrent rates (intention to treat) and the recurrence status, reduces CAI and endoscopic index.
Kanauchi, 2003 Hanai, 2004 Faghtoori, 2014	Non-controlled open-label multi-center trial: 21 mild/moderately active UC patients UBT. Non-randomised open-label trial: UC patients in remission and UBT (22 GBF, 37 controls). Pilot open-labeled trial: remission patients with mild/moderately active UC UBT (23 GBF, 23 controls).	GBF (20-30g/day, 35% hemicellulose rich fiber, 48% insoluble glutamine rich protein)	mean age (control, GBF) = 33-40.7 and 33.9-42.5 years old	2-24 months	GBF lowers steroid dose and decreases visible blood in stool and nocturnal diarrhea. GBF reduces abdominal pain and cramping, improves the clinical activity index and lowers the cumulative recurrence rate.
Lindsay, 2006 Casellas, 2007 Benjamin, 2011 De Preter, 2013	Non-controlled pilot open-label trial: 10 moderately active CD patients under baseline treatment with Prebio 1. DB RPCT: moderately active CD patients under baseline treatment (54 Synergy 1, 49 placebo). DB RPCT: inactive/mild/moderately active CD patients under baseline treatment (31 OF-IN, 25 placebo). Pilot RPCT: mild/moderately active UC patients under baseline treatment and lower fiber diet (10 Synergy 1, 9 placebo).	Prebio 1 / Synergy 1 (12-15 g/day, 70% oligofructose FOS + 30% inulin) Oligofructose-enriched inulin (20g/day, OF-IN, 1:1 oligofructose:inulin)	mean age (placebo, Prebio 1/ Synergy 1) = 36-37 and 37-46 years old	2-4 weeks	Side effects of Prebio 1 and Synergy 1: increase of the severity of flatulence, borborygmi and abdominal pain. Synergy 1 and OF-IN induce more withdrawals due to worsening symptoms. Prebio 1 decreases the DAI and increases practitioner and patient global assessment score. Prebio 1 and Synergy 1 change cytokines DC production and microbiota composition. Synergy 1 doesn't change the clinical response. OF-IN decreases the clinical DAI, impacts microbiota composition and SCFAs production.
Hafer, 2007	Prospective pilot RCT: active UC (7 with lactulose, 7 control) and CD (8 lactulose, 9 controls) patients UBT.	Lactulose (10g/day)	mean age (depending on condition) = 30.7-38.8 years old	4 months	Lactulose has no effect on UC or CD. Lactulose improves the IBDQ for UC patients.
Fujimori, 2009	RCT: remission/mildly active UC patients UBT: 3 groups of 40 with either probiotics, prebiotics or synbiotics.	Psyllium (9g/day)	mean age (depending on condition) = 35-37 years old	4 weeks	Psyllium increases the IBDQ factor "bowel function".

In vitro studies

Several *in vitro* studies aimed to decipher the potential direct effects and mechanisms of prebiotics on inflammation (Table 1, Table 2). Amongst them, only two studies focused on the preventive effects of prebiotics whereas 13 articles investigated the treatment of inflammation by prebiotics. Different intestinal and immune models were used, ranging from murine and porcine cell lines, primary equine and human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) to human samples of feces and *ex vivo* intestinal tissues from patients and piglets. A few cell lines from other cell types like human epidermoid carcinoma (Hep-2) cells and human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) cells were also used. Most of these *in vitro* studies focused on the potential therapeutic effects of the oligosaccharides, GOS and HMO constituents, and fructans like FOS and inulin.

Prevention

The preventive effects of prebiotics were investigated in two studies that both used immune cells as *in vitro* model (Table 1). Different mixtures of prebiotics (GOS, GOS+FOS, GOS+FOS+acidic oligosaccharides (AOS)) were tested in the first study on primary equine PBMC before and while being stimulated by lipopolysaccharides (LPS) [77]. These prebiotics increased in a dose-dependent manner the production of TNF- α by PBMC, hence enhancing inflammation. They reduced also the PBMC production of IL-10, so potentially decreased tolerance. It should be noted that a minor endotoxin contamination was assessed in the tested prebiotics that could biased the results. The second study used orange pectin and side chain-derived polysaccharides on the murine macrophage cell line RAW 264.7 prior to the induction of inflammation by LPS or a TLR agonist called Pam3CSK4 [78]. Both prebiotics promoted anti-inflammatory effects by suppressing the IL-6 secretion induced by inflammation [78]. The two studies used different models and prebiotics and do not constitute a representative and sufficient number to sufficiently assess the *in vitro* existence of a preventive effect of prebiotics. Further investigation is needed with a homogenized study design taking into account the impact of the type, the duration and concentration of prebiotic intake, the *in vitro* model tested and based on specific output parameters which are all necessary for a correct comparison between studies.

Treatment

- *Intestinal in vitro models*

Seven identified *in vitro* studies used intestinal models to investigate the therapeutic potential of prebiotics: mostly human cell lines like HT-29, Caco-2 or porcine cell lines like PS1c1 and IPEC-J2 (Table 2). Adult colonic tissue and immature small intestinal human tissues served also as models. Some studies used directly feces from adult IBD patients or pre-weaned piglets, as part of a complex GI tract model comprising a fermentation step in vials. The induction of inflammation took place essentially by adding LPS with or without pro-inflammatory cytokines

like TNF- α , IFN- γ or IL-1 β . Infections by pathogens such as *Salmonella* and *Listeria* worked as well. Positive changes of microbiota activity, including SCFA production, and changes of composition were promoted by prebiotics. Indeed, apple pectin increased the abundance of butyrate-producing bacterial strains including *S. variable*, *R. hominis* and *F. prausnitzii* and butyrate concentrations in feces from UC and CD patients [79]. Another example is that the collected supernatant of rye bran-fermentation made in a pre-weaned porcine GI tract model induced an increase of *Bifidobacterium* species in IPEC-J2 cells while citrus and chicory pulp fermentation increased the production of acetate [80]. Prebiotics modulated the expression of genes related to the integrity of the intestinal barrier, and genes related to inflammation, towards a decrease of potential barrier damage. Namely, an upregulation of MUC1 and Occludin expression was induced by fermented chicory pulp supernatant in the same GI tract model mentioned above, while TNF- α and COX2 were downregulated [80].

- *Immune in vitro models*

Five *in vitro* studies investigated the effects of prebiotics on primary human and murine immune cells, either classically stimulated with phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) and ionomycin, or with LPS, or with TNF- α (Table 2). The maturation, functions and secretion profile of the immune cells were impacted by the supplementation with prebiotics. The acidic fraction of human milk oligosaccharides (aHMO) reduced lymphocytes and neutrophils adhesion to human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) as well as increased CD25 expression on T cells, and IFN- γ production [81,82]. Depending on the prebiotic, like inulin, pro-inflammatory cytokines were increased instead: IL-6, TNF- α , IL-17 [67]. Regarding T cells maturation, short chain GOS + long chain FOS treatment on dendritic cells led to IL-10 production and Treg differentiation [68].

Preclinical studies

In line with *in vitro* studies, animal studies confirmed a beneficial effect of a large panel of prebiotics on IBD development (Table 1, Table 2). Six preclinical studies focused on colitis prevention by prebiotics. Eight preclinical studies used prebiotics as treatment of colitis, including 3 studies as early age intervention with post-weaned old mice and rats. The animal models were mainly murine, with transgenic or wild-type mice and rats raised or not under specific pathogen free conditions. IBD dogs accounted also for the *in vivo* models.

Most of the studies induced IBD by chemical agents such as dextran sodium sulfate (DSS) or 2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS). Few studies employed infection models like *Salmonella*, *Listeria* or *Citrobacter rodentium*, although as the latest is a natural mouse pathogen, to induce colitis [83,84]. It should be noted that the described IBD models are principally based on acute induction protocols, so the chronic effects on the immune, host and microbiota systems are not represented. Among the various types of prebiotics administrated to the animal models, fructans like FOS and inulin were the most common. Prebiotic formulation (diet, infant formula, soluble in drinking water) and administration routes (enema, intragastric infusion, ad libitum)

were quite different depending on the studies. Duration of prebiotics intake was heterogeneous as well, going from 10 days to 180 days.

Prevention

The preventive effects of prebiotics were tested only in adult mice and rats (Table 1)). They confirmed mechanisms seen previously *in vitro* on the gut microbiota and the immune system. On microbiota, pea starch increased caecal abundance of beneficial bacteria like *Bacteroidetes* and decreased pathogens like *E. coli* in SPF housed C57BL/6 mice [85]. Caecal SCFA production was also promoted by FOS administration in WISTAR rats, with an increase of butyrate and also lactate concentrations which lowered the luminal pH. The acidification of the luminal content may inhibit the development of pathogens and enhance the growth of lactic acid bacteria [86]. On immune scale, Kittana and colleagues demonstrated that galacto-oligosaccharides (GOS) given 2 weeks before *C. rodentium* colitis induction attenuated disease severity [70]. The decrease of clinical symptoms and colitis severity by prebiotics intake was linked notably to a decrease of immune cells infiltration in the gut, and a decrease of pro-inflammatory cytokines secretion such as IL-17A or TNF- α [78]. Further investigation of the preventive effects of prebiotics is needed as no study analyzes the impact of prebiotics in newborns or even at maternal scale during gestation.

Treatment

- Early life

Prebiotics as a treatment mainly for spontaneous colitis was investigated in newborn piglets and post-weaned rats and mice (Table 2). Similar to *in vitro* and *in vivo* preventive studies, prebiotics influenced the microbiota composition and SCFA production. FOS increased faecal *Bifidobacterium* spp. and decreased faecal *Enterobacteriaceae* in 4 weeks old HLA-B27 TG rats while inulin increased caecal butyrate concentration in 4 weeks old C57BL/6 mice. The production of pro-inflammatory cytokines like IL-1 β and TNF- α were decreased by 3-sialyllactose HMO intake in 4 weeks old *IL-10*^{-/-} mice [87]. Although, the anti-inflammatory effects and beneficial effects of prebiotics on microbiota were mitigated, disease severity and clinical symptoms (body weight, spleen, colon and caecum) were still improved by prebiotics intake early in life for these animal models.

- Adulthood

In adult murine models but also in IBD dogs, several mixtures of prebiotics were tested and different induction protocols for colitis were used (Table 2). Similar to early life studies, regulation of/shift in the gut microbiota represents one mechanism by which prebiotics elicit anti-inflammatory effects. They increase both the diversity of the microbiota and beneficial strains of the *Firmicutes* phylum, and the balance of SCFA shifts as a result towards the production of anti-inflammatory molecules including butyrate [88,89]. The physical gut barrier is also improved by prebiotics consumption. Germinated barley stuff reduces for example the DSS-

induced disruption of collagen and reticulin fibers in the intestinal mucosa [90]. An overall improvement of clinical symptoms like colonic damages, histological scores and the disease index were observed following prebiotic treatment, except for IBD dogs.

To conclude on this part, *in vivo* studies showed promising results toward a beneficial effect of prebiotics on IBD treatment and prevention. However, studies at early age or even during gestation are lacking to fully assess the preventive effects of prebiotics. A harmonization of protocols based on inflammation induction and prebiotics intake, should be done in order to compare different prebiotics. In that sense, chronic induction of colitis should be studied as well to complete our knowledge on immune modulation by prebiotics.

Clinical studies

We found 13 studies using prebiotics to treat IBD (Table 2). All studies were achieved in adults and exclusively as a treatment of the pathology. Few placebo-controlled randomized clinical trials were available, with a relative small number of participants considering the microbiota variability (~ 30 individuals per condition) under prebiotics consumption in IBD. There were mostly pilot trials investigating the effects of a few prebiotics, mainly germinated barley foodstuff (GBF) and mix of oligofructose and inulin. Potential prebiotics such as oat and wheat bran were also tested. Indeed, dietary fibers have interesting properties like the enhancement of immune and intestinal functions including transit and stool consistency [64]. UC and CD patients enrolled for these studies presented mild to moderately active disease and some studies analyzed patients in remission. The microbiota composition and metabolism were also impacted, with an increase of faecal *Bifidobacteria* following the intake of the mix “Prebio 1” of FOS and inulin [91]. Oat bran, a potential prebiotic, increased faecal butyrate concentrations [92]. Immunological parameters were affected by prebiotics consumption as seen with the increase in IL-10 dendritic production and the reduced IL-6+ dendritic cells population induced by FOS administration [93]. Prebiotics appeared to decrease inflammation markers like calprotectin and symptoms in patients leading to the decrease of steroid medication, as seen with GBF consumption by UC patients in remission [94,95]. Even though the clinical disease activity index and recurrence rate might decrease with prebiotics intake [95], more withdrawals of patients were observed for supplemented groups [93,96]. This result underlined worsening symptoms, side effects and discomfort which can accompany the supplementation in prebiotics. Withdrawals took place mostly in studies where CD patients had moderately active disease. UC patients in remission responded more favorably to prebiotics as no withdrawals were observed in the identified studies.

So the degree of disease activity index and the type of disease are important parameters to take into account for the design of future trials and for the general comprehension of prebiotics effects on IBD symptoms. Withdrawals raise also the question of the loss of important data which could lead to the risk of underestimating the values of the measured parameters. Moreover, no clinical study reports the preventive effects of prebiotics on IBD. Therefore, new clinical studies are needed to further investigate the potential of prebiotics in IBD care. More

patients must be included in clinical trials, and prebiotics intake should be homogenized, for types, concentrations and duration of the supplementation. Treatment of pediatric IBD patients with prebiotics should be investigated, as well as the prevention of IBD by prebiotics at different ages (infancy, adulthood) but also during pregnancy. Prevention may be investigated with the support of concepts like IBD-associated bacterial strains: a reduction of tolerogenic strains of *Bacteroidetes* and *Firmicutes* phyla can for example promote IBD [75]. Environmental factors correlated with IBD, including maternal predispositions and lifestyle, may also lead the research on preventive strategies with prebiotics.

Conclusion on prebiotics

To conclude on the effects of prebiotics in IBD, we have to first underline that prebiotics managed to act on different biological systems: the immune system, the host gut barrier and the gut microbiota in different models and species. Promising results were achieved *in vitro* and *in vivo*, and showed beneficial effects of prebiotics on IBD prevention and treatment, at early age and adulthood. However, more mitigated results were achieved in clinical trials which only focused on treatment of IBD. A better tolerance of prebiotics was observed in UC patients in remission or with mild active disease, accompanied by an improvement of clinical symptoms. Additional homogenized studies, especially clinical trials, are needed in order to better understand the preventive effects of prebiotics and to determine the window of opportunity for the treatment of IBD with prebiotics. The age and stage of disease of the individual represent important parameters to take into account.

Key ideas - Prebiotics:

- Reduction of inflammation *in vitro* and *in vivo* with prebiotics:
 - Modulation of immune cells functions/cytokines secretion/maturation,
 - Modification of microbiota activity/composition and host genes expression.
- Mitigated results for clinical trials: UC patients in remission show a decrease of clinical symptoms after prebiotics intervention while the presence of an active disease induces more withdrawals.
- Limitations:
 - Harmonization of protocols and prebiotics intake are needed,
 - Lack of studies and clinical trials, especially on prevention at early age and during gestation. Characterization needs to be done on which criteria prevention should be considered.

PROBIOTICS**Probiotics and IBD treatment**

Probiotics are defined as “live microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host” [97]. Probiotics have different mechanism of action, like competitive interactions with deleterious bacteria via a production of anti-microbial metabolites, bacteriocins, and defensins. They have immunomodulatory properties through the increase of the mucus layer and anti-inflammatory molecules [98]. Several probiotics show beneficial effects in the pathogenesis of IBD and will be discussed below.

***In vitro* studies**

Eight selected studies are interested in the preventive and protective effects of probiotics in cell models challenged with inflammatory stimuli and one other focused on therapeutic effects (Table 3). Main studies used intestinal epithelial models (HT-29, Caco-2 cells, LS 174T human colonic epithelial cells and colon from IBD patients) and only two investigated an immune model (human PBMC). Inflammation was mainly induced by pro-inflammatory cytokines. The 4 main and most promising probiotics tested are VSL#3, *Saccharomyces boulardii*, *Faecalibacterium prausnitzii* and *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN1917).

Prevention

First of all, the **VSL#3** probiotic mixture contains 4 strains of *Lactobacillus*, 3 strains of *Bifidobacteria* and the *Streptococcus thermophilus* strain [99]. Pre-treatment with VSL#3 on disrupted HT-29 cells during 48 hours improved epithelial barrier integrity by increasing tight junction proteins via an activation of p38 and ERK pathways [100]. Furthermore, a study highlighted that treatment of Caco-2 cells with this probiotic combination increased the expression of hBD-2 mRNA, *i.e.* β 2 defensin. This anti-microbial peptide stabilizes the barrier

functions of the gut via the regulation of NF- κ B and AP-1, known to also be involved in the regulation of pro-inflammatory cytokines. Interestingly, the contribution of NF- κ B and AP-1 was different for the activation of hBD-2 depending on the strain [101]. Finally, this study highlighted that heat-killed bacteria were also shown to exhibit the ability to stimulate defensin secretion. It remains to investigate which components induce the defensin expression. Nevertheless, stimulation with VSL#3 or the individual bacterial cultures on human colonic epithelial cell did not have any significant effect on mucin secretion [102]. Indeed, mucin secretion have an essential role in the epithelial barrier strengthening [103,104]. Regarding *S. boulardii* effects, stimulation of TNF- α or IL-1 β -challenged HT-29 cells pre-treated with this bacteria decreased IL-8 expression by up-regulated PPAR- γ , thus suppresses NF- κ B activation mediated by TNF- α [105]. Besides, other studies have shown that the supernatant of **EcN1917** and *S. boulardii* on inflamed intestinal cells reversed the permeability increase and attenuated the alteration in junction protein distribution like claudin-1 and E-cadherin. However, these studies focused on the supernatants of the bacterial cultures, suggesting a role for their bacteria-produced metabolites. These effects will be discussed in the postbiotic section below [106,107]. There are considerable evidences that suggest an important role for *Faecalibacterium prausnitzii* in IBD. Indeed, IBD patients present a loss of *F. prausnitzii* in their gut microbiota, associated with an increased inflammation. This *Firmicutes* bacterial strain is the most preponderant in human microbiota [108]. Caco-2 cells stimulated with *F. prausnitzii* extracellular vesicles (EVs) strengthened IEB by increasing tight junction-associated genes expression, such as ZO1 and OCLN genes. However, *F. prausnitzii* have no effect on Caco-2 cell line [109]. Finally, other bacteria have promising effects in IBD. Indeed, stimulation of human PBMC with *Propionibacterium freudenreichii* shows anti-inflammatory effects by increasing the IL-10/IL-12 ratio [110].

Table 3. *In vitro* studies with probiotics in IBD.

<i>In vitro</i> studies					
Reference	Model (+inflammation)	Probiotic type + concentration	Treatment duration	Effect on IBD	Mechanisms
Prevention					
Schlee, 2008	Caco-2 cell line Inflammation: no	Pre-treatment VSL#3 or strains from this mixture or EcN1917 heat inactivated 10 ⁶ or 10 ⁹ CFU/mL	6 hours	Increases expression of hBD-2 mRNA, i.e. β 2 defensin.	via the regulation of NF-kB and AP-1.
Caballero-Franco, 2007	LS 174T human colonic epithelial cell line Inflammation: no	Pre-treatment VSL#3 or strains from this mixture conditioned medium 10 ⁷ CFU/mL	4 hours	No effect on mucin secretion.	
Le Maréchal, 2015	Human PBMC Inflammation: no	Pre-treatment Propionibacterium freudenreichii ITG P20 10 ⁶ , multiplicity of infection (MOI): 1:5	24 hours	Anti-inflammatory properties.	increases IL-10/IL-12 ratio.
Dai, 2012	HT-29 cell line Inflammation: TNF- α 48h +/- inhibitor p38 MAPK or ERK or JNK inhibitor	Pre-treatment VSL#3	48 hours	Improved epithelial barrier integrity by restoring TJ protein.	activation of p38 and ERK pathways.
Wang, 2019	Caco-2 cell line Inflammation: SN-38 10 μ M	Pre-treatment EcN1917 supernatant	2 days		restores the localization and altered distribution of claudine 1.
Terciolo, 2017	Colon from IBD patients	Pre-treatment <i>S. boulardii</i> supernatant	48 hours		enhances E-cadherin delivery to the cell surface.
Lee, 2009	HT-29 cell line Inflammation: TNF- α 20 ng/mL or IL-1 β 20 ng/mL 6 hours	Pre-treatment <i>S. boulardii</i> 5-20 yeast per 1 HT29 cell	24 hours for PPAR γ experiment or 12 hours before treatment with TNF- α and IL-1 β (6 hours)	Anti-inflammatory properties.	up-regulates PPAR γ , thus suppresses NF-kB activation leading to a decreased IL-8 expression.
Moosavi, 2020	Caco-2 cell line Inflammation: no	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i> or its extracellular vesicles (EVs) MOI: 10 <i>F. prausnitzii</i> per 1 epithelial cell	24 hours on Caco-2 cell line	<i>F. prausnitzii</i> EVs strengthens the IEB. <i>F. prausnitzii</i> have no effect on Caco-2 cell line.	<i>F. prausnitzii</i> EVs increase the expression of ZO1 and OCLN genes and PPAR α , PPAR γ and PPAR δ /5 genes. <i>F. prausnitzii</i> have no effect on Caco-2 cell line.
Treatment					
Barbaro, 2018	Caco-2 cell line Inflammation: TNF- α (50ng/mL) or IFN γ (200 ng/mL) 6 hours	Treatment: EcN 1917 10 ⁸ CFU/mL	6 hours	Improved epithelial barrier integrity.	
Sokol, 2008	Caco-2 cell line and PBMC Inflammation: IL-1 β (15 μ g/mL) - 6 hours	Treatment: <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> or supernatant MOI: 100:1 (Caco-2 cell line) and 10:1 (PBMC)	6 hours on Caco-2 cell line and 24 hours on PBMC	Anti-inflammatory properties.	<i>F. prausnitzii</i> supernatant inhibits NF-kB activation leading to a decreased IL-8 expression. Increased IL-10 and decreased IL-12 and IFN- γ .

Treatment

Only one study showed that treatment with EcN1917 on Caco-2 cells challenged by pro-inflammatory cytokines reverted the increased permeability and restored disrupted epithelial barrier (Table 3). Regarding *F. prausnitzii*, stimulation with *F. prausnitzii* supernatant on Caco-2 cells challenged with IL-1 β exhibited anti-inflammatory properties. Indeed, it inhibited NF-kB activation leading to a decreased IL-8 expression. Besides, *F. prausnitzii* induced an increased production of IL-10 and a reduced production of pro-inflammatory cytokines by PBMCs. However, these effects are only found with the bacterial supernatant suggesting a role of the bacteria via the production of metabolites [38].

Preclinical studies

Eight studies examined the preventive effects of probiotic on colitis animal model and agree that probiotics protect against induced colitis in animals (Table 4). Eleven selected studies focused on the therapeutic action and mainly demonstrated a lowering of inflammation by probiotics in animals with induced colitis.

Prevention

- Adulthood

The protective role of VSL#3 probiotic mixture was investigated in one study which shows anti-inflammatory effects in an 8-weeks-old mouse colitis model [111]. Authors show that pre-treatment with VSL#3 reduced basal colonic inflammation and improved epithelial barrier function in wild-type mice treated with DSS as well as in Muc2^{-/-} DSS-treated mice. These results suggest that the VSL#3 probiotic mixture is effective in the absence of mucus. This is consistent with *in vitro* studies of VSL#3 showing that this probiotic has no effect on mucin secretion [102]. Besides, these effects, are correlated with a restoration of antimicrobial peptide gene expression and an increase of commensal bacterial abundance, mediated by SCFA [111]. Other studies also show the protective effects of EcN1917 on colitis models in mice. Pre-stimulation of mice with EcN1917 promoted recovery of inflammation by modulating tight junction protein, such as claudin-1, ZO-1 and occludin [106,112]. EcN1917 also ameliorates the barrier function of the colonic mucosa by increasing Muc-2 and Muc-3 expression [112]. Besides, EcN1917 modulates the gut microbiota by restoring the *Firmicutes/Bacteroides* ratio and α -diversity indexes to normal values [106,112]. Two studies investigated the preventive role of *F. prausnitzii* in a model of TNBS-induced colitis. Overall, this microorganism reduces the severity of colitis in animals by decreasing pro-inflammatory cytokines levels and increasing IL-10 [38]. Besides, *F. prausnitzii* corrected dysbiosis in TNBS-induced colitis [38]. Regarding *Propionibacterium freudenreichii* CIRM-BIA 129, two studies highlighted its preventive effects on colitis models in mice [113,114]. *P. freudenreichii* CIRM-BIA 129 decreases reduced pro-inflammatory cytokines and increases PPAR- γ mRNA expression in the colon, suggesting an action through PPAR- γ pathway [113,114]. Besides, this probiotic decreased Cox-2 mRNA expression, a key enzyme in the metabolism of inflammatory lipid mediators [113]. However,

with the preventive consumption of *P. freudenreichii* CB 129 did not induce major change in the faecal sample of TNBS mice, suggesting that the intestinal bacterial community is not the direct target of this probiotic [113].

Treatment

- Adulthood

Most studies support the beneficial effects of the probiotic VSL#3 in animal models of induced colitis. However, several studies in DSS-induced colitis model indicated mitigated results on inflammation and IEB protection. As an example, studies indicated its protective role, in a preventive mode [115]. In DSS-treated mice, there was a loss of TJ protein, such as ZO1, claudin-1, -3 and -5 but this loss disappeared when the mice received the probiotic [116]. Rats with DSS-induced colitis also exhibit an increase of inflammatory markers such as iNOS, COX2, IL-6 and TNF- α as well as increased expression of phosphorylated Akt. In this model, VSL#3 acted as wortmannin, a PI3K inhibitor by decreasing the expression of phosphorylated Akt, as well as the various marker of inflammation [115]. This highlights the importance of the PI3K/Akt signaling pathway in such protective effect [115]. In a study of Gaudier *et al.* in 2005, the mice were treated with the probiotic once a day, starting on day 5 after the induction of colitis for a period of 2 weeks. This study did not show/demonstrate any anti-inflammatory effects of VSL#3 in a mouse model of DSS-induced colitis [117]. However, they demonstrated a change in the intestinal microbiota. Herein, *B. infantis* Y1, present in the VSL#3 mixture, was found in the caecal microbiota of mice supplemented with the probiotic. In addition, the authors reported an increase in *Bifidobacterium ssp.* and *Lactobacillus ssp* as well as a trend towards an increase in the metabolic potential of the caecal microbiota with an increased fermentation on lactose for example [117]. Regarding *S. boulardii*, its consumption by rats with induced colitis decreased the severity of the disease, and reduced the level of pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, TNF- α , as well as the expression of iNOS [105]. Dalmasso *et al.* in 2006 also supported the benefits of *S. boulardii* to mice with induced colitis [118]. They both demonstrated a preventive action of this yeast when administered on day 0 and also a curative action when the mice were treated for 1 to 3 weeks. Then, EcN1917 administration improved the symptoms of DSS-induced colitis in mice, by decreasing pro-inflammatory cytokines secretion, in particular via the TLR2 and TLR4 pathway [119]. Finally, *F. praustnitzii* reduced colitis severity and induced a quick recovery after colitis induction on mice and rats [120–123]. This probiotic strengthens the IEB by increasing colonic tight junction proteins and lowering intestinal permeability [121,123]. Besides, anti-inflammatory effects have also been reported with a decrease IL-4, IL-6 and INF γ levels in colonic samples of DNBS-induced colitis in mice [121]. Furthermore, *F. praustnitzii* have also an impact on immune cells. Indeed, reduced T-cells levels and Th17/Treg ratio have been observed. *F. praustnitzii* induced Treg cells by inhibiting the IL-6/STAT-3/IL-17 pathway. Interestingly, these effects were significantly higher with the bacterial supernatant. Further studies showed that butyrate production by the bacteria inhibited HDAC and thus regulated the Th17/Treg balance [122].

Table 4. Preclinical studies with probiotics in IBD.

Preclinical studies	Reference	Model (animal, inflammation)	Probiotic type + concentration	Age of supplementation	Prevention		Effect on IBD	Mechanisms
					Intake duration			
	Kumar, 2017	Muc2 ^{+/+} and Muc2 ^{-/-} C57BL/6 mice. Inflammation: 1% DSS for 15 days	VSL#3 or SCFA mixture 2.25.10 ⁹ CFU/mouse/day	12 weeks old	3 days prior to administration of DSS until day 15.		VSL#3 reduced basal colonic inflammation and improved epithelial barrier function in Muc2 ^{-/-} mice + DSS	attenuated ROS production by macrophages restoration of antimicrobial peptide gene expression and VEGF increased abundance of commensal bacteria in the gut. Effects mediated by acetate in the absence of a mucus barrier.
	Guo, 2019	Male C57BL/6J mice. Inflammation: septic mice model induced by cecal ligation and puncture = intestinal barrier dysfunction	EcN 1917 10 ⁹ CFU/mL	8 weeks old	2 weeks before CLP oral gavage every day			ameliorated the decreased expression of TJ proteins (ZO1, claudin1, claudin2, occludin).
	Wang, 2019	Male BALB/c mice. Inflammation: irinotecan : metabolized in SN-38 = involved in the development of irinotecan-induced mucositis.	EcN1917 viable or heat inactivated 10 ⁸ CFU/mL	6-8 weeks old	13 consecutive days, at day 10 irinotecan IP injected		EcN 1917 protects the intestinal barrier function against inflammation	inhibited the decrease of claudin-1 expression modulated gut microbiota : restore the indice of richness and diversity to normal values.
	Rodríguez-Nogales, 2018	Male C57BL/6J mice. Inflammation: 3% DSS for 6 days.	EcN1917 5.10 ⁸ CFU/day	7-9 weeks old	26 days 2 weeks before colitis induction			reduced the up-regulated expression of the pro-inflammatory cytokines IL-1β and IL-12 reduced the increase expression of the adhesion molecule ICAM-1. ameliorated expression of different markers involved in the epithelial integrity and barrier function of the colonic mucosa (MUC-2, MUC-3, occludin and ZO1). attenuate the increase of Firmicutes phylum and increased <i>Cyanobacteria</i> + restoration of the <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> ratio. decreased secretory IgA concentration in small bowel
	Rabah, 2020	Female C57BL/6 mice. Inflammation: 3% DSS for 7 days.	<i>P. freudenreichii</i> CIRM-BIA (CB) 129 10 ⁹ CFU /g of single strain cheese	8 weeks old	5 days before colitis induction		<i>Propionibacterium freudenreichii</i> CB 129 protects the intestinal barrier function against inflammation	prevented iNOS induction reduced proinflammatory cytokines (TNF-α, IL-1β, IFN-γ)
	Plé, 2015	Female BALB/c mice. Inflammation: TNBS for 5 days.	<i>P. freudenreichii</i> CB 129 10 ⁹ CFU / 100 mg of axenic cheese	6 weeks old	5 days before colitis induction			modulated local and systemic inflammatory markers (IL-6, SAA, MPO and Cox-2) increased ZO1 mRNA levels no effect on gut microbiota
	Sokol, 2008	Male BALB/c mice Inflammation: TNBS, 48h	<i>F. prausnitzii</i> by intragastric inoculations 10 ⁹ CFU/inoculation	7- to 8-week-old	5 days before colitis induction oral gavage every day		<i>F. prausnitzii</i> reduced colitis severity	corrected dysbiosis reduced proinflammatory cytokines (TNF-α, IL-12) and increased IL-10

Clinical studies

Four clinical studies show beneficial effects of probiotics, including *S. boulardii* in patients in CD remission (Table 5). Very few studies suggest a curative effect of probiotics in Crohn's disease whereas *its effect appears more reliable in UC*. Indeed, 3 studies promoted the preventive effects of probiotics on UC patients in remission and 5 others, the therapeutic effects on active UC patients. The most effective probiotic is VSL#3 for both maintenance of remission and treatment.

Crohn's disease

- *Prevention*

Very few studies have investigated the ability of probiotics to keep children with CD in remission (Table 5). One study compared the protective effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG (L.GG) on 39 children with CD for 2 years with placebo group. No significant difference was found between the children who received the probiotic as an adjuvant to standard therapy [124]. Regarding adult CD patients, *S. boulardii* showed encouraging effects in maintaining the remission in CD patients. First, a pilot study showed that *S. boulardii* in combination with current treatment during 7 weeks significantly reduces the Crohn's disease activity index CDAI and bowel movements per day [125]. Moreover, supplementation with *S. boulardii* during 3 months improved IEB integrity in CD patients and maintained the remission in adult CD patients, in addition to the mesalamine treatment, an anti-inflammatory drug use to treat IBD, during 6 months [126,127]. Clinical relapses were observed in 6.25% of patients receiving the probiotic compared to 37.5% in patients under mesalamine alone, supporting the interest of using *S. boulardii* in the maintenance treatment of CD [126].

- *Treatment*

There is a real lack of evidence regarding the treatment of active CD patients with probiotics (Table 5). L.GG was tested on adult patients with active CD [128]. During 6 months, patients received L.GG once a day, 2 patients out of 4 sustained remission and 2 relapses. This study failed to show any significant benefit of L.GG in inducing remission compared to the placebo group [129].

Table 5. Clinical studies with probiotics in IBD.

Clinical studies						
Crohn's disease (CD)						
Reference	Study design	Probiotic type and concentration	Age of supplementat ion	Intake duration	Effect on IBD	Relevant mechanisms
Prevention / Remission phase						
Early life						
Bousvaros 2005	39 children CD in remission and 36 in placebo group	L. GG 10*10 bacteria	5-21 years old	2 years twice daily	no extension of time before relapse in children with CD when given as an adjunct to standard therapy	
Adult						
Garcia Vilela 2008	34 patients placebo or probiotic + baseline medications was maintained	S. <i>boulardii</i> 4x10^8 cells	adult patients (>18y)	3 months every 8 hours	improved barrier fuction but complete normalization was not achieved	improved intestinal permeability decreased lactulose/mannitol ratio
Guslandi 2000	32 patients with CD in clinical remission (CDAI < 150)	mesalamine (3 times a day) or mesalamine (2 times a day) + S. <i>boulardii</i> 1 g		6 months daily	clinical relapses were observed in 37.5% of patients receiving mesalamine alone (3 times a day) and in 6.25% of patients with both. Probiotics is interesting as part of the maintenance treatment of CD.	
Plein and Hotz 1993	10 patients in the probiotics group and 7 in placebo group	S. <i>boulardii</i> 250 mg in addition to the basic treatments		7 weeks	significant reduction in the frequency of bowel movements, evacuations per day and of the CDAI	
Treatment / Active phase						
Early life						
Lack of clinical trial						
Adult						
Schultz 2004	11 patients with moderate to active CD	L.GG 2.10^9 CFU/day or placebo	adult patients (>18y)	6 months	could not demonstrate a benefit of L. GG in inducing remission. 2 patients/5 in probiotics group sustained remission and 2/4 relapsed. With placebo: 2/5 remission and 3/5 relapse.	

Clinical studies

Ulcerative colitis (UC)						
Reference	Study design	Probiotic type and concentration	Age of supplementat	Intake duration	Effect on IBD	Mechanisms
Prevention / Remission phase						
Early life						
Lack of clinical trial						
Adult						
Tursi 2010	65 UC patients with probiotics and 66 with placebo	VSL#3 3,600 billion CFU/day	adult patients (>18y)	8 weeks	Remission was higher in the VSL#3 groups vs placebo	
Kruis 2004	327 patients: probiotic (162) or mesalazine	EcN1917 200 mg		once daily	Efficacy and safety equivalent to the gold standard mesalazine in patients with UC, suggesting the importance of gut microbiota .	
Kruis 1997	120 patients with inactive UC were included, comparing mesalazine to EcN1917	EcN1917		12 weeks		
T treatment / Active phase						
Early life						
Huynh 2009	13 mild to moderate acute UC	VSL#3 10-20 billion bacteria per dose	3-17 years old	8 weeks twice daily	Remission was achieved in 56% of children (SCCAI<3), response in 6% and no change or worsening in 39% Adverse effects: 67% (bloating and flatulence ...)	Modification of the gut microbiota composition Reduction of inflammatory marker (serum levels of TNF-α, CRP dropped, IFNγ)
Adult						
Sood 2009	77 mild to moderate UC patients with VSL#3 and 70 placebo	VSL#3 3.6.10^12 CFU	adult patients (>18y)	12 weeks twice daily	33 patients given VSL#3 (42.9%) who achieved remission (p<.001) vs placebo significantly more patients VSL#3 : decrease UCDAI that was greater than 3 points compared with placebo groups	mucosal healing rate was significantly higher in patients in the VSL#3 groups vs placebo
Bibiloni 2005	34 mild-to-moderate UC patients	VSL#3 3,600 billion bacteria		6 weeks daily in two divided doses	remission in 53% of patients (UCDAI <2); response (decrease in UCDAI >3) in 24%	
Guslandi 2003	25 patients with a mild to moderate clinical flare-up of UC	S. boulardii 250 mg with mesalazine		4 weeks 3 times a day	17/24 patients attained clinical remission	
Rembacken 1999	59 patients active UC mesalazine and 57 E. coli +standard medical therapy with a 1 week course of oral gentamicin	EcN1917		1 week and then 12 months	75% patients in the mesalazine group attained remission compared to 68% in the E. coli group. 75% patients relapsed in the mesalazine group compared to 67% in the E. coli group. Mean duration of remission was almost the same in both groups. Treatment with a non pathogenic E. coli has an equivalent effect to mesalazine in maintaing remission of UC.	

Ulcerative colitis

- *Prevention*

Two randomized clinical trials have compared the ability of EcN1917 and mesalazine to maintain remission of UC patients (Table 5). In the first clinical trial, 120 patients with inactive UC were included and received EcN1917 during 12 weeks comparing to mesalazine group. Patients from both groups showed no significant difference, except a slightly higher CAI in the EcN1917 group [130]. The clinical study was repeated on a larger cohort of patients (327 patients included) for 12 months. Efficacy and safety were equivalent to the gold standard treatment with mesalazine in patients with UC suggesting the relevance of targeting the gut microbiota [131].

- *Treatment*

Only one study focused on pediatric ulcerative colitis (Table 5). Thirteen mild to moderate children with acute UC received VSL#3 probiotic mixture twice daily for 8 weeks [132]. Results are promising with a remission achieved in 56% of children and a response to VSL#3 recorded in 6% of children. Interestingly, bacterial taxonomy changes in rectal biopsy before and after the treatment suggesting a direct effect of VSL#3 on the mucosa-attached/adherent gut microbiota. Besides, inflammatory marker such as serum level of TNF- α , IFN- γ , CRP, dropped in children given the treatment. However, 67% of children reported adverse effects, like bloating and flatulence [132]. In adults, encouraging clinical trials have highlighted the benefits of VSL#3 in the treatment of UC. Two clinical studies have shown that VSL#3 supplementation over a period of 6 to 12 weeks was effective in adults with mild to moderate UC [99,133]. Indeed, a significant proportion of patients achieved remission. In addition, Sood *et al.* in 2009 reported that mucosal healing rate was significantly higher in patients in the VSL#3 groups, contrary to animal and *in vitro* studies [99,102].

Besides, a clinical trial showed that *S. boulardii* supplementation of UC adult patients with clinical flare-up was effective [134]. In fact, 17 out of 24 patients reached clinical remission before/as early as 4 weeks of supplementation. Finally, evidence of EcN1917 efficacy in the treatment of UC is weaker. While a study did not show any difference between the EcN1917 group and the group treated with mesalazine, other have demonstrated that EcN1917 was an alternative to mesalazine for maintenance of remission in UC [135,136].

Conclusion on probiotics

To conclude, *in vitro* studies suggest an action of probiotics on the intestinal barrier through junction proteins increase and their anti-inflammatory effects. In addition, probiotics could also have an influence on the gut microbiota through the production of antimicrobial peptides. Animal studies support the ability of probiotics to protect animals from colitis via a reduction of inflammation,. However, knowledge about the role of probiotic on pediatric IBD in animal models and in clinical trials is still missing. Besides, probiotic studies have stronger

evidence on UC compared to CD and some probiotics such as EcN1917 have not been fully characterized in CD.

Key ideas - Probiotics:

- Actions of probiotics *in vitro* and *in vivo*:
 - Improved IEB via the regulation of TJ proteins and mucin secretion,
 - Modification of gut microbiota through the production of adenosine monophosphate and direct action,
 - Reduction of inflammation.
- VSL#3 seems to be the most effective probiotic for both maintenance of remission and treatment in IBD.
- Limitations: lack of preclinical studies and clinical trials, especially at early age and during gestation.

POSTBIOTICS

Definition of postbiotics

Postbiotics refer to **microbial components**, such as cell surface proteins, lipoteichoic acids, teichoic acids, and peptidoglycan; as well as **microbial metabolites** secreted by live bacteria or released after bacterial lysis, like short chain fatty acids, secondary bile acid and vitamins that are beneficial to health [137]. All these components will have local and systemic effects. Besides, postbiotics provide some advantages over probiotics by reducing infection and side effects shown for some bacteria. Indeed, the administration of viable probiotics to individuals with weaker immune systems, could enhanced inflammatory responses and turn 'generally recognized as safe' harmless probiotic bacteria into detrimental microorganisms. For instance, in patients with predicted severe acute pancreatitis, infectious complications occurred in 30% patients in the probiotics group supporting a deleterious effect of live bacteria in some patients [138]. The inactivation of bacteria can be achieved by physical methods such as heat treatment or chemical treatment, which can modify the structures of microbial cells or their physiological functions, thus, bacteria become unable to grow but maintain their health benefits [137].

Table 6. Primary prevention: in vitro studies with postbiotics in IBD.

In vitro studies				
Reference	Model (+inflammation)	Probiotic type + concentration	Treatment duration	Effect on IBD
Prevention				
S-layer protein				
Foligné 2010	Human PBMC.	Stimulation: <i>Propionibacterium freudenreichii</i> or bacteria without surface layer protein bacteria:cell ratio of 10:1	24h	Released anti-inflammatory cytokines but removal of Slp decreased IL-10 cytokines induction.
Wang 2018	Macrophage from the Raw 264.7 murine macrophage cell line. Inflammation: LPS (1µg/mL 20h)	Pre-treatment: Slp from <i>Lactobacillus Acidophilus</i> NCFM 1, 5 and 10 µg/mL	24h including 4h before LPS	Anti-inflammatory properties
Wang 2019	Caco-2 cells. Inflammation: TNF-α (10µg/mL 24h)	Pre-treatment: Slp from <i>Lactobacillus Acidophilus</i> NCFM 50 and 100 µg/mL	30h including 6h before LPS	Improved epithelial barrier integrity and reduced inflammation.
Cai 2020	Raw 264.7 macrophage cell line Inflammation: no	Stimulation: SlpA from <i>Lactobacillus acidophilus</i> CICC 6074 100 µg/mL	60 min	Pro-inflammatory properties
LTA				
Wang 2019	Mouse mucin-secreting goblet cell CMT-93. Inflammation: no	Stimulation: LTA from <i>Lactobacillus paracasei</i> D3-5 strain 200 µg/mL	14 hours	Anti-inflammatory properties
Mansour Mohamadzadeh 2011	Dendritic cells. Inflammation: no	Stimulation: <i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM deleted from LTA ratio 1:1	1 hour	Anti-inflammatory properties
Grangette 2005	human PBMC. Inflammation: no	Stimulation: <i>Lactobacillus plantarum</i> deficient in LTA 10 ⁹ CFU/mL	24 hours	
Claes 2012	Caco-2 cells. Inflammation: no	Stimulation: LTA from <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG 10 µg/mL	1.5 hours	Pro-inflammatory properties
Mechanisms				
				Slp participates in anti-inflammatory properties of <i>Propionibacterium freudenreichii</i> .
				Inhibition of MAPK/NF-kB signaling leading to decreased TNF-α, IL-1β and ROS secretion. Attenuation of iNOS and COX-2 expression leading to a decreased NO and PGE2 production.
				Increased TEER and reduced permeability. Restored ZO-1 and occludin expression Reduced IL-8 secretion. Inhibition of NF-kB/p65 translocation into the nucleus.
				Increased TNF-α Inhibition of PKC leading to an activation of MAPK/NF-kB pathway
				Increased MUC2 expression via TLR2/NF-kB Decreased pro-inflammatory cytokines through TLR2 thus inhibited MAPK/NF-kB pathway
				Increased IL-10 and reduced pro-inflammatory cytokines via TLR2
				Increased IL-8 expression via TLR2

In vitro studies

Reference	Model (+inflammation)	Probiotic type + concentration	Treatment duration	Effect on IBD	Mechanisms
Prevention					
SCFA					
Hung 2018	Caco-2 cells. Inflammation: TNF- α 30 ng/mL	Stimulation: Acetate (5 mM), butyrate (0.625 mM) or propionate (2.5 mM)	1 hour before TNFa stimulation	Anti-inflammatory properties	Decrease pro-inflammatory mediators IL-6 and IL-8 expression and increased IL-10 level through MCT1 and NF-kB pathway
Park 2007	Raw 264.7 murine macrophage cell line. Inflammation: IFNg 20 U/mL	Stimulation: SCFA 1 mM	30min before IFN- γ stimulation and for 24 hours		Inhibition of the expression of TNF- α , IL-6 and iNOS and enhanced IL-10 expression mediated in part by NFkB and ERK 1/2 pathway
Liu 2012	Raw 264.7 murine macrophage cell line. Inflammation: LPS 800 ng/mL	Stimulation: SCFA 1-1,200 μ M	30min before LPS stimulation and for 24 hours		Inhibition of the expression of TNF- α , IL-6, IL-1 β and iNOS enhanced IL10 expression in low concentration (1-1,200 μ M) anti-inflammatory properties via NF-kB pathway
Zheng 2020	Human immature intestinal cell line (H4 cells). Inflammation:IL-1 β 1 ng/mL	Stimulation: SCFA 5 to 30 mM	30min before IL-1 β stimulation and for 24 hours		Inhibition of IL8 secretion by inhibiting HDAC via GPR109A
MCFA/LCFA					
J. Miyamoto 2015	Caco2 cells. Inflammation: IFNg (50 ng/mL) for 24 hours follow by TNF-a (50 ng/mL) for 24 hours	Stimulation: HYA, HYB, KetoA, KetoB, KetoC 50 μ M	24 hours before inflammation	HYA: Anti-inflammatory properties Improved IEB	HYA: suppressed the increased permeability and the decreased TEER inhibited IL-8 secretion restored occludin, ZO1/2, claudin-1 and -3 expression and MLCK decreased TNFR2 and increased GPR40
Vitamin D					
Assa A 2015	Caco2 cells. Infection: adherent-invasive E. Coli (AIEC) strain LF82 (10 $\wedge$ 7 CFU)	Stimulation: Vitamin D 10 μ M	16 hours before infection	Improved IEB Protected against infection with AIEC	reduced TEER and increases permeability maintained the distribution of TJ like ZO1 and claudin 1 but no difference in the gene expression of these proteins
Wang 2010	Keratinocytes, macrophages	Stimulation: Vitamin D 100 nM	24 hours	anti-microbial properties	stimulated NOD2, HBD2 and antimicrobial cathelicidin expression via NF-kB pathway

Table 7. Secondary prevention: *in vitro* studies with postbiotics in IBD.

<i>In vitro</i> studies				
Reference	Model (+inflammation)	Probiotic type + concentration	Treatment duration	Mechanisms
SCFA				
Masui 2013	PBMC from WT mice or GPR43 ^{-/-} mice and human PBMC Inflammation: LPS (1ng/mL)	150 mM acetate	6 hours	Decreased NO, IL-6, TNF- α and IL-12 release through GPR43
Chang 2014	Bone Marrow-Derived Macrophages Inflammation: LPS 100 ng/mL	Stimulation: butyrate 100 μ M to 2 mM	24 hours	Decreased NO, IL-6, TNF- α and IL-12 release due to an inhibition of HDAC
Ji J 2016	Macrophages Stimulation: IL4 15 ng/mL	Stimulation: butyrate 1 to 200 μ M	24 hours with IL4 and then 24 hours in the presence of butyrate	M2 macrophage differentiation by increasing STAT-6 phosphorylation and decreasing H3K9 deacetylase promoted migration of macrophages by increasing CCL2 expression
Willemsen 2003	Myofibroblasts and co-culture of myofibroblast and IEC	Stimulation: SCFA 0.025 to 4.0 mM	24 hours	Increased PGE1/PGE2 promoted MUC2 expression in co-culture
Macia 2015	HT-29 cell line or NMC460 cells	Stimulation: 10 mM acetate, 2mM butyrate and 2 mM propionate	2 hours	via GPR43 signaling and induced a NLRP3 inflammasome activation
SBA				
Patricia Martinez-Moya 2013	IEC18 rat IEC (ECACC 88011801) and Caco-2 cells invasion: E. coli K12 and LF82	Stimulation: DCA or UDCA 0.5 mM to 2mM	20 hours	DCA increased IL-8 secretion, 2mM DCA was cytotoxic for cells UDCA have no effect on IL-8 secretion DCA and UDCA do not affect the capacity of enterocytes to limit bacterial translocation
Lee DK 2004	HT29 cells	Stimulation: DCA 50 to 200 μ M	30 min to 8 hours	DCA increased IL-8 secretion via NFkB activation
M. Mühlbauer 2004	HT29 cells	Stimulation: DCA 10 to 1000 μ M	16 hours	
Kazuaki Yoneno 2013	differentiated macrophages Inflammation: LPS or commensal bacterial antigen	Stimulation: DCA or LCA 10 to 100 μ M	24 hours	DCA and LCA activated NFkB pathway via TGR5-cAMP signaling and inhibited pro-inflammatory cytokines production
Pols 2017	Jurkat T cell	Stimulation: LCA 10 μ M	25 hours	LCA inhibited Th1 differentiation via VDR of CD4+ T lymphocytes LCA inhibited ERK phosphorylation via VDR and decreased Th1 cytokines like TNF- α and IFN- γ
Vitamin D				
Maria Stio 2016	biopsies from inflamed or non-inflamed area of colon from active UC patients	Stimulation: Vitamin D3 100 nM	24 hours	downregulated claudin-1 and -2 upregulated claudin-4 and -7 inhibited IL-13 and IL-6 expression reduced permeability and increased TEER
Chen 2015	Caco-2 cells Inflammation: LPS (1-10 ng/mL) 7 days	Stimulation: Vitamin D3 10 ⁻⁸ mM	7 days	restored expression and localization of ZO-1, claudin 1 and occludin 1 inhibited the downregulation of VDR by LPS

In vitro studies

Reference	Model (+inflammation)	Probiotic type + concentration	Treatment duration	Effect on IBD	Mechanisms
S-layer protein					
Rabah 2018	PMBC and MLNC from piglets fed with cheese matrix Inflammation: LPS (10 µg/mL) or ConcanavalinA (0.5 µg/mL)	Stimulation: 200 µg/mL of <i>P. freudenreichii</i> 'S-layer proteins	72h	Anti-inflammatory properties	Slp induced high IL-10 secretion in swine PBMC and MLNC. Slps inhibited the release of TNFα and IFNγ by both cell types challenged with LPS or ConA
Cai 2018	Macrophage from the Raw 264.7 murine macrophage cell line. Inflammation: LPS (100 ng/mL 19h) for the LPS-treated group or LPS (100 ng/mL 3h) for the LPS+SlpA groups	SlpA from <i>Lactobacillus acidophilus</i> CICC 6074 5, 10 or 25 µg/mL added to the LPS+SlpA groups (after LPS treatment)	16 h	Anti-inflammatory properties SlpA (25mg/kg) inhibited DSS-induced expression of TLR4, iNOS and COX-2 in colon	SlpA decreases TNF-α, IFNα, IFNβ, IL-10 and IL-1β LPS-induced levels SlpA suppresses LPS activation of TLR4 signaling SlpA attenuates LPS-induced NLRP3 inflammasome and NOD2 signaling SlpA attenuates COX-2 and iNOS expression LPS-induced levels
Do Carmo 2017	HT-29 cell line	Stimulation: <i>Propionibacterium freudenreichii</i> CRM-BIA 129 or PFCB129 S-layer extract (50 µg of proteins) bacteria:cell ratio of 100:1	60 min	SlpB is involved in adhesion to HT29 cells.	
Taverniti 2013	Caco-2 cells and human macrophage cell line U937. Inflammation: IL1β, 2 ng/mL on Caco-2 cells and LPS on U935 cells	Stimulation: SlpA from <i>Lactobacillus helveticus</i> MIMLh5 10 µg/mL	4 hours	Anti-inflammatory properties on Caco-2 cells Pro-inflammatory properties on U935 cells	Increased inflammation via TLR2 on human macrophage cell line U947 Inhibition of NF-κB/p65 translocation into the nucleus leading to a decreased of TNF-α
PGN					
Choi 2019	Macrophage from the RAW264.7 murine macrophage cell line. Inflammation: LPS (100 ng/mL) 24h	PGN from 8 strains of <i>Lactobacillus</i> 1000 µg/mL	24h	PGN exhibits anti-inflammatory properties	PGN inhibits NO synthesis for 7 strains. NO inhibitory effects is strain specific PGN from <i>Lactobacillus acidophilus</i> inhibits iNOS and COX2 expression PGN decreases LPS-induced expression of TNF-α and IL-6
Matsumoto 2009	Colonic lamina propria mononuclear cells (LPMC) from colitis-induced mice. Inflammation: LPS (100 ng/mL) 24h.	Polysaccharide-peptidoglycan derived from <i>Lactobacillus Shinota</i> (LcS)	24h	Anti-inflammatory properties	inhibition of IL-6 synthesis through inhibition of NF-κB
Fernandez 2011	Murine DC. Inflammation: LPS 100 ng/mL	Ls33 PGN 10 µg/mL	24 hours	Anti-inflammatory properties	partial maturation of DC; increased IL-10 to IL-12 ratio via NOD2 signaling
Vavricka 2004	Caco-2 cell line with over- or underexpression of hPepT1	Muramyl dipeptide (MDP) 100 µmol/L	30 min	Pro-inflammatory properties	increased IL-8 expression through NF-κB pathway by binding to TLR2 activation of NOD1/2 signaling and increased IL-1β

Table 8. Primary prevention: preclinical studies with postbiotics in IBD.

Preclinical studies						
Reference	Model (animal, inflammation)	Postbiotic type + concentration	Age of supplementation	Intake duration	Effect on IBD	Mechanisms
Prevention						
S-layer protein						
Cai 2018	Female C57BL/6 mice. Inflammation: DSS 2.5% for 7 days.	SlpA from <i>Lactobacillus acidophilus</i> CICC 6074 / kg of body weight 5, 15 and 25 mg	6-7 weeks old	12 days once every two days	SlpA protects against DSS-induced mice colitis	SlpA (25mg/kg) decreases TNFa, IL6, IL10 and IL17 levels in DSS-induced colitis in mice SlpA (25mg/kg) markedly inhibited the DSS-induced expression of TLR4, iNOS and COX-2 in colon tissues
LTA						
Mansour Mohamadzadeh 2011	C57BL/6 mice. Inflammation: 3% DSS	Supplementation: <i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM deleted from LTA	adult	4 days before colitis induction	<i>Lactobacillus</i> deficient in LTA protects against DSS-induced mice colitis	Reduced colitis score Increased colonic IL10 level
Grangette 2005	Balb/c mice. Inflammation: TNBS	Stimulation: <i>Lactobacillus plantarum</i> deficient in LTA 10 ⁷ CFU/mL	adult	5 days before colitis induction and one day after TNBS administration		
PGN						
Fernandez 2011	TNBS colitis model: BALB/c mice IL10-deficient C57BL/6 mice NOD2-deficient C57BL/6 mice	PGN from <i>L. salivarius</i> 33 (Ls33): 50, 100 or 200 µg in 100 µL of PBS	TNBS colitis model: BALB/c mice : 7-9 weeks old IL10-deficient C57BL/6 mice: 7-9 weeks old NOD2-deficient C57BL/6 mice: 7-11 weeks old	Treatment: IP administration concomitantly with the TNBS instillation. Prevention: oral feeding for 5 days before colitis induction	100 µg of PGN Ls33 protects against TNBS-induced mice colitis PGN Ls33 decreases inflammation parameters	reduces significantly colonic IL-1β IL-6 and TNF-α transcription reduces significantly colonic IL-10 gene expression but increases colonic IL-10 protein expression PGN promote anti-inflammatory properties, like IL-10 production, through NOD2 signaling

Preclinical studies

Reference	Model (animal, inflammation)	Postbiotic type + concentration	Age of supplementation	Intake duration	Effect on IBD	Mechanisms
Prevention						
SCFA						
Masui 2013	Female GPR43 ^{-/-} mice and WT C57BL/6. Inflammation: 2% DSS for 7 days	Supplementation: Acetate 150 mM	9 weeks old	7 days before colitis induction and in combination with DSS = 14 days	Acetate protects against colitis in WT mice.	Acetate: have no effect on gut microbiota and decreased pro-inflammatory mediators only in WT mice
Macia 2015	GPR43 ^{-/-} mice, NLRP3 and -6 ^{-/-} mice and WT C57BL/6. Inflammation: 2% DSS for 6 days	Supplementation: Acetate 100, 150 and 200 mM	Minimum age of 6 weeks	3 weeks before colitis induction and during DSS treatment	Acetate protects against colitis in WT mice.	Acetate activated NLRP3 inflammasome by binding to GPR43 on colonic epithelial cells lead to a K ⁺ efflux and a hyperpolarization
Maslowski 2009	GPR43 ^{-/-} mice, GF mice and WT C57BL/6. Inflammation: acute DSS for 7 days; chronic DSS for 42 days and TNBS colitis	Supplementation: Acetate 150 mM 100 to 1000 μ M	adult mice	5-7 days before colitis induction and in combination with DSS	Acetate protects against colitis on WT and GF mice	increased in calcium flux in mice neutrophils through GPR43 increased ROS production and phagocytic activity low concentration of acetate acts as a low chemotactic index for neutrophils
Tian 2018	Male balb/c mice. Inflammation: chronic DSS for 80 days (7 days x3 times)	Supplementation: SCFA 67.5 mM acetate, 40 mM butyrate and 25.9 mM propionate	6 weeks old	80 days, daily	SCFA protects against colitis	SCFA suppressed pro-inflammatory cytokines (IL-6, IL-17 and TNFa) and mediators (COX2) down-regulated NFkB
Singh 2014	IL18 ^{-/-} , Niac1 ^{-/-} and WT mice colonocytes. GF mice. Inflammation: Azoxymethane (10 mg/kg body weight) injection and 7 days later, DSS-colitis induction for 7 days 2 times	Supplementation: butyrate treatment	adult mice	24 hours	butyrate have anti-inflammatory properties	butyrate induced colonic IL-18 (anti-inflammatory properties), via GPR109A, in WT colonic cells but no in KO one. butyrate regulated Treg and IL-10 producing CD4 ⁺ T cell frequency in the colon, thus increasing IL-10 secretion by macrophages.
MCFALCFA						
Pujo 2020	C57BL/6J mice. Inflammation: 3% DSS for 7 days	Supplementation: C18:3OH 100 μ M	6-8 weeks old	2 days before colitis induction and 7 days during DSS treatment	decreased colitis	decreased paracellular permeability. decreased metabolites derived from n-6 PUFA known for their pro-inflammatory properties. increased PGE2, 8-HETE.
SBA						
Joseph B.J Ward 2017	Male C57BL/6J mice. Inflammation: 2.5% DSS for 5 days	Supplementation: UDCA or LCA 30 or 100 mg/kg	10 to 12 weeks old	24 hours before colitis induction	improvement of the colitis severity	UDCA and LCA reduced inflammatory cell infiltration, decreased pro-inflammatory cytokines LCA exhibited more potent effects
Patricia Martinez-Moya 2013	Female Wistar rats. Inflammation: TNBS	Supplementation: UDCA 10, 25 or 50 mg/kg/day	adult	starting 1 day before the TNBS challenge	UDCA limits colitis induction	reduced leukocytes infiltration MPO as well as TJ proteins were unchanged increased S100A8, a neutrophil marker and IL-1 β
Vitamin D						
Assa A 2015	Female C57BL/6J mice. Inflammation: 2% DSS for 9 days before infection	Supplementation: vitamin D - sufficient or deficient diet ad libitum	3 weeks old	5 weeks before colitis induction and infection with AIEC (10 ⁹ CFU, once daily for 2 days)	vitamin D protects against colitis and infection with AIEC	increased <i>Bacteroides</i>
Ghaly 2018	Female C57BL/6J mice. Inflammation: 3% DSS for 6 days followed by a period of 0-4 weeks without ongoing DSS treatment	Supplementation: diets enriched in high (10,000 IU/kg), moderate (2,280 IU/kg) dose of vitamin D and	6 weeks old	4 weeks before colitis induction	high dose of vitamin D was deleterious	high dose: worse colitis, increased expression of pro-inflammatory cytokines like TNF- α and gut dysbiosis DSS decreased circulating vitamin D level

Table 9. Secondary prevention: preclinical studies in IBD.

Reference	Model (animal, inflammation)	Postbiotic type + concentration	Age of supplementation	Intake duration	Effect on IBD	Mechanisms
Treatment						
SCFA						
Ji J 2016	Female C57BL/6 mice. Inflammation: DSS	Supplementation: butyrate 150 mM	8-10weeks old	11 days at the same time of colitis induction	butyrate limits colitis induction M2 macrophage confers protection to mice during DSS induced colitis	butyrate decreased colonic IL-6, IL-1β and TNF-α increased colonic expression of M2-macrophage associated protein (Arg1): increased activation of the H3K9/STAT6 signaling pathway
Sun 2018	GPR43 -/-, Rag-/- and WT mice. Inflammation: 1.7 % DSS for 7 days + 3 days with water	Supplementation: SCFA 200 mM	adult mice	10 days	SCFA limits colitis induction	promoted IL-10 production by increasing IL-10 producing Th1 cells activated Th1 cell STAT3 and mTOR upregulated transcription factor B lymphocyte-induced maturation protein 1 which mediated SCFA induction of IL-10
K'im 2013	GPR41 -/-, GPR43 -/- and WT mice. Inflammation: TNBS or infection with <i>Citrobacter rodentium</i>	Supplementation: acetate 200 mM	adult mice	4 weeks	SCFA limits colitis induction	promoted IL-10 production by increasing IL-10 producing Th1 cells activated Th1 cell STAT3 and mTPR up-regulated transcription factor B lymphocyte-induced maturation protein 1 which mediated SCFA induction of IL-10
Sina 2009	GPR43 -/-, WT mice. Inflammation: acute and chronic DSS	Supplementation: no	adult mice		GPR43 KO mice have a slower immune response (reduced polymorphonuclear keratinocytes (PMN) to the sites if infection)	GPR43 induced migration is dependant on action of the protein kinase p38alpha critical role for GPR43-mediated recruitment of PMN in containing intestinal bacterial translocation
SBA						
Kullmann 1997	Rats. Inflammation: TNBS	Supplementation: UDCA	adult mice	3 days starting colitis induction for acute inflammation or for 8 days, 1 day after colitis induction for a chronic inflammation	UDCA mitigated colitis severity	
Zhao 2016	Female C57BL/6J mice. Inflammation: 2.5 % DSS for 7 days	Supplementation: colorectal instillation of DCA 4 mM	6 to 8 weeks old	day 1 DSS treatment to day 8	DCA exacerbated DSS-colitis	NLRP3 inflammasome activation increased pro-inflammatory cytokines production by macrophages
Sidhartha 2020	C57BL/6J mice. Inflammation: 2.5 %DSS for 11 days	Administration per rectum: DCA or LCA	adult mice	on day 4, 6 and 8	decreased colitis score decreased colonic inflammation	reduced leukocytes infiltration and promoted anti-inflammatory profile through TGR5 pathway
Xu 2021	C57BL/6J mice. Inflammation: 2.5 % DSS for 7 days	Supplementation: DCA	4 weeks old	24 weeks	DCA exacerbated DSS-colitis	DCA promoted ileal and colonic inflammation DCA promoted gut dysbiosis ans was accompanied with an increase of fecal bile acids, associated with the inhibition of the FXR-FGF15 axis

Table 10. Clinical studies with postbiotics in IBD.

Clinical studies					
Crohn's disease (CD)					
Reference	Study design	Probiotic type and concentration	Intake duration	Effect on IBD	Relevant mechanisms
Prevention / Remission phase					
Early life					
Lack of clinical trial					
Adult					
Tara Raftery 2015	27 CD in remission (13 vitamin D3 and 14 placebo)	vitamin D 2000 IU/day	3 months	improved IEB and inflammation but no major change in CDAI	intestinal permeability was maintained decreased significantly CRP level CDAI was non-significantly reduced
Narula 2016	34 CD in remission (16 low dose and 18 high dose)	vitamin D low (1000 IU/day) or high dose (10,000 IU/day)		high dose had better rate of relapse than low dose	vitamin D improved anxiety and depression scores in both groups
Treatment / Active phase					
Early life					
Lack of clinical trial					
Adult					
Vernia 2000	30 mild activate adult CD	butyrate or 5-ASA 4 g / day	6 weeks daily	no difference	no difference in clinical, histological and endoscopic score was shown between both treatment
Yang 2013	18 active adult CD	vitamin D 1,000 to 5,000 IU/day	24 weeks	improved CDAI and 12/18 patients achieved in remission	improved of circulating vitamin D level no change in cytokines level (TNF- α , IL-10 and IL-17)
Tan 2018	59 active adult CD	vitamin D 150,000 IU once per 3 months	12 months	no difference	no difference in DAI and inflammatory markers

Clinical studies					
Ulcerative colitis (UC)					
Reference	Study design	Probiotic type and concentration	Intake duration	Effect on IBD	Mechanisms
Prevention / Remission phase					
Early life					
Lack of clinical trial					
Adult					
Lack of clinical trial					
Treatment / Active phase					
Early life					
Lack of clinical trial					
Adult					
Scheppach 1996	47 active distal UC	SCFA or butyrate	8 weeks	no difference	no difference in the endoscopic appearance of the mucosa
Steinhart et al., 1996	38 active UC (19 butyrate and 119 placebo)	enema butyrate 80 mM	3 and 6 weeks daily	no difference	
Breuer 1997	91 active UC	enema SCFA 80 mM acetate, 30 mM propionate and 40 mM butyrate	6 weeks twice daily	tend to have an improvement in the pathology score vs control group	improved DAI: 33% in the SCFA group and 20% in the placebo group
Breuer 1991	12 active UC	enema SCFA 80 mM acetate, 30 mM propionate and 40 mM butyrate	6 weeks	1/12 patients achieved remission 9/12 patients improvement DAI	
Lührs 2002	11 distal active UC	enema butyrate 100 mM	8 weeks	improved DAI	anti-inflammatory properties mediated by an inhibition of NF-kB in macrophages reduced both the number of neutrophils in crypt and surface epithalia correlated with a significant decrease in the DAI
Garg 2018	8 active UC and 9 inactive UC	vitamin D 40,000 IU/day	8 weeks daily	improved DAI	decreased fecal calprotectin levels and increased albumin increased Enterobacteriaceae but no change in gut microbiota diversity
Ahamed Z, Rizwan 2019	60 active UC (30 vitamin D and 30 placebo)	vitamin D 60,000 IU/day	4 weeks daily	improved DAI and anti-inflammatory properties	decreased of CRP, TNF-a in the serum lowered grade of severity from 60% to 35%
Karimi 2020	50 mild to moderate active UC	vitamin D 2000 IU/day	12 weeks daily		decreased of CRP, calprotectin vitamin D acts on NFkB pathway
Tan 2018	65 active UC	150,000 IU once per 3 months	12 months	no difference	no difference in DAI and inflammatory markers

Gut microbial components

Cell surface protein:

Surface-layer protein (Slp) is a cell envelope found in certain bacteria. These proteins are in interaction with their environment; thus, they have various functions such as adhesion, protection against bacteriophages, *etc.* In inflammatory context such as IBD, these Slp may have interesting properties. For instance, Foligné *et al.* have demonstrated that selected anti-inflammatory strains of *Propionibacterium freudenreichii* lost their immunomodulatory properties like IL-10 release by PBMC when Slp was removed from their surface [139].

- *In vitro studies*

Five selected *in vitro* studies investigated the protective effects of Slp in cell models challenged with inflammatory stimuli and 2 others focused on therapeutic effects. Main studies used immune models (PBMC, MLNC, macrophages cell line from murine model or human) and intestinal models (HT-29 and Caco-2 cells). Inflammation was mainly induced by lipopolysaccharides (LPS) and TNF- α . Slp are derived from *Propionibacterium freudenreichii*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus helveticus*.

Prevention

Pre-treatment with Slp from *Lactobacillus acidophilus* NCFM improved intestinal epithelial barrier and reduced inflammation in both immune and intestinal models (Table 6). In a disrupted barrier model using Caco-2 cells challenged with TNF- α , Slp treatment improved intestinal barrier integrity by increasing TEER and reducing permeability. This reduction is partly due to a restoration of ZO-1 and occludin levels/expressions. Besides, Slp treatment attenuated inflammation caused by TNF- α . by inhibiting NF- κ B/p65 translocation into the nucleus leads to a reduced level of IL-8 secretion the pro-inflammatory IL8 cytokine [140]. In LPS-challenged macrophage (model), Slp treatment attenuates the production of pro-inflammatory cytokines such as TNF- α and IL-1 β , as well as ROS by inhibiting MAPK/NF- κ B signaling. Furthermore, SlpA (a Slp protein) decreases NO and PGE2 production by attenuating iNOS and COX2 production triggered by LPS stimulation [140,141]. Other studies have focused on the involvement of Slp in a non-inflammatory context. In murine macrophage cell line, SlpA from *Lactobacillus acidophilus* CICC 6074 increased pro-inflammatory mediators, such as TNF- α and COX2 by stimulating PKC which activates MAPK/NF- κ B pathway Interestingly, a recent study have highlighted that SlpB from *P. freudenreichii* CIRM-BIA 129 is involved in the adhesion to HT-29 cells [142] and suggest immunomodulation properties of *P. freudenreichii*.

Treatment

Cai *et al.* in 2018 also reported that SlpA from *Lactobacillus acidophilus* CICC 6074 suppresses the activation of TLR4 signaling triggered by LPS stimulation, thus inhibits MAPK/NF- κ B signaling (Table 7) [141]. In addition, SlpA attenuates intracellular NLRP3 inflammasome and NOD2 dependent signaling involved in the release of cytokines. Besides, SlpA from *L. helveticus* MIMLh5 decreases pro-inflammatory mediators, like TNF- α , by inhibiting NF- κ B pathway in

Caco-2 cells challenged with IL-1 β [143] while SlpA increases pro-inflammatory mediators, such as TNF- α and COX2 via TLR2 signaling in immune cells [143].

Furthermore, Slp from other Gram-positive bacteria exhibits anti-inflammatory properties. For instance, SlpB from *Propionibacterium freudenreichii* CIRM-BIA 129 induced high IL-10 secretion in swine PBMC and MLNC challenged with LPS and Concanavalin A (ConA). Moreover, Slp inhibits the release of TNF- α and IFN- γ by cell types stimulated with both LPS or ConA [144]. The durations of exposure to Slp are almost the same in studies (on average 24 hours), except for Rabah *et al.* that exposed immune cells to Slp during 72 hours [144].

- *Preclinical studies*

One study has tested the administration of Slp A from *Lactobacillus acidophilus* NCFM in a mouse model of DSS-induced colitis (Table 8). During 12 days, mice were given SlpA once, every other days. Interestingly, SlpA reduced inflammatory cytokines and TLR4, COX2 protein in colon tissues, demonstrating its protective effects against DSS-induced colitis [141]. To conclude, S-layer protein owns anti-inflammatory properties and thus can be considered as a potential therapeutic molecule for IBD treatment. However, further preclinical studies are required prior to being used in clinical trials.

- *Conclusions on Slp*

In vitro and preclinical studies demonstrated the anti-inflammatory effects of Slp from beneficial bacteria, and clearly exposed a mechanism mediated by the NF- κ B pathway. However, it is important to note the specific role of Slp in immune response; anti-inflammatory properties on inflammation-induced intestinal epithelial cells and pro-inflammatory effects on immune cells without inflammatory stimuli [140,141,143–146]. However, the lack of pre-clinical and clinical studies does not allow a firm conclusion on the beneficial effects of Slp in IBD.

Lipoteichoic and teichoic acids:

Lipoteichoic acids (LTA) and teichoic acids (TA) are molecule anchored in the cell-wall of Gram-positive bacteria. LTA belong to microbe-associated molecular patterns (MAMPs), which are recognized by PRRs. These data suggest that some of the probiotic effects may be mediated through LTA. We will discuss the recent findings of LTA as a potential postbiotics on IBD.

- *In vitro studies*

Six selected *in vitro* studies investigated the protective effects of LTA (Table 6). One study used human monocytic THP1 cells stimulated with peptidoglycan (PGN) from *Shigella flexniri*, a relevant inflammatory model for IBD. Indeed, excessive activation of monocytes with PGN *Shigella flexniri* can leads to IBD [147]. Half studies used immune model cells and the other half focuses on the effects of LTA on IEC. However, every study focused on the therapeutic effects of LTA.

Prevention

Kim *et al.* have shown that pre-treatment with LTA from *L. plantarum* on human monocytic THP1 cell stimulated with PGN from *S. flexniri* reduced pro-inflammatory cytokines such as IL-1 β and TNF- α [147]. Furthermore, the authors demonstrated that these effects are mediated by the TLR2 receptor, which inhibits the MAPK/NF- κ B pathway. LTA have also been tested on IEC and immune cells. On IEC, studies agree that LTA activate the TLR2 receptor but, the immunomodulatory effects are discussed/controversial. Indeed, Wang *et al* demonstrated that LTA from *L. paracasei* D3-5 inhibited p38/MAPK/NF- κ B pathway by stimulating TLR2 receptor and thus decreased pro-inflammatory cytokines on murine intestinal goblet cells suggested anti-inflammatory properties of LTA from *L. paracasei* D3-5 strain [148]. However, another study has shown that LTA purified from *L. GG* increased IL-8 mRNA expression of Caco-2 cells [149]. Besides, they demonstrated by using HEK293T cells transiently expressing the TLR2 receptor and an NF- κ B reporter plasmid activates the NF- κ B pathway via TLR2. Moreover, LTA derived from *L. paracasei* D3-5 strain increased MUC2 mRNA and protein level expression leading to a rise of mucin production through TLR2/NF- κ B pathway [148]. In immune models, studies are still controversial regarding the effects of LTA. On one hand, LTA from *L. acidophilus* NCFM induces TLR2 transcription in DCs leading to a lower ratio of IL-10 to IL-12 [150]. On the other hand, stimulation with *L. plantarum* deficient for LTA on PBMC increased IL-10 cytokines and reduced pro-inflammatory cytokines via TLR2 signaling [151].

Preclinical studies

Only two studies examined the protective role of LTA deficient *Lactobacillus* on murine model of colitis (Table 8). LTA deficient *L. acidophilus* or *plantarum* were given four or five days before colitis induction with DSS or TNBS. Both studies highlighted that LTA deficient mutant was more protective in a murine model of colitis than the wild type strain with a rise of colonic IL -0 level, a reduced colitis score [150,151]. These results suggest a protective effect of LTA deficiency.

- *Conclusions on LTA*

In vitro studies are not fully in agreement regarding the immunomodulatory properties of LTA. The discrepancy may be due to the treatment time, which differs between studies ranging from 1.5 hours to 24 hours [148]. In addition, the effects of LTA may differ within the same bacterial species. For instance, LTA from *L. paracasei* with anti-inflammatory properties are only derived from D3-5 strains [148]. Therefore, screening for immunomodulatory properties of strains within a bacterial species is essential. Furthermore, pre-clinical studies suggested that LTA have pro-inflammatory properties on murine colitis model [150,151]. Finally, the lack of pre-clinical and clinical studies does not provide sufficient support for the use of LTAs in IBD.

Peptidoglycan:

Peptidoglycan is major cell wall component of positive-Gram bacteria, but it is also present in negative-Gram bacteria, like *EcN1917*. The muramyl dipeptide (MDP) is the smallest

bioactive components of PGN [152]. PGNs activate the NOD1/2-dependent signaling pathway, which is of particular interest in the context of IBD. It is widely assumed that the CARD4 gene encoding NOD1 has polymorphisms associated with IBD. In addition, loss-of-function mutations in the CARD15 gene encoding NOD2 increase the susceptibility to develop Crohn's disease [153].

- *In vitro studies*

Two selected *in vitro* studies focused/studied on the protective effects of PGN in immune cell models challenged with LPS and two others focused on their effects under physiological conditions. Main studies used immune models (PBMC, MLNC, macrophage cell line from murine model, dendritic cell). PGNs are important to distinguish according to the bacteria, as their inflammatory response will be different [152].

Prevention

Two studies investigated the effects of PGNs on LPS-stimulated immune cells (Table 6). PGN from certain strains of *Lactobacillus* are able to decrease the expression of LPS-induced TNF- α and IL-6 through inhibition of NF- κ B signaling pathway [154,155]. Moreover, PGN from *L. acidophilus* inhibits iNOS and COX-2 expression, this activity is particularly interesting in the context of IBD because high NO levels can be cytotoxic to cells and are involved in this pathology [156,157]. However, the majority of studies have focused on the effects of PGNs under physiological conditions to better understand their signaling pathway. PGNs have two mainly receptors: TLR2 and NOD1/2. These receptors are expressed by antigen-presented cells (APC) such as dendritic cells (DC) and macrophages, and also by IECs [153,158]. Under basal condition, PGNs bind to TLR2 which activates NF- κ B and increases the expression of pro-inflammatory cytokines such as IL8 in IEC and dendritic cells [158,159]. In addition, PGNs can activate NOD1/2, in both cell types, which in turn activates both the NF- κ B pathway and caspase 1 leading to the expression of IL-1 β [153]. However, in IECs PGNs are mediated by hPepT1 to activate NOD1/2 which is cytosolic, while DCs do not express hPepT1. The most likely hypothesis is that APCs will release bioactive PGN components that stimulate NOD1/2 when they phagocytize the bacteria [159]. These studies suggest pro-inflammatory effects of PGNs. Nevertheless, Fernandez *et al.* showed that murine DCs undergo partial maturation when treated with *Lactobacillus salivarius* 33 (Ls33) PGNs, resulting in the production of IL-10 and the decrease of IL-12 through NOD2 signaling pathway [152]. On the contrary, a treatment with LPS results in a complete maturation of DCs and thus an increase in IL-12 production.

Preclinical studies

One selected *in vivo* study focused on protective and therapeutic effects of PGN from Ls33 in a model of TNBS-induced colitis (Table 8). The mice were treated with PGN for 5 days prior to the induction of colitis or concomitantly. PGN Ls33 protected against colitis induction by decreasing inflammatory parameters. However, the protective effects of Ls33 PGN were abrogated in IL-10-deficient mice and NOD2-deficient mice suggesting that PGN promotes anti-inflammatory properties, like IL-10 production, through NOD2 signaling [152].

- Conclusions on PGNs

To conclude, *in vitro* studies indicate anti-inflammatory properties of PGNs when cells are stimulated by an inflammatory stimulus, whereas in basal condition, PGNs induce a pro-inflammatory response by activating their TLR2 and NOD1/2 receptors. Furthermore, *in vivo* studies are in line with these results by suggesting anti-inflammatory effects of PGNs via the NOD2 receptor. However, further studies need to be performed *in vitro* to determine the curative effects of PGN and *in vivo* before testing the effects of PGN in humans.

Gut microbial metabolites

Regarding lipids produced by bacteria, a distinction must be noted between SCFA and MCFA/LCFAs, which have different receptors and therefore different metabolic functions. Indeed, SCFA activate FFAR 2 and 3 whereas MCFA/LCFAs stimulate FFAR 1 and 4 [160].

SCFA:

SCFA, including mainly acetate, propionate, butyrate and valerate are produced by anaerobic bacteria through the fermentation of dietary fibers. Butyrate is mainly produced by gut bacteria that belong to the phylum *Firmicutes*, such as *Faecalibacterium prautsnitzii* [161] while the main propionate and acetate production is made by bacteria such as *Bifidobacterium* species. SCFA are mostly found in the human colon supporting its major role in intestinal homeostasis. Acetate is the most abundant, followed equally by propionate and butyrate [162]. Indeed, the stool concentration of acetate is approximately 209.7 $\mu\text{mol/g}$ wet feces, 176 $\mu\text{mol/g}$ for butyrate and 93.3 $\mu\text{mol/g}$ for propionate in healthy subjects [163]. Furthermore, SCFA are also found in the blood, but at a lower level, for instance the total concentration of SCFA in the peripheral blood is approximately 0.079 mM [164]. In addition, SCFA are also found in other tissues suggesting their systemic functions. SCFA are important in maintaining intestinal homeostasis. Indeed, they have diverse intestinal functions. First of all, SCFA are the main energy source for colonocytes. As a matter of fact, colonocytes consume more than 70% of oxygen due to butyrate oxidation. Besides, SCFA are involved in digestive motility, via an effect on the enteric nervous system (ENS) [76,165]. Furthermore, SCFA exhibit immunomodulation properties. Indeed, SCFA including butyrate and valproic acid, are able to inhibit HDAC enzymes, resulting in the alteration of the transcription of target genes such as the IFN- γ -encoding gene, a pro-inflammatory cytokine [166]. Besides, butyrate stabilizes HIF-1 α and stimulates HIF target genes involved among others in cell survival and glycolytic metabolism in IEC, thus protects gut functions [167]. Although most studies support anti-inflammatory benefits of SCFA, some find pro-inflammatory effects [89]. Finally, SCFA improve gut barrier function by impacting the intestinal microbiota as well as the production of mucin and junction proteins in IEB [168,169]. Interestingly, SCFA-producing bacteria, such as *Bifidobacteria*, are present in reduced quantities in the stools of UC patients than in healthy subjects and these patients have impaired butyrate oxidation [170,171]. In addition, patients with IBD usually have reduced levels of SCFA in the mucosa and feces [163]. All these data suggest the importance of SCFA in the pathogenesis of

IBD. Finally, IBD patients show down-regulation of gene and protein expression of MCT1, the membrane transporter of butyrate in the cell [172,173]. Thus, the decreased uptake of butyrate in colonocytes leads to a deficiency in butyrate oxidation. In addition, UC patients show decreased expression of MCT1 and enzymes of the butyrate beta-oxidation pathway [173]. Interestingly, TNF- α inhibits butyrate oxidation in normal colonic mucosa culture [174]. All these data suggest an involvement of SCFA in IBD pathogenesis, therefore provides an area of research into the use of SCFA to treat IBD.

- *In vitro studies*

Four *in vitro* studies focused on the preventive effects of SCFA on cells challenged with pro-inflammatory cytokines or LPS. Then, five selected *in vitro* studies have shown the beneficial effects of SCFA treatment.

Prevention

SCFA pre-treatment of cells challenged with a pro-inflammatory stimulus protects them from inflammation (Table 6). Indeed, SCFA reduce the inflammatory response via a decrease in the level of pro-inflammatory mediators such as IL-8, NO, IL-6; and increase the production of anti-inflammatory cytokines such as IL-10 on both intestinal Caco-2 cells and macrophage immune cells [175–177]. These effects are mediated by the inhibition of NF- κ B nuclear translocation and repress the JAK/STAT/ERK pathway [176,177]. Besides, an interesting study on immature intestinal epithelial cells also demonstrated the anti-inflammatory properties of SCFA on these cells [178]. SCFA inhibits IL-8 secretion induced by IL-1 β stimulation on immature enterocytes by inhibiting histone deacetylase (HDAC) via GPR109A but not GPR43 [178]. Furthermore, authors have shown that SCFA have no effects on HDAC on unstimulated immature enterocytes [178]. These data suggest an action of SCFA dependent of cell maturation and inflammatory context.

Treatment

First, treatment with butyrate or acetate on immune cells challenged with LPS exhibited anti-inflammatory properties by reducing NO, IL-6, TNF- α and IL-12 release through GPR43 [179,180]. SCFA via GPR43 show protective effects in an inflammatory background (Table 7). However, SCFA use other mechanisms to exert their beneficial actions on the intestinal barrier. Research has shown that butyrate facilitates M2 macrophage polarization when macrophages are stimulated with both butyrate and IL-4, a Th2 cytokine [181]. M2 macrophages are known to increase wound healing and tissue repair, as well as resolution of inflammation [181]. Herein, butyrate enhanced the IL-4 induced expression of M2-markers by increasing STAT-6 phosphorylation and decreasing histone H3K9 deacetylase. Besides, butyrate promoted migration of macrophages by increasing CCL2 expression. Furthermore, SCFA can act on myofibroblast to exert their protective effects. Indeed, treatment with SCFA on intestinal epithelial cell and myofibroblasts cocultures induce a mucoprotective prostaglandin profile, reflected by an increased PGE1/PGE2 ratio in myofibroblast supernatants [168]. This protective profile was mainly driven by butyrate which promotes MUC-2 expression in the co-culture [168].

Finally, acetate can induced a NLRP3 inflammasome activation in colonic epithelial cells like HT-29 cells or NMC460 cells through GPR43 and Ca^{2+} signaling [182].

- *Preclinical studies*

Five studies investigated the SCFA's protective effects on colitis animal model and five others, the therapeutic action on colitis animal model (Table 8, Table 9).

Prevention

First, three studies have investigated the protective role of acetate on wild-type and Gpr43^{-/-} mice treated with DSS (Table 8). Acetate protects against colitis through GPR43 pathway. Indeed, KO mice exhibited worse colonic inflammation than in WT mice [179,182,183]. Indeed, acetate improved IL-10 production and reduced pro-inflammatory cytokines. However, acetate no change in composition of the gut microbiota [179]. Besides, Macia *et al.* in 2015 highlighted that acetate binding to GPR43 in colonic epithelial cells induced NLRP3 inflammasome activation, then active caspase 1 and thus cytokines release [182]. Furthermore, supplementation of wild-type mice with low concentration of acetate (100-1000 μM) induces an increase in calcium flux in mice neutrophils through GPR43 and thus increases ROS production and phagocytic activity [183]. In addition, a low concentration of acetate acts as a low chemotactic index for neutrophils [183]. In this study, they have shown that DSS-induced colitis on GF mice exhibited an exacerbated or unresolved inflammation, while pre-supplementation with acetate reduced the symptoms of colitis and inflammation [183]. Another study showed that daily administration of SCFA on DSS-induced colitis in mice improved colon inflammation and DAI. Indeed, SCFA treatment suppressed the expression of pro-inflammatory cytokines like IL-6, IL-17 and TNF- α . Besides, SCFA down-regulated the nuclear expression of the transcription factor NF- κB as well as the expression of COX-2. In conclusion, all these data suggest the potential role SCFA in the prevention and treatment of IBD [184]. Finally, another receptor relevant to the beneficial properties of SCFA is the GPR109A. Mice KO for the gene coding for Gpr109a, are more likely to develop colon inflammation and colon cancer [185]. Besides, KO and wild-type mice were treated with DSS-induced colitis. The colonocytes were then cultured with or without butyrate. Butyrate induced colonic IL-18, known for their anti-inflammatory properties in WT colonic cells but not in KO one. Indeed, butyrate through Gpr109a signaling regulates Treg and IL-10 producing CD4^{+} T cell frequency in the colon, thus increasing IL-10 production in macrophages [185].

Treatment

First, studies have shown that SCFA attenuates intestinal inflammation in mice with DSS-induced colitis (Table 9) [181,186]. Indeed, SCFA activated Th1 cell STAT3 and upregulated transcription factor B lymphocyte-induced maturation protein 1 which promotes colon IL-10 secretion of mice with colitis [186]. Furthermore, butyrate increased expression of M2-macrophage associated protein by promoting H3K9/STAT6 signaling pathway. In fact, STAT6 is a critical factor, STAT6 through IL4 mediated signaling response in M2 macrophage polarization [187]. Therefore, butyrate by inducing M2 macrophage decreased inflammation, histological

score in DSS-treated mice [186]. Besides, other studies have shown that GPR43 KO mice and GPR41 KO in mice with colitis, have a slower immune response [188,189]. Indeed, SCFA induced the production of cytokines and chemokines via these receptors to recruit leukocytes, neutrophils. SCFA by binding to these receptors activates ERK1/2 and p38 MAPK signaling pathways [188].

- *Clinical studies*

There are few clinical studies of SCFA (Table 10). In particular, with regard to Crohn's disease, there are no studies on the role of SCFA in maintaining remission in CD patients, and only one study was selected concerning the treatment of active CD. More literature exists on the preventive and therapeutic effects of SCFA in UC.

Crohn's disease

Treatment

Only few studies have examined the therapeutic effect of SCFA in active Crohn's disease. Clinical trials on are not very conclusive about the efficiency of SCFA to treat CD. For instance, 30 mild activate adult CD was supplemented daily with butyrate and 5-ASA. No differences in improvement in clinical, histological and endoscopic score was shown [190].

Ulcerative colitis

Prevention

Effects of SCFA for the prevention of UC patients in remission are minors. Indeed, 35 UC adult patients in remission were received rectal enema containing butyrate in addition to current treatments. Butyrate induced low effects on colonic inflammation and oxidative stress, with an increase of the IL-10/IL-12 ratio [191]. However, no change in the daily symptoms score, CRP, MPO and CAI were observed [191].

Treatment

Regarding curative effects of SCFA on active UC, studies are not conclusive. The majority of studies do not show a difference between SCFA and current treatments [192–194]. For instance, 47 patients with active distal UC received SCFA or butyrate during 8 weeks but no differences between groups was demonstrated [192]. Steinhart *et al.* in 1996 also failed to demonstrate a difference between the butyrate and placebo groups [193]. However, patients who received enema SCFA twice daily for 6 weeks tend to have an improvement in pathology compared to the control group [194]. Furthermore, a pilot study appears to promote positive effects of SCFA on 12 active UC patients, patients received 100 mL of SCFA (80 mM acetate, 30 mM propionate and 40 mM butyrate) rectally for 6 weeks [195]. Of 12 patients, one achieved remission and 9 had improvement in their DAI [195]. Finally, another study shown that butyrate enema for 8 weeks on UC patients improved DAI [196]. Indeed, butyrate has anti-inflammatory effects, mediated by an inhibition of NF- κ B activation in macrophages. Besides, SCFA significantly reduced both the number of neutrophils in crypt and surface epithelia correlated with a significant decrease in the DAI [196].

- Conclusion on SCFA

To conclude, *in vitro* studies suggest an anti-inflammatory role of SCFA on IEB via the NF- κ B pathway. The studies support a prominent role for the GPR43 receptor in the involvement of SCFA effects. Furthermore, *in vivo* studies suggested that SCFA mitigated intestinal inflammation in induced-colitis model. SCFA are relevant in IBD for both preventive and curative treatment. However, there is a lack of studies on the early life stage. Clinical studies are not very successful with regard to the efficacy of SCFA, and there are no studies on pediatric IBD. Further studies have to be carried out and the development of some tools to deliver them constantly at a low concentration should be considered.

MCFA/LCFA:

Recent evidence for the relevance of medium-chain fatty acids (MCFAs) and long-chain fatty acids (LCFAs), in IBD is emerging. They mostly derived from diet and have a major role in the lipid tissue metabolism and the production of mitochondrial energy [197]. However, bacteria can generate these lipids via the biohydrogenation pathway [198]. MCFA and LCFA could also have interesting properties in IBD. Briefly, a recent study highlighted the possibility of using bacteria-derived long chain fatty acid that exhibits anti-inflammatory properties in colitis. Indeed, EcN1917 produces increased level of 3-hydroxyoctadecaenoic acid (C18-3OH) compared with other strains. Administration of C18-3OH in mice model of colitis, exhibits an amelioration of colitis and a restored gut dysbiosis [199]. Besides, pre-treatment with HYA, a derivate of linoleic acid (omega 6), on Caco-2 cells challenged with TNF- α and IFN- γ protects cells against disrupted permeability, TEER, restored TJ proteins expression and inhibited the increase IL-8 secretion [200]. HYA modulates the expression of the TNF receptor, TNFR2, via GPR40/FFAR1 which restores IEB [200]. These studies suggest an interest of MCFA and LCFA produced by bacteria in the treatment of IBD. However, further *in vitro* and animal studies are needed to gain a complete understanding of the effects of these lipids in an inflammatory context, before investigating the effects on humans.

Secondary bile acids:

Bile acids (BA) are produced in the liver from the cholesterol metabolism, and are further metabolized by gut bacteria. BAs are synthesized from the cholesterol, which is converted by the enzyme CYP7A1 to produce primary BA, such as chenodeoxycholic acid (CDCA) and cholic acid (CA). Then, primary BAs are secreted into the gallbladder via the bile salt export pump (BSEP). After a meal, they are released in the intestine where they can be metabolized by gut bacteria. Then, intestinal anaerobic bacteria deconjugate the liver-derived BA through the action of the bile salt hydrolases (BSH) to their respective free BA. This microbial deconjugation prevents active reuptake from the ileum via apical sodium dependent bile acid transporter (ASBT). After, anaerobe bacteria convert primary BAs into secondary Bas (SBAs) in the colon. CA is transformed into deoxycholic acid (DCA) using 7 α -dehydroxylation and CDCA is transformed into lithocholic acid (LCA) and ursodeoxycholic acid (UDCA) by 7 β -dehydroxylation. Finally, only 5% of the bile salts will be found in the stools, most of them returning to the enterohepatic

cycle [201]. Despite the small percentage of secondary bile acids remaining in the colon lumen, they can exert important biological functions for resident microbiota as well as the host organism. Secondary bile acids have a large panel of functions on the host including clearance of cholesterol, regulation of energy homeostasis and antimicrobial functions through binding to specific receptors [202]. Several studies have highlighted the role played by BA in regulating glucose homeostasis and insulin sensitivity [201]. Finally, BA have also anti-inflammatory effects [203]. For instance, FXR knock-out mice have a higher susceptibility to develop colitis after treatment with DSS [204]. FXR is the most well known nuclear receptors of BA and is expressed mostly in the liver. Besides, studies have shown that BA reduces the level of pro-inflammatory cytokines, like TNF- α in monocytes and macrophages, through NF- κ B inhibition. IBD patients have altered BA metabolism. Indeed, the level of secondary BA is reduced in stool samples from IBD patients, but not in total faecal BA concentrations. This data suggests that this decrease is due to an impaired gut microbiota BA metabolism [205].

- *In vitro studies*

Five selected *in vitro* studies demonstrated the effectiveness of SBAs in controlling the immune response and inflammation (Table 7).

Treatment

Caco-2 cells were exposed to DCA or UDCA for 20 hours. DCA increased IL-8 secretion by Caco-2 cells but UDCA have no effects. Besides, it is important to note that high concentrations of DCA was toxic on Caco-2 cells but UDCA was not [206]. Moreover, DCA also induced IL-8 secretion in HT-29 cells via NF- κ B activation [207,208]. Furthermore, DCA and LCA inhibited TNF- α production in differentiated macrophages stimulated by commensal bacterial antigen or LPS. Indeed, DCA and LCA through TGR5-cAMP pathway, activated NF- κ B signaling pathway, and thus inhibited pro-inflammatory cytokines production. Interestingly, TGR5 level in lamina propria from CD patients was higher than in the patients without IBD [209]. LCA have also relevant effect on adaptative immune response. Herein, CD4⁺ Th cells were pre-treated for 24 hours with LCA. LCA inhibited Th1 differentiation through the Vitamin D receptor (VDR) of CD4⁺ T lymphocytes. LCA by binding to VDR inhibits ERK phosphorylation resulting in the decrease of Th1 cytokines, like TNF- α and IFN- γ [210].

- *Preclinical studies*

Prevention

SBAs have protective effects on animal colitis model (Table 8). Indeed, DSS-colitis mice who received treatment with DCA and LCA three times during colitis, shown improvement in colitis by decreasing colonic inflammation, disease parameters and histopathological score [211]. SBA also significantly reduced leukocytes infiltration and promoted anti-inflammatory profile through TGR5 pathway [211]. These results are in line with another study that also reported the beneficial effects of LCA as well as UDCA in protecting against colitis. Mice with DSS-induced colitis receiving these SBA displayed an improvement in the severity of colitis.

Indeed, UDCA decreased inflammatory cell infiltration, reduced inflammation score with a diminished level of pro-inflammatory cytokines. Interestingly, LCA exhibited more potent effect to preventing colitis in mice [212]. However, other studies exhibited opposite effects. For instance, colorectal administration of DCA in DSS-induced colitis in mice triggered NLRP3 inflammasome activation, therefore increased pro-inflammatory cytokines production in macrophages such as IL-1 β [213]. Colorectal instillation of DCA exacerbated DSS-colitis. Furthermore, UDCA, a SBA, have also beneficial effects on inflammation. Rats were supplemented with UDCA for 3 days starting with induction of TNBS-colitis for an acute inflammation or for 8 days one day after induction of TNBS-colitis for a chronic inflammation. UDCA mitigated the severity of both type of inflammation [214].

Treatment

TNBS-colitis model in rats received oral administration of UDCA one day before colitis induction and ameliorate colonic inflammation (Table 9). Indeed, colonic AP activity, a marker of leukocyte infiltration, was significantly reduced in UDCA treatment. However, colonic MPO activity was unchanged by UDCA treatment, as well as TJ protein suggesting that UDCA have no direct effects on the IEB. Surprisingly, UDCA increased expression of S100A8, a neutrophil marker, and IL-1 β in the colon [206]. However, other studies did not show beneficial effects of SBA. In a recent study, mice were supplemented with DCA for 24 weeks. Herein, mice developed ileal and colonic inflammation and gut dysbiosis. Dysbiosis was accompanied with an increase of fecal bile acids, associated with the inhibition of the FXR-FGF15 axis suggesting a disruption of the bile acid metabolism [215].

- *Conclusions on SBAs*

To conclude, SBAs appear to have beneficial effects in an inflammatory context, however, caution should be taken in the use of SBAs. Indeed, UDCA and LCA appear to be beneficial whereas DCA appears to be toxic to cells in some studies [206]. Others studies have highlighted that DCA has been associated with modulating apoptosis involving mitochondrial pathways [216,217]. Besides, the beneficial effects of SBAs in IBD have not yet been investigated in clinical studies. Further in vitro and in vivo studies are needed to gain an understanding of the mode of action of SBAs in an inflammatory context such as IBD.

Vitamin D:

Vitamin D is a lipophilic compound synthesized in the skin under the influence of ultraviolet. Vitamin D by binding to the VDR leads to calcium absorption from the gut. IBD patients exhibit a higher risk to develop vitamin D deficiency. However, it is unclear if vitamin D deficiency is a cause or a consequence of IBD. Besides, deficient in vitamin D is associated with increased IBD disease activity, inflammation and clinical relapse [218].

- *In vitro studies*

Four selected *in vitro* studies indicated that vitamin D acts both on the intestinal epithelial barrier via protein junctions, on the intestinal microbiota and on the immune system by regulating inflammation. Two studies on intestinal epithelial and immune cells interested on protective effects of vitamin D, while two others examined therapeutic effects (Table 6, Table 7).

Prevention

According to a study on Caco-2 cells challenged with adherent-invasive *E. coli* (AIEC) strain LF82, Vitamin D pre-treatment protected against AIEC induced reduces TEER and increases permeability. Furthermore, vitamin D maintained the distribution of TJ continuously and circumferential, while infection with the strain induced an alteration in the distribution of ZO-1 and claudin 1. Nevertheless, there is no difference in the gene expression of these proteins [219]. In addition, pre-treatment with vitamin D on immune and intestinal epithelial cells stimulated NOD2 expression and HBD2 and antimicrobial cathelicidin expression through NF- κ B pathway [220].

Treatment

In active UC patients, claudin-1 and -2 were increased, while claudin-4 and -7 proteins were decreased. Cultures of biopsies from inflamed and non-inflamed area of colon from the same active UC patients were treated with vitamin D3. Vitamin D3 acts on TJ proteins, herein vitamin D3 down-regulated claudin-1 and -2 and up-regulated claudin-4 and -7. Besides, vitamin D3 inhibited IL-13 and IL-6 expression [221]. Nevertheless, another study found different effects of vitamin D on TJ protein. Caco-2 cells challenged with LPS and with or vitamin D had lowered permeability and increased TEER. Indeed, vitamin D restored expression and localization of TJ protein; gene and protein expression of ZO1, claudin 1 and occluding 1 were increased. In addition, LPS down-regulated whereas vitamin D inhibited this effect [222].

- *Preclinical studies*

Only two studies promoted the preventive effects of vitamin D on DSS-induced colitis in mice (Table 8). One of the studies investigates protection from colitis in early life mice. However, no study supplemented animals at the same time as the induction of colitis.

Prevention

Early life

DSS-treated 3 weeks old mice have more susceptibility to infection with AIEC strain LF82 and the infection worsens the severity of colitis [219]. Herein, mice were supplemented with a diet enriched or deficient in vitamin D ad libitum for 5 weeks, before infection and DSS treatment. Vitamin D exerted beneficial effects on mice by preventing the increased intestinal permeability and infection of strain LF82 in the mucosa of DSS-treated mice. Whereas, mice fed with deficient vitamin D diet had an increased intestinal permeability and worse colitis. Besides,

vitamin D deficient diet and DSS-treatment affected the gut microbiota, by increasing *Bacteroidetes* [219].

Adulthood

Mice were fed with diets enriched in high (10,000 IU/kg), moderate (2,280 IU/kg) dose of vitamin D and no vitamin D for 4 weeks before colitis induction with DSS for 7 days followed by a period of 0-4 weeks without ongoing DSS treatment. High dose of vitamin D was deleterious; indeed, mice developed the most severe colitis with an increased expression of pro-inflammatory cytokines like TNF- α . Furthermore, microbial composition of mice fed with high dose of vitamin D without colitis induction was similar to that of DSS mice, indicating a negative impact of strong doses of vitamin D on the gut microbiota [223]. Interestingly, the circulating vitamin D dropped in response to the inflammatory process mediated by the DSS.

- *Clinical studies*

We found 9 studies using vitamin D for IBD (Table 10). All studies were achieved in adults, however there are very few studies investigating the ability of vitamin D supplementation to maintain remission in patients with UC.

Crohn's disease

Prevention

In a randomized clinical trial, 27 CD patients in remission received vitamin D supplementation for 3 months. Intestinal permeability of patients was maintained, and CRP level significantly decreased. However, CDAI score was non-significantly reduced [224]. Besides, a pilot randomized double-blind controlled study highlighted beneficial effects of supplementation with low or high dose of vitamin D3 on CD patients in remission. The rate of relapse was non-significantly different in both groups, nevertheless high dose has better rate of relapse than low dose. Furthermore, vitamin D3 improved anxiety and depression scores in both groups [225].

Treatment

A pilot study exhibited the beneficial effects of vitamin D3 supplementation on 18 active CD patients. After 24 weeks of oral supplementation, patients had a significant increase of vitamin D3 serum level and improved CDAI and quality-of-life scores. Twelve out 18 patients achieved in remission. However, there is no change in cytokines levels, such as TNF- α , IL-10 and IL-17 [226]. In addition, Tan *et al.* in 2018 no found any difference of DAI and inflammatory markers on CD patients receiving with vitamin D [227].

Ulcerative colitis

Prevention

First, UC patients in remission with low serum level of vitamin D (< 35 ng/mL) have higher risk of clinical relapse [228]. However, there is a lack of studies investigating the effects of vitamin D supplementation to sustain UC patients in remission.

Treatment

Vitamin D supplementation reduced intestinal inflammation in patients with active UC [229]. Herein, 8 patients with active UC received daily supplementation with vitamin D and 9 with inactive UC. Only patients with active UC have decreased fecal calprotectin levels and increased albumin. Besides, active UC patients have increased *Enterobacteriaceae* but no change in gut microbiota diversity UC [229]. Another study exhibited anti-inflammatory properties of vitamin D in active UC. Patients with active UC were supplemented with vitamin D for 4 weeks. A decrease in UCDAI was observed correlated with an increase in serum vitamin D, a reduction in CRP and calprotectin indicating a beneficial activity of vitamin D in inflammatory response. Patients have a lowered grade of severity from 60% to 35% [230]. A more recent pilot study is in line with these data. Indeed, active UC patients received 2000 IU per day of vitamin D for 12 weeks; their serum CRP level decreased, as well as TNF- α suggesting that vitamin D prevents from systemic inflammation, thus decreasing DAI in patients. Moreover, activity of NF- κ B increased which implies that vitamin D acts on the NF- κ B signaling pathway [231]. However, Tan *et al.* in 2018 no demonstrated any difference of DAI and inflammatory markers on UC patients supplemented with vitamin D [227].

- *Conclusions on vitamin D*

In conclusion, supplementation with vitamin D is relevant on patients with deficient vitamin D.

Key ideas – Gut microbial components:

- Most of them reduce inflammation.
- Limits: the lack of *in vivo* studies and the absence of clinical trials make it inconclusive as to their value in the prevention/treatment of IBD.

Key ideas – Gut microbial metabolites:

- SCFA are the most studied postbiotics in IBD, however clinical studies are inconclusive.
- Other metabolites showed promising results.

SYNBIOTICS

Definition

Synbiotics are products combining prebiotics and probiotics [232]. Its benefit for the host relies on the synergic or additive action of both components to ensure an effective implementation of an improved microbiota, by enhancing the survival of specific bacterial strains and/or their metabolism. Such strategy may help to preserve the intestinal functions and prevent diarrhea or constipation for the individual [232–234]. The immune system and the intestinal barrier are strengthened while pathogens development is inhibited [232,235]. So synbiotics appear to have a greater efficacy than pro-/prebiotics alone [234]. Synbiotic administration may reduce cost and treatment duration, thus enhancing compliance [236]. For all those reasons, synbiotics represent an attractive field of study for IBD care.

Table 11. In vitro, preclinical and clinical studies with synbiotics in IBD. LAB = lactic acid bacteria, XOS = xilooligosaccharides, SCCAI = Simple Clinical Colitis Activity Index.

In vitro studies	Reference	Model	Synbiotic	Treatment duration	Effect on IBD
	Grimoud, 2010	HT-29 cell line. Inflammation: LPS+IFN- γ	Oligoaltermann (OA, 10g/L)+B. breve R0070+L. lactis R1058 (all: multiplicity of infection=100)	6-16h	The synbiotic inhibits HT-29 cell proliferation and may be due to cell differentiation.
	Lehmann, 2015	Immature primary human peripheral blood MoDC +/- naïve T cells. Inflammation: PMA+ionomycin	scGOS/lcFOS (9:1, 5mg/mL)+L.rhamnosus or B.breve (105-107CFU/ml)	24h	scGOS/lcFOS LAB induced IL-10 secretion by MoDC.
	Asarat, 2015	Human PBMCs. Inflammation: LPS (added at same time as SCFAs).	Inulin or hi-maize + Lactobacillus rhamnosus GG ATCC 53013 (LGG) or B. animalis subsp. Lactis (BB12): 5% w/v in skim milk, 107 CFU/mL.	24h fermentation. 48h with PBMC.	LGG produced more SCFAs with inulin than hi-maize. BB12 produced more SCFAs than LGG for the same combination with inulin. SCFAs derived from synbiotics fermentation reduced LPS-stimulated PBMC production of inflammatory cytokines.
	Duysburgh, 2019	3 standardized in vitro human gastrointestinal tract M-SHIME®, each with fecal inoculum of a different human adult (29-35 years old).	MegaSporebiotic + MegaPrebiotic (5 Bacillus strains + FOS/XOS/GOS, 8*10 ⁹ +3775 mg/day).	2 weeks	Increased microbiota diversity and SCFAs production.
	Piatek, 2020	Pathogens culture: either E. coli EPEC, Sh. sonnei, S. typhimurium, K. pneumoniae and C. difficile.	Synbiotic Multilac® Baby (6 Lactobacillus and 3 Bifidobacterium strains+FOS, 109 CFU+1.43g/day)	48h	Higher growth inhibition of all pathogens with the synbiotic compared to probiotics alone.

Preclinical studies					
Reference	Model	Synbiotic	Age of supplementation	Intake duration	Effect on IBD
Prevention					
Schultz, 2004	HLA-B27- β 2-microglobulin rats. Spontaneous colitis.	Synbiotic Instant Mixture (~2*10 ⁹ CFU/rat mix of Lactobacilli and Bifidobacteria + inulin)	2 months old	8 weeks, start prior to colitis onset.	Reduction of histological score and increase of microbiota diversity.
Simeoli, 2015	Male BALB/c AnNHsd mice. Acute DSS colitis.	<i>L. paracasei</i> B21060 + FOS + arabinogalactan (2.5*10 ⁷ + 7mg + 5mg/10g body weight)	10 weeks old	7 days before colitis + 12 days	Reduction of colonic damages. Restoration of gut barrier, increase of IL-10.
Son, 2019	Female BALB/c mice. Acute DSS colitis.	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain GG + tagatose (200 μ L of 10 ⁹ CFU/mL and 25mg/day)	6 weeks old	14 days before colitis + 7 days	Reduction of clinical symptoms, recovery of gut microbiota dysbiosis.
Shinde, 2020	C57BL/6 mice. Acute DSS colitis.	green banana resistant starch + <i>Bacillus coagulans</i> MTCC5856 (2*10 ⁹ CFU and 400mg/ day) whole plant sugar cane fibre Kfibre™ + <i>Bacillus coagulans</i> MTCC5856 (2*10 ⁹ CFU and 200mg/ day)	7 weeks old	7 days before colitis + 7 days	Reduction of disease and histological scores. Increase of SCFAs production.
Sheng, 2020	Male C57BL/6 mice. Acute DSS colitis.	<i>Bifidobacterium infantis</i> + xylooligosaccharide (2*10 ⁸ CFU and 0.23g/kg body weight daily)	6-7 weeks old	14 days before colitis + 7 days	Reduction of disease activity score. Strengthening of gut barrier, decrease of inflammatory cytokines.
Treatment					
Simeoli, 2015	Male BALB/c AnNHsd mice. Acute DSS colitis.	<i>L. paracasei</i> B21060 + FOS + arabinogalactan (2.5*10 ⁷ + 7mg + 5mg/10g body weight)	10 weeks old	2 days after DSS + 5 days	Reduction of colonic damages. Restoration of gut barrier, increase of IL-10.
Ha, 2020	C57BL/6 mice. Acute DSS colitis.	<i>Lactobacillus gasseri</i> 505 + <i>Cudrania tricuspidata</i> extract (10 ⁸ CFU and 1500 mg/kg body weight daily)	5 weeks old	7 days during colitis + 4 days	Reduction of serum TNF- α and nitric oxid.

Clinical studies

Reference	Study design	Synbiotic	Age of supplementation	Intake duration	Effect on IBD
Early life					
Haskey, 2009	Single-blind RPCT: UC patients in remission (4 synbiotic, 5 placebo).	<i>B. longum</i> R0175 + inulin (2*1010 CFU and 15g/day).	mean age: 12.6 years old.	10 months	Improvement of quality-of-life score and no severe symptoms.
Adulthood					
Furie, 2005 Steed, 2010	DB RPCT: active UC patients (9 synbiotic, 9 placebo). DB RPCT: active CD patients (13 synbiotic, 11 placebo).	<i>B. longum</i> + Synergy 1 (4*1011 and 12g/day).	mean age (synbiotic, placebo): 45-46.3 and 38-49 years old.	1-6 months	Reduction of disease activity, sigmoidoscopy score and inflammatory cytokines. Increased regeneration of tissue and change of gut microbiota.
Chermesh, 2007	DB RPCT: CD patients undergoing resection (20 synbiotic, 10 placebo)	Synbiotic 2000 (<i>Pediococcus pentoseus</i> , <i>L. raiifinolactis</i> , <i>L. paracasei</i> susp <i>paracasei</i> 19, and <i>L. plantarum</i> 2362; 2.5 g β-glucans, 2.5 g inulin, 2.5 g pectin, and 2.5 g resistant starch daily).	mean age at surgery (synbiotic, placebo): 36.1 and 34.7 years old.	12 months	No effect on postoperative recurrence of CD.
Federico, 2009	RPCT: mild/moderate UC patients UBT (9 synbiotic, 9 placebo).	<i>L. paracasei</i> B 20160 (5*109 CFU/day) + arabinogalactan + XOS	mean age (synbiotic, placebo): 46 and 48 years old.	8 weeks	Decrease of serum IL-6 and IL-8.
Fujimori, 2009	RCT: mild/in remission UC patients (40 synbiotic, 40 prebiotic, 40 probiotic).	<i>B. longum</i> + psyllium (2*109 CFU and 8g/day)	mean age (synbiotic, prebiotic, probiotic): 35, 37 and 36 years old.	4 weeks	Improvement of IBDQ.
Guslandi, 2011	Randomised open-label trial: 20 mild/moderately active UC patients UBT.	Inulin + <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus gasseri</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus sporogenes</i> (10g/day).	not written.	4 weeks	Clinical improvement with increase of remission.
Ishikawa, 2011	Open-label RCT: active/in remission UC patients (21 synbiotic, 20 control).	<i>B. breve</i> Yakult + GOS (3*109 CFU and 5.5g/day).	mean age (synbiotic, control): 43.6 and 47.4 years old.	12 months	Reduction of endoscopic score and change of faecal microbiota.
Ahmed, 2013	DB RPCT: 8 UC and 8 CD patients mixed (8 synbiotic, 8 placebo).	<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5®, <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> LBY-27, <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12® and <i>Streptococcus thermophilus</i> STY-31™ + oligofructose (4*109 and 15g/day)	median age: 62 years old.	1 month	No change of microbiota.
Kamari, 019	RPCT: 40 mild/moderately active UC patients (18 synbiotic, 18 placebo).	<i>Enterococcus faecium</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> + FOS	mean age (synbiotic, placebo): 44.94 and 40 years old.	8 weeks	Higher reduction of disease activity.
Malathi, 2019	Open-label RCT: moderately/severe active UC patients UBT (16 synbiotic, 16 control).	<i>Streptococcus faecalis</i> T-110 JPC, <i>Clostridium butyricum</i> TO-A, <i>Bacillus mesentericus</i> TO-A JPC, <i>Lactobacillus Sporogenes</i> + prebiotic	18-60 years old	3 months	Reduction of relapse and disease severity. Increase of remission duration, reduction of steroid dosage.
Kazemi, 2019	Meta-analysis of several diseases including IBD.	Depending on parameter, 4-5 studies included.	depends on study	depends on study	Reduction of CRP and TNF-α with synbiotics.
Amiriani, 2020	DB RPCT: mild/moderately active UC patients UBT (35 synbiotic, 35 placebo).	Lactocare® (7 strains 2*109 CFU/day and FOS)	18-60 years old	8 weeks	Reduction of SCCAI.

In vitro studies

Few studies investigated *in vitro* the effects of synbiotics and heterogeneous *in vitro* models were used, ranging from the intestinal cell line HT-29 to a synthetic human GI tract (Table 11). Inflammation was induced or not by addition of PMA+ionomycin or LPS +/- IFN- γ . The composition of the synbiotics used is varied, not only in terms of probiotics but also of prebiotics. Mainly *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains were combined to one or several prebiotics which are mostly oligosaccharides (FOS, GOS or xilooligosaccharides XOS). The synbiotic supplementation was used only as treatment or started at the same time as the inflammation induction, so no referenced study in our review described *in vitro* the preventive effect of synbiotics. Altogether, the studies underlined a positive effect of synbiotics by different mechanisms. An increased diversity of the microbiota and production of SCFA were observed after incubation of a synbiotic composed of *Bacillus* strains and a mix of FOS, XOS and GOS in a synthetic human GI tract called M-SHIME® [237]. Human immune cells like PBMCs were also impacted by the synbiotics, through the influence of the prebiotics part of synbiotic, for instance short-chain GOS and long-chain FOS (scGOS/lcFOS) which induce the production of IL-10 by dendritic cells [68]. Metabolites derived from synbiotics like SCFA also play a role, as seen with the SCFA derived from the synbiotic inulin + *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53013 which reduced the production of inflammatory cytokines by LPS-stimulated human PBMCs [238].

Preclinical studies

In general, the literature on synbiotics at preclinical level is scarce and seems to focus on the preventive aspect of synbiotics (Table 11). Adult murine models with acute DSS or spontaneous induction of colitis were used. Investigated synbiotics had a less complex composition as in *in vitro* studies, with fewer components in the mix of pre-/probiotics: mainly 1 *Lactobacillus* or *Bifidobacterium* strain with 1-2 prebiotics of different types (Table 11).

Prevention

The intake of synbiotics lasted between 2 to 8 weeks with a start 1 week before acute colitis induction. Promising results were achieved in the described preventive studies, with a reduction of the disease severity and colonic damages. The mechanisms found were the same as in *in vitro* studies, namely an increase of microbiota diversity and the production of SCFA and an increase of IL-10 production [239]. Interestingly, a restoration of the gut barrier was seen after a supplementation of *Bifidobacterium infantis* + XOS in male C57BL/6 mice under acute DSS-induced colitis by increase of tight junction proteins ZO-1 and claudin-1 expression [240]. So it appears that a supplementation of synbiotics mitigates the development of colitis in murine models.

Treatment

Only 2 preclinical studies were found on the treatment of colitis with synbiotics. Simeoli and colleagues described in 2015 the effects of a synbiotic constituted of *L. paracasei* B21060+FOS+arabinogalactan given after DSS induction for 1 week in male BALB/c AnNHsd mice. Another study by Ha and colleagues in 2020 also used an acute DSS induction, but on

C57BL/6 mice with a synbiotic composed of *Lactobacillus gasseri* 505 + *Cudrania tricuspidata* extract. Both studies showed anti-inflammatory effects of the investigated synbiotics, with a decrease of colonic damages and TNF- α production and a restoration of the gut barrier.

Clinical studies

Surprisingly, more data are available on clinical trials as in *in vitro* or preclinical studies but only for treatment with synbiotics. Indeed, no study was found with a use of synbiotics as preventive mean for IBD (Table 11).

Treatment

The heterogeneity of the studies is striking. Different types of synbiotics were used and comprised not only the probiotic genus already observed in preclinical studies, but also new ones like *Streptococcus*, *Bacillus* or *Clostridium*. Different types of prebiotics were also mixed into the synbiotics of interest. For example, “Synbiotic 2000” includes inulin, β -glucans, resistant starch and pectin. The recruited IBD patients were mostly UC patients (only 2 studies with CD patients) with a broad range of disease severity, from remission to severe disease activity. The number of tested individuals is small (<50/condition) and underlines a need of clinical trials with a more consequent number of participants to ensure a relevant analysis of the effects of synbiotics.

- *Early age*

One study focused on UC children of about 12 years old in remission for whom a synbiotic composed of *B. longum* R0175 + inulin was given during 10 months [241]. The result of this study is encouraging as no severe symptoms were observed and an improvement of the quality of life was assessed.

- *Adulthood*

Treated patients were aged of 18 to 60 years old and treatment time ranged from 4 weeks to 1 year. Apart from 2 studies where no effect of synbiotics were seen on CD recurrence or microbiota and despite the heterogeneity of disease severity and disease type, the majority of the clinical trials presented a beneficial effect of synbiotic through a clinical improvement [242,243]. The tested synbiotics appeared also effective to reduce the production of inflammatory cytokines like IL-6 or IL-8 [244]. For instance, 2 studies used *B. longum* and “Synergy 1”, a preferential inulin/oligofructose growth substrate for this strain, on either active CD or UC patients for 1 to 6 months [245,246]. Both trials showed a reduction of disease severity after supplementation which can be linked to a modulation of the microbiota and an enhancement of the tissue regeneration. Moreover, synbiotics contributed also to maintain remission and to reduce treatment dosage, as seen in a clinical trial with active UC patients supplemented with a synbiotic containing *Streptococcus faecalis* T-110 JPC, *Clostridium butyricum* TO-A, *Bacillus mesentericus* TO-A JPC, *Lactobacillus Sporogenes* and a prebiotic [247].

Conclusion on synbiotics

Few studies are available at *in vitro* and preclinical levels but all of them pointed out the beneficial effects of synbiotics on inflammation: reduction of colonic damages and inflammatory cytokines production, restoration of the microbiota diversity and strengthening of the gut barrier. Synbiotics appeared to be more effective as pre- or probiotics alone. These observations were also seen at clinical level, with a reduction of disease activity and an extension of remission. However, robust homogenized clinical trials are lacking to fully characterize the effects of synbiotics and their design should be supported by preliminary data generated from preclinical studies. The distinction of disease type and disease severity is also an important factor. Indeed, depending on remission or active disease state, an individual might respond differently to synbiotics and less effectively.

Key ideas – Synbiotics:

- Limitations:
 - Lack of robust *in vitro*/preclinical and clinical studies, especially for prevention for which no data was found *in vitro* and at clinical levels. Clinical trials at early age are also lacking.
 - More data should be collected to describe precisely the effects of synbiotics for UC and CD at different disease stages and different age of the individual.
- Beneficial effects observed at all levels of investigation, synbiotics:
 - restore the diversity of the microbiota,
 - decrease anti-inflammatory cytokines production,
 - strengthen the gut barrier.

→ Improvement of disease severity and clinical symptoms which led to an extended remission in UC patients.

DIET

Diet has been the object of extensive research in the context of IBD. Several studies underline indeed the protective effect of a healthy diet against the risk of CD development, as well as the high consumption of fruits and vegetables [248,249]. On the contrary, diets enriched in fat and/or sugars constitute risk factors for IBD development [249,250]. Certain food constituents such as iron and red meat are also identified as risk factors for IBD and *in vivo* results confirm this assumption. High-fat diet and dietary red meat exacerbate experimental colitis in mice [251,252]. In addition to diet composition, the associated time period plays an important role. Chronic diseases may indeed have a developmental origin, as stipulated in the concept of “Developmental Origins of Health and Disease” [253]. The early life period is namely accompanied by dietary changes which can impact later in life the development of chronic diseases in the individual, as seen with the importance of breastfeeding [254]. Even a geographic specificity of diet may impact the individual, as seen with the deleterious effects of a Westernized high-fat diet [250]; in contrast with the beneficial impact of a Mediterranean diet [255].

The composition of the diet may influence several biological systems: the immune system, the microbiota and the host response. A high-fat diet induces for example an increase of intestinal inflammation linked to a barrier dysfunction and a dysbiosis. The change of microbiota can itself induce an inflammatory response [249]. Epigenetic effects can be induced by diet, as seen in an *in vivo* study where a methyl-donor maternal diet increases colitis susceptibility in offspring [256]. Diet represents an interesting research field for IBD care, especially due to its ease of implementation.

IBD diets

Nutritional intervention in IBD patients takes several forms and focuses on different strategies: formulation, exclusion of potential inflammatory components or supplementation of certain food ingredients with beneficial effects on the host through different mechanisms.

Supplementation

Many food products were investigated over the past years to determine if their consumption could restore gut homeostasis by improving digestive functions, along with influencing the gut microbiota and biological processes [257]. Bioactive peptides are protein fragments absorbed in the small intestine and attractive by their low toxicity, low cost and good diffusion. In animal models of IBD, bioactive peptides reduced disease severity and the secretion of pro-inflammatory cytokines [257]. Other interesting products are carotenoids. Humans are not able to synthesize them and have to rely on plant consumption for supply. Carotenoids are effective antioxidants and present anti-inflammatory properties. β -carotene is for example the most represented carotenoids in human diet and constitutes an important source of vitamin A [257]. Vitamins themselves, especially vitamin D, have essential roles for the organism. They are antioxidants and show anti-inflammatory capacities by reducing pro-inflammatory cytokines like IL-6 or TNF- α [257]. Altogether, a variety of food components has been identified for their

potential effects on IBD care. Our non-exhaustive review will focus on one particular supplementation: n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs).

n-3 PUFAs supplementation

Since the description of the anti-inflammatory properties of n-3 in the cardiovascular system, diets enriched in n-3, and thus with an increased n-3/n-6 ratio, have been tested in different inflammatory digestive pathologies including IBD. In addition, association studies correlated high n-3 PUFAs concentrations with a reduction of CD and protection from UC [258–260]. n-3 PUFAs are considered anti-inflammatory fatty acids. They may for example counter n-6 PUFAs inflammatory effects by competition [261]. Resolvins, protectins and other pro-resolving molecules derived from n-3 PUFAs modulate the immune response toward a resolution of inflammation, and strengthen the barrier by increasing epithelial proliferation [262,263].

Table 12. Primary prevention with n-3 PUFAs in IBD.

PMA = phorbol 12-myristate 13- acetate, TEER = transepithelial electrical resistance, GLA = gamma-linolenic acid, DGLA = di-homo-gamma-linolenic acid, LA = linoleic acid, ALA = linolenic acid, PA = palmitic acid, EPA = eicosapentaenoic acid, DHA = docosahexaenoic acid, AA= arachidonic acid, LA= linoleic acid, OA = oleic acid, LC n-3 PUFA = C20:5 n-3 and C22:6 n-3, RBC = red blood cell, DPA= docosapentaenoic acid.

In vitro studies

Reference	Model	Food substrate	Treatment duration	Effect on IBD
Liu, 2020	THP1 cells. Inflammation = LPS, bactericidal activity = C. rodentium, differentiation = PMA.	1 (23.3% EPA + 13.4% DHA, 160	48h including 42h before LPS, or 72h	Krill oil: not cytotoxic, decreases LPS-induced inflammatory cytokines production, induces macrophages M2 differentiation and enhances macrophage-mediated intracellular bacterial killing.
Lee, 2003 Li, 2008 Willemssen, 2008 Xiao, 2013	RAW 264.7, 293T, T84 cells lines. Inflammation = LPS, IFN-γ then TNF-α, IL4, heat stress	At 0-100 μM +/- vitamins C (75μM) and E (20μM): ALA, EPA, DHA, LA, GLA, AA. Fat blend (15% weight = 10-100μM PUFAs with composition similar to human breast milk fat fraction)	3h-4 days before inflammation +/- 48h	LA, EPA, DHA, AA reduce LPS-induced NFκB activation and COX-2 expression in RAW 264.7 cells. DGLA, AA, EPA, DHA and GLA reinforce the barrier of T84 cells. EPA, DHA: protective effects against heat stress on Caco-2 cells barrier and permeability by modification of tight junction proteins distribution and morphology.
Draper, 2011 Ibrahim, 2011	BALB/c mice (10-14 weeks old) bone marrow derived DCs. Primary HIMEC cells. Inflammation = LPS, IL-1β.	EPA, PA or DHA (5-25μM).	7 days before LPS or 24h before then 8-24h +/- IL-1β	EPA, DHA: anti-inflammatory effects on DCs by increase of IL-10 production. DHA: anti-angiogenic properties in HIMEC by reducing VCAM-1 and VEGFR2 expression.

In preclinical studies

Reference	Model	Food substrate	Age of supplementation	Intake duration	Effect on IBD
Early life					
Tyagi, 2012 Tyagi, 2014 Charpentier, 2018	Weanling male Sprague-Dawley rats. Acute DSS or TNBS colitis.	LA:ALA (ratio of 21:5-2), LA:LC n-3 PUFA (ratio of 21:5-5). n-3, n-6 and n-9 diets with respectively n-3/n-6/n-9 ratio = 1:1:4, 1:16:16, 1:4:24.	Post weaning	with 11 days of DSS or 4 weeks before 2 weeks	LA:ALA at ratio=2 attenuates DSS colitis: reduction of DAI, colon histological score, TNF-α and IL-1β expression LA:LC n-3 PUFA at ratio=5-10 attenuate colitis severity: decrease DAI, anemia and inflammatory cytokines. It ameliorates clinical symptoms and colonic structure, changes the colon phospholipid fatty acids profile. All diets increase colon weight/length. N-3 and n-9 diets have anti-inflammatory effects: decrease colon IL-6 and COX2 production.
Adulthood					
Hassan, 2010 Ibrahim, 2011 Ibrahim, 2012	Sprague-Dawley male rats. Acute TNBS colitis.	ALA-rich camelina oil (450 mg/kg diet/day) Fish oil (DHA/EPA=1:1, 450 mg/kg diet/day)	3 weeks inferred from weaning	7 days before TNBS then 7 days	ALA: anti-inflammatory properties by decrease of adhesion molecules and inflammatory cytokines expression. Fish oil: anti-angiogenic effect on intestinal endothelial cells and decreases the expression of inflammatory cytokines.
Sánchez-Fidalgo, 2013 Bosco, 2013	Female Wild-type (WT) or Rag2-/- C57BL/6 mice. Acute T transfer colitis and "chronic" DSS colitis (induction then rest).	Extra virgin olive oil (EVOO), polyphenol extract (PE, 850 ppm), EVOO + PE, fish oil	6-12 weeks old	28-30 days before then 3-4 weeks colitis	All 3 diets reduce DAI: decrease colon histological score, inflammatory cytokines expression and cell proliferation. Fish oil: no effect on IBD score and modifies lipid concentrations.
Liu, 2020	White Yorkshire x Landrace pigs C3H/ HeNCR male mice were Trichuris suis or C. rodentium infection.	Krill oil (1.5g/day for pigs, 1.5 mg/day for mice)	9-10 weeks old (pigs) 5 weeks old (mice)	5-7 days before infection then 12-21 days	Krill oil attenuates infection-induced increase of crypts length in pigs, attenuates body weight loss and improves spleen index in mice. Krill oil changes the microbiota composition and decreases inflammatory cytokines expression.

Table 13. Secondary prevention with n-3 PUFAs in IBD.

PBS = phosphate-buffered saline, BSA = bovine serum albumin, PG = prostaglandin, MLN = mesenteric lymph node, LBP = LPS binding protein, IEL = intestinal epithelial lymphocyte, LPL = lamina propria lymphocyte, SI=small intestine. RR= relative risk, AIFAI = anti-inflammatory fatty acid index, CLA = conjugated linoleic acid, EPA-FFA = EPA free fatty acid, DBP = diastolic blood pressure, SBP = systolic blood pressure, IBDQ-9 = Inflammatory Bowel Disease Questionnaire- Short form.

In vitro studies					
Reference	Model	Food substrate	Treatment duration	Effect on IBD	
Llor, 2003 Bagga, 2003	Caco-2, HT-29, NIH 3T3, RAW 264.7 cells. Inflammation: PMA.	Emulsified in 95% ethanol+diluted in PBS (200 mmol/L): fish oil (~50% = EPA+DHA), extra virgin olive oil. At 200 mmol/L: OA-BSA, LA-BSA, fatty-acid free BSA. AA, EPA, PGE2, PGE3 (5-1000 ng/mL or 10µM)	1h-21 days	Fish and olive oils, OA-BSA induce apoptosis and cell differentiation in HT-29 and/or Caco-2 cells. Fish oil and LA-BSA decrease cell proliferation in HT-29 and/or Caco-2 cells. PGE2 and PGE3 increase IL-6 production of RAW 264.7 cells and COX-2 expression in NIH 3T3 cells.	
Trebbie, 2004 Meister, 2005	PBMCs from patients with CD. Plasma phosphatidylcholine. Colonoscopic biopsies of active UC and CD patients. Inflammation 24h: LPS, ConA.	Individuals diet: fish oil (EPA+DHA, 2.7 g/day) + antioxidant preparation (vitamins A, C, E and selenium) enteral elemental diet EO28+fish oil (dilutions 1.5, 1:10, 1:20)	24h-24 weeks	Fish oil + antioxidants modify PBMC and plasma phosphatidylcholine compositions and decrease production of cytokines. Enteral elemental diet + fish oil increases IL-1ra/IL-1β ratio and IL-1ra production in UC biopsies.	
Preclinical studies					
Reference	Model	Food substrate	Age of supplementation	Intake duration	Effect on IBD
Early life					
Ghosh, 2013	Female C57BL/6 mice. Acute C. rodentium colitis.	Corn oil + fish oil (170g/kg +10g/kg, n-3 diet), corn oil (180g/kg, n-6 diet).	4 weeks old	5 weeks	N-3 diet protects against severe colitis but increases mortality with impairment of infection-induced responses. It increases Lactobacillus and Bifidobacteria abundances. N-6 diet exacerbates colitis: increases macrophages infiltration, intestinal damages and abundance of Enterobacteriaceae.
Adulthood					
Takashima, 2014	Male Sprague–Dawley rats Chronic DSS colitis.	extra virgin olive oil (EVOO, 5%)	6 weeks old	5 weeks	Attenuation of inflammation: decreases DAI and inflammatory cytokines expression, improves histological score.
Tanaka, 2020	C57BL/6 mice	HFD (56.7 kcal% fat) +/- orlistat or atorvastatin oleic acid (200 mL twice per day/body)	6-8 weeks old	24h or 3 weeks	HFD increases body weight and reduces length of the intestine, decreases the number of IEL in small intestine and Peyer's patches.

Clinical studies					
Reference	Study design (incl. no. of participants without withdrawals)	Food substrate	Age of supplementation	Intake duration	Effect on IBD
Early life					
Romano, 2005	DB RPCT: CD patients in remission with 5-ASA (18 with n-3 fatty acids, 20 placebos).	N-3 fatty acids(3 g/day: 400 mg/g EPA, 200 mg/g DHA) Placebo = olive oil.	mean age = 10.13 years old	12 months	Reduction of relapse at 1 year.
Adulthood					
Bjørnkjær, 2006	Pilot study: CD and UC patients (5 each) and controls (10 prostate cancer patients). RCT: IBD patients (9 with seal oil, 8 placebo).	Seal oil +/- tocopherols 1.5 mg/g and DL- α -tocopheryl acetate 1.0 mg/g (1.8-2 g of EPA, 0.9-1.0 g DPA, and 2.2-2.6 g of DHA /day)	Pilot study age range (CD, UC, control): 27-42, 41-57, 50-67 years old. RCT age range (CD, UC): 21-44 and 16-55 years old.	10 days	Decrease of n-6/n-3 fatty acids ratio in blood and colon reduction of SF-36 assessed bodily pain.
Feagan, 2008	DB RPCT: EPIC-1: CD patients in remission (188 with n-3 fatty acids, 186 placebo). EPIC-2: active CD patients UBT (189 with n-3 fatty acids, 190 placebo).	N-3 free fatty acids: 4g/day (capsules with 50% fatty acids: 60% EPA and 15-25% DHA)	EPIC-1 mean age (placebo, n-3): 38.2 and 40.5 years old. EPIC-2 mean age (placebo, n-3): 40 and 38.5 years old.	EPIC-1: 52 weeks EPIC-2: 58 weeks	Fail to prevent relapse and no difference in CDAI or SF-36 scores. Good tolerance and adherence to treatment.
Turner, 2011	Meta-analysis: 1038 CD patients (6 studies) and 138 UC patients (3 studies) in remission.	Fish oil or n-3 PUFAs.	depends on study	>= 6 months	No benefit for UC patients. N-3 PUFAs reduce risk of relapse within 1 year for CD patients but heterogeneity. Higher rate of diarrhea with enteric-coated time-released capsules and risk of upper GI tract symptoms.
Grimstad, 011	Pilot study: 12 UC patients UBT (except 1 given 5-ASA during study due to flare).	Atlantic salmon (3 times 200g per week with vegetable oil/fish oil in 1:1 ratio)	mean age = 50 years old	8 weeks	Reduction of SCCAI and increase of AFAI in plasma and rectal biopsies. Increase of EPA, DHA and n-3/n-6 ratio in plasma and rectal biopsies.
Bassaganya-Riera, 2012	Open label study: 13 mild/moderately active CD patients UBT.	CLA (6 g/day)	mean age = 40 years old	12 weeks	Increase of IBDQ and decrease of CDAI. Suppression of peripheral blood CD4 and CD8 T cells production of IFN- γ , TNF- α , IL-17. Decrease of CD4 T cells proliferation under inflammation.
Scatoli, 2015 Prossomariti, 2017 Scatoli, 2018	Controlled study: patients in remission UBT (10 CD, 10 UC), 15 healthy controls. Pilot study: 17 compliant UC patients in remission UBT, Italian healthy adults controls. Randomized controlled trial. RCT: UC patients in remission UBT: 30 with EPA-FFA, 30 placebos.	EPA-FFA (1-2g/day)	mean age controlled study (CD, UC, healthy) = 39, 34, 28 years old mean age pilot study (control, EPA-FFA) = 22-48, 45 years old mean age RCT (placebo, EPA-FFA) = 42.7, 47.1 years old	8 weeks-6 months	Good compliance, 2 withdrawals of UC patients (bloating, diarrhea). Improvement of histological inflammation, maintenance of clinical remission at 6 months. Increase of n-3 PUFAs incorporation in RBC membranes and modulation of microbiota composition.
Morshedzadeh, 2019	Open-labeled RCT: UC patients UBT (30 with GF, 30 with FO, 30 control).	grounded flaxseed (GF: 30 g/day) flaxseed oil (FO: 10 g/day)	mean age (control, GF, FO) = 32.52, 29.92, 32.30 years old	12 weeks	Reduction of serum inflammatory cytokines, Mayo score, increase of IBDQ-9 score.

- *In vitro studies*

Seven selected *in vitro* studies investigated the preventive effects of n-3 PUFAs and 4 other *in vitro* studies focused on treatment (Table 12, Table 13). Diverse *in vitro* models were used, ranging from intestinal and monocytes cell lines, primary immune cells to biopsies from IBD patients. Main tested n-3 PUFAs were the eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA) and fish oil. Inflammation was mainly induced by lipopolysaccharides (LPS).

Prevention

Pre-incubating cells with n-3 PUFAs resulted in anti-inflammatory effects, with a decrease of IL-17RA, IL-12B expression in monocytes and an induction of tolerance by an increase of IL-10 production by dendritic cells (Table 12) [264,265]. A reinforcement of the gut barrier was achieved by increasing the transepithelial resistance, reducing the increase of permeability induced by inflammation, and by preventing barrier disruption [266]. The duration of exposure to n-3 PUFAs is heterogeneous, as well as the mean of inflammation. Still, promising results were achieved *in vitro* for prevention.

Treatment

Effects are more mitigated for *in vitro* n-3 PUFAs treatment (Table 13). Fish oil decreased the production of pro-inflammatory mediators like PGE2 and the expression of COX-2, but induced at the same time apoptosis [267,268]. Interestingly, fish oil modified the composition of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and plasma phosphatidylcholine. More homogeneous *in vitro* studies are needed to enable a comparison and a better vision of n-3 therapeutic effects, but these preliminary data show promising results on a preventive anti-inflammatory potential of n-3 PUFAs.

- *Preclinical studies*

More *in vivo* data is available on the preventive effects of n-3 PUFAs, with 9 studies (including 3 at early age) against 3 studies (including 1 at early age) for treatment (Table 12, Table 13). Mostly murine models were used, except of one study on pigs. N-3 PUFAs were studied as components of oil from animal (fish, krill) and plant (corn, olive...) origin. The induction of colitis was mainly acute and chemical by the use of TNBS or DSS.

Prevention

Post-weaning but also as adult, animals supplemented with n-3 PUFAs showed a reduction of disease severity and improved clinical symptoms (Table 12). Like *in vitro* studies, the supplementation modulated pro-inflammatory cytokines, with a reduction of IL-6 and iNOS [269]. Gene expression was also impacted, with a decrease of the colonic NF-κB DNA binding activity [270].

Treatment

Only one study investigated n-3 PUFAs treatment at early age (Table 13). In post-weaned mice, the n-3 diet ameliorated colitis but increased mortality by an impaired response to infection like LPS dephosphorylation ability [271].

In adults, extra virgin olive oil reduced disease activity and abrogated DSS-induced gene expression of pro-inflammatory components like COX-2 and iNOS [272]. To conclude on preclinical studies, n-3 PUFAs intervention as prevention seemed effective, with an improvement of disease severity by similar mechanisms observed *in vitro*, i.e. a modulation of immune cytokines and gene expression. It should however be noted that the main model of inflammation induction was acute, so the chronic aspect of IBD is somewhat lacking and should be taken into consideration for future studies. Not enough studies are available to assess on a clear effect of n-3 supplementation as treatment. It seems though that n-3 PUFAs interact with the immune system by modulating cytokines production and change the microbiota composition.

- *Clinical studies*

N-3 PUFAs diet was mainly studied as treatment (Table 12, Table 13). Clinical trials on the effects of n-3 PUFAs at early age are scarce; one study only is enlisted in this review and described the effects of EPA and DHA in 10 years old CD patients in remission. As complement to 5-ASA, n-3 PUFAs reduced the relapse risk. In adults, 10 studies including 1 meta-analysis and 2 consequent studies (~190 CD patients/condition) were listed and comprise a consequent part of small studies [273,274]. EPA, EPA-FFA and DHA were the main n-3 PUFAs analyzed. Patients in remission but also with moderately active disease presented decreased disease severity after n-3 PUFAs consumption. The main effects were on the n-3/n-6 ratio, a decrease of pro-inflammatory cytokines production like IFN- γ and IL-17 by CD4+ and CD8+ T cells of peripheral blood [275,276]. However, in the EPIC- 1 and -2 clinical trials which comprise the highest number of participants, n-3 PUFAs diet failed to prevent relapse and to improve disease severity in CD patients, active or in remission.

- *Conclusion on n-3 intake*

In vitro and preclinical studies showed clearly beneficial effects of n-3 PUFAs on inflammation, at different ages and both as preventive and therapeutic mean. However, at clinical level, the heterogeneity of n-3 intake duration and a lack of early age treatment studies do not allow full comparison. Especially 2 clinical trials of great number of patients do not corroborate the positive results seen in smaller pilot studies. Also, preventive studies are needed at clinical level in order to complete the investigation of the potential of n-3 PUFAs, predictive IBD markers (environmental factors, dysbiosis...) should be taken into account for the recruitment of patients. Overall, diets rich in n-3 are disappointing because they are not very effective. In view of the beneficial effects of n-6 on the digestive they could even be questioned, or replaced by diets rich in n-6 [277]. For example, the 11 β PGF₂, an arachidonic acid metabolite

induces intestinal epithelial healing [26]. Another arachidonic acid metabolite called 15-HETE decreases IEB permeability, and the prostaglandin I₂ supplementation alleviate colitis [11,25]. Altogether, implementing supplementation with not only n-3 PUFAs, but perhaps n-6 PUFAs and their derived metabolites, represents a relevant direction of study for IBD treatment.

Key ideas - Diet:

- Extensive research but not necessarily robust data are available on diets as treatment options for IBD. Several strategies are investigated, ranging from formulation, exclusion diets to supplementations.
- Main goals of diets are to decrease inflammation and/or to strengthen the immune system, to restore gut homeostasis and functions. Characterization of the effects on microbiota should be investigated as well and reducing dysbiosis should be considered as a goal to achieve.
- So the question of the relevance of diets for IBD care and/or prevention remains to be answered.

Key ideas – n-3 PUFAs supplementation:

- Lack of studies in general, both in prevention and treatment, with homogenized design.
- N-3 PUFAs supplementation appears to be beneficial at *in vitro* and preclinical levels, but fails to present robust evidences in clinical trials.
- Recent studies focused on n-6 PUFAs derived metabolites and their interest as supplementation for CD patients and showed promising results.

GENERAL CONCLUSION

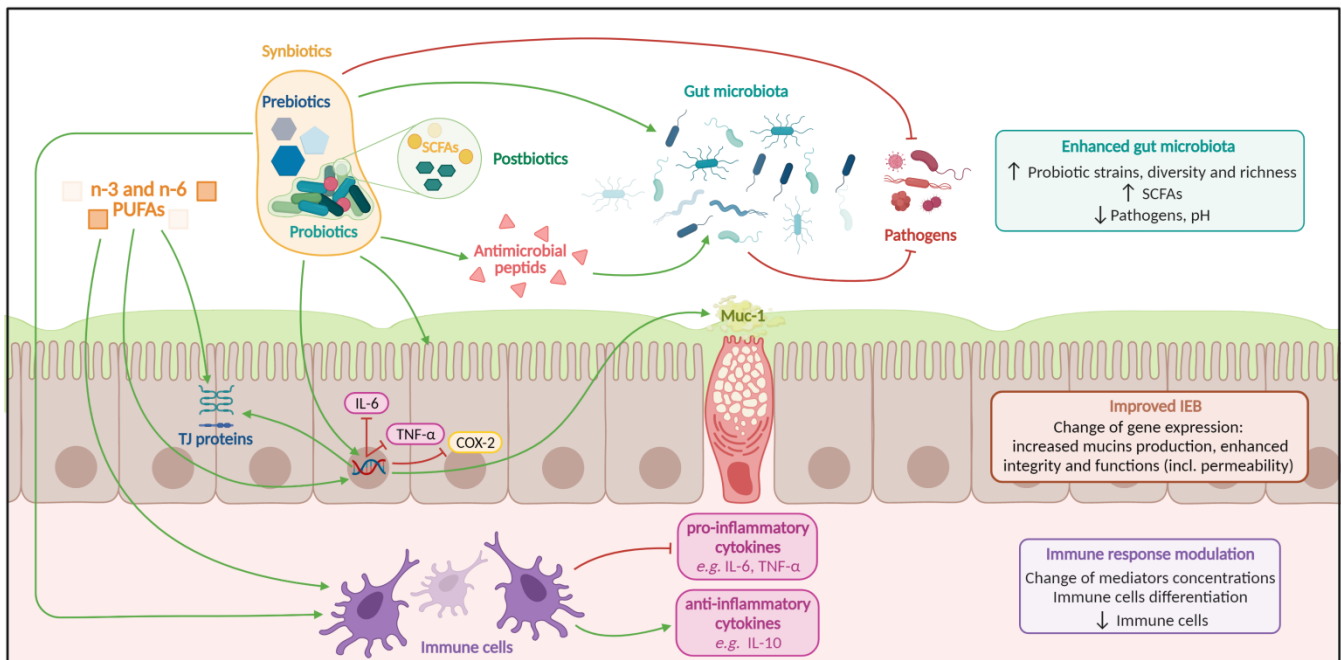


Figure 52. Summary of the general effects of prebiotics, probiotics, synbiotics, postbiotics, n-3 and n-6 PUFAs on the gut.

From pre- to postbiotic, all levels of interventions have been or are being tested to reinforce the microbiota, restore a failing microbiota or mimic its effects (Fig. 1). A comprehensive strategy that we have not mentioned so far, but which is interesting since it would bring together all the effects sought by the different strategies to improve the microbiota is fecal microbiota transplantation (FMT). FMT is the administration of a fecal preparation from a healthy subject through the lower gastro-intestinal tract (enema, colonoscopy, sigmoidoscopy) or upper gastro-intestinal tract (endoscopy, naso-intestinal tube, capsule ingestion) to a patient with a pathology related to an alteration of the intestinal microbiota, in order to exert therapeutic effects [278]. While this method has been proven to be effective in cases of recurrence of *Clostridium difficile* infection, it is still under study for IBD. Four studies have now been published and concern the treatment of active UC to induce remission. Although the number of patients studied remains small, and remission was only analyzed at 8 to 12 weeks post-FMT, they nevertheless show a significant increase in the number of patients in remission (around 25%), and are therefore encouraging [279–282]. However, they raise many questions. The first is the definition of the material to be transplanted: how can we define a healthy microbiota? Should we prefer one donor or multidonor? The second is the question of the resilience of the microbiota and of the actors of the beneficial effects of FMT: will the transplanted bacteria become sustainably established in the host? Are they the ones responsible for the effects or the bacterial products brought during the transplantation? Finally, these methods still underline the difference between CD and UC. While we can hold out hope for UC patients, interventions targeting the microbiota have not shown any efficacy in CD

patients, and are moreover accompanied by side effects (diarrhea, gas, bloating, and pain) that are difficult to bear for the patients.

These advances in FMT should not reduce studies on the potential effects and use of probiotics or probiotic cocktails, their derivatives and the diets that should accompany their intake. In addition, we still lack clinical data and information about the windows of intervention (if preventive, when?). Even so, it seems reasonable to think that interventions improving the microbiota should at least improve the therapies used to treat IBD patients.

BIBLIOGRAPHY

- 1 Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, *et al.* Increasing Incidence and Prevalence of the Inflammatory Bowel Diseases With Time, Based on Systematic Review. *Gastroenterology* 2012;142:46-54.e42.
- 2 Ananthakrishnan AN. Epidemiology and risk factors for IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2015;12:205–17.
- 3 de Lange KM, Moutsianas L, Lee JC, *et al.* Genome-wide association study implicates immune activation of multiple integrin genes in inflammatory bowel disease. *Nat Genet* 2017;49:256–61.
- 4 Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2011;474:307–17.
- 5 Piovani D, Danese S, Peyrin-Biroulet L, *et al.* Environmental Risk Factors for Inflammatory Bowel Diseases: An Umbrella Review of Meta-analyses. *Gastroenterology* 2019;157:647-659.e4.
- 6 Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007;448:427–34.
- 7 Lee J, Wasinger V, Yau Y, *et al.* Molecular Pathophysiology of Epithelial Barrier Dysfunction in Inflammatory Bowel Diseases. *Proteomes* 2018;6:17.
- 8 Nishida A, Inoue R, Inatomi O, *et al.* Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Clin J Gastroenterol* 2018;11:1–10.
- 9 Pochard C, Coquenlorge S, Freyssinet M, *et al.* The multiple faces of inflammatory enteric glial cells: Is crohn’s disease a gliopathy? *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol* 2018;315:G1–11.
- 10 Patankar J V., Becker C. Cell death in the gut epithelium and implications for chronic inflammation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2020;17:543–56.
- 11 Pochard C, Gonzales J, Bessard A, *et al.* PGI2 Inhibits Intestinal Epithelial Permeability and Apoptosis to Alleviate Colitis. *Cmgh* 2021;12:1037–60.
- 12 Tindemans I, Joosse ME, Samsom JN. Dissecting the Heterogeneity in T-Cell Mediated Inflammation in IBD. *Cells* 2020;9:110.
- 13 Sarabayrouse G, Bossard C, Chauvin J-M, *et al.* CD4CD8α α Lymphocytes, A Novel Human Regulatory T Cell Subset Induced by Colonic Bacteria and Deficient in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *PLoS Biol* 2014;12:e1001833.
- 14 Geremia A, Arancibia-Cárcamo C V. Innate Lymphoid Cells in Intestinal Inflammation. *Front Immunol* 2017;8.
- 15 Wu Y, Shen J. Innate Lymphoid Cells in Crohn’s Disease. *Front Immunol* 2020;11.
- 16 Saez A, Gomez-Bris R, Herrero-Fernandez B, *et al.* Innate Lymphoid Cells in Intestinal Homeostasis and Inflammatory Bowel Disease. *Int J Mol Sci* 2021;22:7618.
- 17 Zeng B, Shi S, Ashworth G, *et al.* ILC3 function as a double-edged sword in inflammatory bowel diseases. *Cell Death Dis* 2019;10:315.

- 18 Belai A, Boulos PB, Robson T, *et al.* Neurochemical coding in the small intestine of patients with Crohn's disease. *Gut* 1997;40:767–74.
- 19 Prigent A, Chapelet G, De Guilhem de Lataillade A, *et al.* Tau accumulates in Crohn's disease gut. *FASEB J* 2020;34:9285–96.
- 20 Prigent A, Lionnet A, Durieu E, *et al.* Enteric alpha-synuclein expression is increased in Crohn's disease. *Acta Neuropathol* 2019;137:359–61.
- 21 Soufflet F, Biraud M, Rolli-Derkinderen M, *et al.* Modulation of VIPergic phenotype of enteric neurons by colonic biopsy supernatants from patients with inflammatory bowel diseases: Involvement of IL-6 in Crohn's disease. *Neurogastroenterol Motil* 2018;30:e13198.
- 22 Geboes K, Collins S. Structural abnormalities of the nervous system in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Neurogastroenterol Motil* 1998;10:189–202.
- 23 Sjolund K, Schaffalitzky OB, Muckadell DE, *et al.* Peptide-containing nerve fibres in the gut wall in Crohn's disease. *Gut* 1983;24:724–33.
- 24 Dvorak AM, Onderdonk AB, McLeod RS, *et al.* Axonal Necrosis of Enteric Autonomic Nerves in Continent Heal Pouches Possible Implications for Pathogenesis of Crohn's Disease. *Ann Surg* 1993;217:260–71.
- 25 Pochard C, Coquenlorge S, Jaulin J, *et al.* Defects in 15-HETE Production and Control of Epithelial Permeability by Human Enteric Glial Cells from Patients with Crohn's Disease. *Gastroenterology* 2016;150:168–80.
- 26 Coquenlorge S, Van Landeghem L, Jaulin J, *et al.* The arachidonic acid metabolite 11 β -ProstaglandinF2 α controls intestinal epithelial healing: Deficiency in patients with Crohn's disease. *Sci Rep* 2016;6:1–14.
- 27 Shaw SY, Blanchard JF, Bernstein CN. Association Between the Use of Antibiotics in the First Year of Life and Pediatric Inflammatory Bowel Disease. *Am J Gastroenterol* 2010;105:2687–92.
- 28 Ungaro R, Bernstein CN, Garry R, *et al.* Antibiotics Associated With Increased Risk of New-Onset Crohn's Disease But Not Ulcerative Colitis: A Meta-Analysis. *Am J Gastroenterol* 2014;109:1728–38.
- 29 Håkansson Å, Tormo-Badia N, Baridi A, *et al.* Immunological alteration and changes of gut microbiota after dextran sulfate sodium (DSS) administration in mice. *Clin Exp Med* 2015;15:107–20.
- 30 Yang I, Eibach D, Kops F, *et al.* Intestinal Microbiota Composition of Interleukin-10 Deficient C57BL/6J Mice and Susceptibility to Helicobacter hepaticus-Induced Colitis. *PLoS One* 2013;8:e70783.
- 31 Ettreiki C, Gadonna-Widehem P, Mangin I, *et al.* Juvenile ferric iron prevents microbiota dysbiosis and colitis in adult rodents. *World J Gastroenterol* 2012;18:2619–29.
- 32 Wright EK, Kamm MA, De Cruz P, *et al.* Measurement of Fecal Calprotectin Improves Monitoring and Detection of Recurrence of Crohn's Disease After Surgery. *Gastroenterology* 2015;148:938-947.e1.

- 33 Khan I, Ullah N, Zha L, *et al.* Alteration of Gut Microbiota in Inflammatory Bowel Disease (IBD): Cause or Consequence? IBD Treatment Targeting the Gut Microbiome. *Pathogens* 2019;8:126.
- 34 Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, *et al.* The Treatment-Naive Microbiome in New-Onset Crohn's Disease. *Cell Host Microbe* 2014;15:382–92.
- 35 Lloyd-Price J, Arze C, Ananthakrishnan AN, *et al.* Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel diseases. *Nature* 2019;569:655–62.
- 36 Varela E, Manichanh C, Gallart M, *et al.* Colonisation by *Faecalibacterium prausnitzii* and maintenance of clinical remission in patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;38:151–61.
- 37 Sokol H, Seksik P, Furet JP, *et al.* Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15:1183–9.
- 38 Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, *et al.* *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci* 2008;105:16731–6.
- 39 Takahashi K, Nishida A, Fujimoto T, *et al.* Reduced Abundance of Butyrate-Producing Bacteria Species in the Fecal Microbial Community in Crohn's Disease. *Digestion* 2016;93:59–65.
- 40 Lenoir M, Martín R, Torres-Maravilla E, *et al.* Butyrate mediates anti-inflammatory effects of *Faecalibacterium prausnitzii* in intestinal epithelial cells through Dact3. *Gut Microbes* 2020;12:1826748.
- 41 Alameddine J, Godefroy E, Papargyris L, *et al.* *Faecalibacterium prausnitzii* Skews Human DC to Prime IL10-Producing T Cells Through TLR2/6/JNK Signaling and IL-10, IL-27, CD39, and IDO-1 Induction. *Front Immunol* 2019;10.
- 42 Godefroy E, Alameddine J, Montassier E, *et al.* Expression of CCR6 and CXCR6 by Gut-Derived CD4+/CD8α + T-Regulatory Cells, Which Are Decreased in Blood Samples From Patients With Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology* 2018;155:1205–17.
- 43 Quévrain E, Maubert MA, Michon C, *et al.* Identification of an anti-inflammatory protein from *Faecalibacterium prausnitzii* , a commensal bacterium deficient in Crohn's disease. *Gut* 2016;65:415–25.
- 44 Yilmaz B, Juillerat P, Øyås O, *et al.* Microbial network disturbances in relapsing refractory Crohn's disease. *Nat Med* 2019;25:323–36.
- 45 Franzosa EA, Sirota-Madi A, Avila-Pacheco J, *et al.* Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease. *Nat Microbiol* 2019;4:293–305.
- 46 Jeong DY, Kim S, Son MJ, *et al.* Induction and maintenance treatment of inflammatory bowel disease: A comprehensive review. *Autoimmun Rev* 2019;18:439–54.
- 47 Gu YB, Zhong J. Endoscopic management of stricturing Crohn's disease. *J Dig Dis* 2020;21:351–4.
- 48 Spinelli A, Armuzzi A, Ciccocioppo R, *et al.* Management of patients with complex perianal fistulas in Crohn's disease: Optimal patient flow in the Italian clinical reality. *Dig Liver Dis*

2020;52:506–15.

- 49 Marchesi JR, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome* 2015;3:31.
- 50 Fattorusso A, Di Genova L, Dell’Isola G, *et al.* Autism Spectrum Disorders and the Gut Microbiota. *Nutrients* 2019;11:521.
- 51 Leblhuber F, Ehrlich D, Steiner K, *et al.* The Immunopathogenesis of Alzheimer’s Disease Is Related to the Composition of Gut Microbiota. *Nutrients* 2021;13:361.
- 52 Baizabal-Carvallo JF, Alonso-Juarez M. The Link between Gut Dysbiosis and Neuroinflammation in Parkinson’s Disease. *Neuroscience* 2020;432:160–73.
- 53 Sarkar A, Yoo JY, Valeria Ozorio Dutra S, *et al.* The Association between Early-Life Gut Microbiota and Long-Term Health and Diseases. *J Clin Med* 2021;10:459.
- 54 Ni J, Wu GD, Albenberg L, *et al.* Gut microbiota and IBD: Causation or correlation? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;14:573–84.
- 55 Tiffany CR, Bäumlér AJ. Dysbiosis: from fiction to function. *Am J Physiol Liver Physiol* 2019;317:G602–8.
- 56 Shanahan F, Ghosh TS, O’Toole PW. The Healthy Microbiome—What Is the Definition of a Healthy Gut Microbiome? *Gastroenterology* 2021;160:483–94.
- 57 David LA, Maurice CF, Carmody RN, *et al.* Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 2014;505:559–63.
- 58 Zmora N, Suez J, Elinav E. You are what you eat: diet, health and the gut microbiota. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2019;16:35–56.
- 59 Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, *et al.* Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;14:491–502.
- 60 Brosseau C, Selle A, Palmer DJ, *et al.* Prebiotics: mechanisms and preventive effects in allergy. *Nutrients* 2019;11:1–26.
- 61 Wilson B, Whelan K. Prebiotic inulin-type fructans and galacto-oligosaccharides: definition, specificity, function, and application in gastrointestinal disorders. *J Gastroenterol Hepatol* 2017;32:64–8.
- 62 Yue B, Yu ZL, Lv C, *et al.* Regulation of the intestinal microbiota: An emerging therapeutic strategy for inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2020;26:4378–93.
- 63 Sanders ME, Merenstein DJ, Reid G, *et al.* Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* Published Online First: 2019.
- 64 Healey GR, Celiberto LS, Lee SM, *et al.* Fiber and prebiotic interventions in pediatric inflammatory bowel disease: What role does the gut microbiome play? *Nutrients* 2020;12:1–23.
- 65 Holscher HD. Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. *Gut Microbes* 2017;8:172–84.

- 66 Zivkovic AM, German JB, Lebrilla CB, *et al.* Human milk glycobioime and its impact on the infant gastrointestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci U S A* Published Online First: 2011.
- 67 Capitán-Cañadas F, Ortega-González M, Guadix E, *et al.* Prebiotic oligosaccharides directly modulate proinflammatory cytokine production in monocytes via activation of TLR4. *Mol Nutr Food Res* 2014;58:1098–110.
- 68 Lehmann S, Hiller J, Van Bergenhenegouwen J, *et al.* In vitro evidence for immune-modulatory properties of non-digestible oligosaccharides: Direct effect on human monocyte derived dendritic cells. *PLoS One* 2015;10:1–15.
- 69 Monteagudo-Mera A, Rastall RA, Gibson GR, *et al.* Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Appl Microbiol Biotechnol* 2019;103:6463–72.
- 70 Kittana H, Quintero-Villegas MI, Bindels LB, *et al.* Galactooligosaccharide supplementation provides protection against citrobacter rodentium-induced colitis without limiting pathogen burden. *Microbiol (United Kingdom)* 2018;164:154–62.
- 71 Warhurst AC, Hopkins SJ, Warhurst G. Interferon γ induces differential upregulation of α and β chemokine secretion in colonic epithelial cell lines. *Gut* 1998;42:208–13.
- 72 Vandeputte D, Falony G, Vieira-Silva S, *et al.* Prebiotic inulin-type fructans induce specific changes in the human gut microbiota. *Gut* Published Online First: 2017.
- 73 Kimura I, Miyamoto J, Ohue-Kitano R, *et al.* Maternal gut microbiota in pregnancy influences offspring metabolic phenotype in mice. *Science (80-)* 2020;367.
- 74 Cai Y, Liu W, Lin Y, *et al.* Compound polysaccharides ameliorate experimental colitis by modulating gut microbiota composition and function. *J Gastroenterol Hepatol* 2019;34:1554–62.
- 75 Gonçalves P, Araújo JR, Di Santo JP. A cross-talk between microbiota-derived short-chain fatty acids and the host mucosal immune system regulates intestinal homeostasis and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2018;24:558–72.
- 76 Soret R, Chevalier J, De Coppet P, *et al.* Short-Chain Fatty Acids Regulate the Enteric Neurons and Control Gastrointestinal Motility in Rats. *Gastroenterology* 2010;138:1772-1782.e4.
- 77 Vendrig JC, Coffeng LE, Fink-Gremmels J. In vitro evaluation of defined oligosaccharide fractions in an equine model of inflammation. *BMC Vet Res* 2013;9:1.
- 78 Ishisono K, Mano T, Yabe T, *et al.* Dietary Fiber Pectin Ameliorates Experimental Colitis in a Neutral Sugar Side Chain-Dependent Manner. *Front Immunol* 2019;10:1–14.
- 79 Oliver L, Ramió-Pujol S, Amoedo J, *et al.* P848 A novel grape-derived prebiotic selectively enhances abundance and metabolic activity of butyrate producing bacteria in faecal samples of inflammatory bowel disease. *J Crohn's Colitis* 2020;14:S653–4.
- 80 Uerlings J, Schroyen M, Bautil A, *et al.* In vitro prebiotic potential of agricultural by-products on intestinal fermentation, gut barrier and inflammatory status of piglets. *Br J Nutr* 2020;123:293–307.
- 81 Bode L, Kunz C, Muhly-Reinholz M, *et al.* Inhibition of monocyte, lymphocyte, and

- neutrophil adhesion to endothelial cells by human milk oligosaccharides. *Thromb Haemost* 2004;92:1402–10.
- 82 Eiwegger T, Stahl B, Schmitt J, *et al.* Human milk-derived oligosaccharides and plant-derived oligosaccharides stimulate cytokine production of cord blood T-cells in vitro. *Pediatr Res* 2004;56:536–40.
 - 83 Newburg DS, Ko JS, Leone S, *et al.* Human milk oligosaccharides and synthetic galactosyloligosaccharides contain 3'-, 4-, and 6'-galactosyllactose and attenuate inflammation in human T84, NCM-460, and H4 cells and intestinal tissue ex vivo^{1,2}. *J Nutr* 2016;146:358–67.
 - 84 Koroleva EP, Halperin S, Gubernatorova EO, *et al.* *Citrobacter rodentium* -induced colitis: A robust model to study mucosal immune responses in the gut. *J Immunol Methods* 2015;421:61–72.
 - 85 Zhenzhen Xu, Wei Liu, Yuhang Zhang, Di Zhang, Bin Qiu, Xianshu Wang, Jie Liu LL. Therapeutic and prebiotic effects of five different native starches on dextran sulfate sodium-induced mice model of colonic colitis. *Mol Nutr Food Res* Published Online First: 2021.
 - 86 Cherbut C, Michel C, Lecannu G. The prebiotic characteristics of fructooligosaccharides are necessary for reduction of TNBS-induced colitis in rats. *J Nutr* 2003;133:21–7.
 - 87 Grabinger T, Garzon JFG, Hausmann M, *et al.* Alleviation of intestinal inflammation by oral supplementation with 2-fucosyllactose in mice. *Front Microbiol* 2019;10:1–14.
 - 88 Cai W, Cagan A, He Z, *et al.* A Phenome-Wide Analysis of Healthcare Costs Associated with Inflammatory Bowel Diseases. *Dig Dis Sci* 2021;66:760–7.
 - 89 Singh V, Yeoh BS, Walker RE, *et al.* Microbiota fermentation-NLRP3 axis shapes the impact of dietary fibres on intestinal inflammation. *Gut* 2019;68:1–12.
 - 90 Araki Y, Kanauchi O, Sugihara H, *et al.* Germinated barley foodstuff suppresses dextran sulfate experimental colitis in rats: The role of mast cells. *Int J Mol Med* 2007;19:257–62.
 - 91 Lindsay JO, Whelan K, Stagg AJ, *et al.* Clinical, microbiological, and immunological effects of fructo-oligosaccharide in patients with Crohn's disease. *Gut* 2006;55:348–55.
 - 92 Hallert C, Björck I, Nyman M, *et al.* Increasing fecal butyrate in ulcerative colitis patients by diet: Controlled pilot study. *Inflamm Bowel Dis* 2003;9:116–21.
 - 93 Benjamin JL, Hedin CRH, Koutsoumpas A, *et al.* Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of fructo- oligosaccharides in active Crohn's disease. *Gut* 2011;60:923–9.
 - 94 Casellas F, Borruel N, Torrejón A, *et al.* Oral oligofructose-enriched inulin supplementation in acute ulcerative colitis is well tolerated and associated with lowered faecal calprotectin. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;25:1061–7.
 - 95 Hanai H, Kanauchi O, Mitsuyama K, *et al.* Germinated barley foodstuff prolongs remission in patients with ulcerative colitis. *Int J Mol Med* 2004;13:643–7.
 - 96 Joossens M, De Preter V, Ballet V, *et al.* Effect of oligofructose-enriched inulin (OF-IN) on bacterial composition and disease activity of patients with Crohn's disease: Results from a double-blinded randomised controlled trial. *Gut* 2012;61:958.

- 97 Hill C, Guarner F, Reid G, *et al.* The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014;11:506–14.
- 98 Ng SC, Hart AL, Kamm MA, *et al.* Mechanisms of action of probiotics: Recent advances. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15:300–10.
- 99 Sood A, Midha V, Makharia GK, *et al.* The Probiotic Preparation, VSL#3 Induces Remission in Patients With Mild-to-Moderately Active Ulcerative Colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:1202-1209.e1.
- 100 Dai C, De-hui Z, Jiang M. VSL#3 probiotics regulate the intestinal epithelial barrier in vivo and in vitro via the p38 and ERK signaling pathways. *Int J Mol Med* Published Online First: 15 November 2011.
- 101 Schlee M, Harder J, Köten B, *et al.* Probiotic lactobacilli and VSL#3 induce enterocyte β -defensin 2. *Clin Exp Immunol* 2008;151:528–35.
- 102 Caballero-Franco C, Keller K, De Simone C, *et al.* The VSL#3 probiotic formula induces mucin gene expression and secretion in colonic epithelial cells. *Am J Physiol Liver Physiol* 2007;292:G315–22.
- 103 Cornick S, Tawiah A, Chadee K. Roles and regulation of the mucus barrier in the gut. *Tissue Barriers* 2015;3:e982426.
- 104 Grondin JA, Kwon YH, Far PM, *et al.* Mucins in Intestinal Mucosal Defense and Inflammation: Learning From Clinical and Experimental Studies. *Front Immunol* 2020;11.
- 105 Lee SK, Kim YW, Chi S-G, *et al.* The Effect of *Saccharomyces boulardii* on Human Colon Cells and Inflammation in Rats with Trinitrobenzene Sulfonic Acid-Induced Colitis. *Dig Dis Sci* 2009;54:255–63.
- 106 Wang Y, Sun L, Chen S, *et al.* The administration of *Escherichia coli* Nissle 1917 ameliorates irinotecan-induced intestinal barrier dysfunction and gut microbial dysbiosis in mice. *Life Sci* 2019;231:116529.
- 107 Terciolo C, Dobric A, Ouaisi M, *et al.* *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 Restores intestinal Barrier Integrity by Regulation of E-cadherin Recycling. *J Crohn's Colitis* 2017;11:999–1010.
- 108 Cao Y, Shen J, Ran ZH. Association between *Faecalibacterium prausnitzii* Reduction and Inflammatory Bowel Disease: A Meta-Analysis and Systematic Review of the Literature. *Gastroenterol Res Pract* 2014;2014:1–7.
- 109 Moosavi SM, Akhavan Sepahi A, Mousavi SF, *et al.* The effect of *Faecalibacterium prausnitzii* and its extracellular vesicles on the permeability of intestinal epithelial cells and expression of PPARs and ANGPTL4 in the Caco-2 cell culture model. *J Diabetes Metab Disord* 2020;19:1061–9.
- 110 Le Maréchal C, Peton V, Plé C, *et al.* Surface proteins of *Propionibacterium freudenreichii* are involved in its anti-inflammatory properties. *J Proteomics* 2015;113:447–61.
- 111 Kumar M, Kissoon-Singh V, Coria AL, *et al.* Probiotic mixture VSL#3 reduces colonic inflammation and improves intestinal barrier function in Muc2 mucin-deficient mice. *Am J*

- Physiol Liver Physiol* 2017;312:G34–45.
- 112 Rodríguez-Nogales A, Algieri F, Garrido-Mesa J, *et al.* The Administration of Escherichia coli Nissle 1917 Ameliorates Development of DSS-Induced Colitis in Mice. *Front Pharmacol* 2018;9.
 - 113 Plé C, Breton J, Richoux R, *et al.* Combining selected immunomodulatory Propionibacterium freudenreichii and Lactobacillus delbrueckii strains: Reverse engineering development of an anti-inflammatory cheese. *Mol Nutr Food Res* 2016;60:935–48.
 - 114 Rabah H, do Carmo FLR, Carvalho RD de O, *et al.* Beneficial Propionibacteria within a Probiotic Emmental Cheese: Impact on Dextran Sodium Sulphate-Induced Colitis in Mice. *Microorganisms* 2020;8:380.
 - 115 Dai C, Zheng C-Q, Meng F, *et al.* VSL#3 probiotics exerts the anti-inflammatory activity via PI3k/Akt and NF-κB pathway in rat model of DSS-induced colitis. *Mol Cell Biochem* 2013;374:1–11.
 - 116 Mennigen R, Nolte K, Rijcken E, *et al.* Probiotic mixture VSL#3 protects the epithelial barrier by maintaining tight junction protein expression and preventing apoptosis in a murine model of colitis. *Am J Physiol Liver Physiol* 2009;296:G1140–9.
 - 117 Gaudier E, Michel C, Segain J-P, *et al.* The VSL# 3 Probiotic Mixture Modifies Microflora but Does Not Heal Chronic Dextran-Sodium Sulfate–Induced Colitis or Reinforce the Mucus Barrier in Mice. *J Nutr* 2005;135:2753–61.
 - 118 Dalmaso G, Cottrez F, Imbert V, *et al.* Saccharomyces boulardii Inhibits Inflammatory Bowel Disease by Trapping T Cells in Mesenteric Lymph Nodes. *Gastroenterology* 2006;131:1812–25.
 - 119 Grabig A, Paclik D, Guzy C, *et al.* Escherichia coli Strain Nissle 1917 Ameliorates Experimental Colitis via Toll-Like Receptor 2- and Toll-Like Receptor 4-Dependent Pathways. *Infect Immun* 2006;74:4075–82.
 - 120 Martín R, Chain F, Miquel S, *et al.* The Commensal Bacterium Faecalibacterium prausnitzii Is Protective in DNBS-induced Chronic Moderate and Severe Colitis Models. *Inflamm Bowel Dis* 2014;20:417–30.
 - 121 Laval L, Martin R, Natividad J, *et al.* Lactobacillus rhamnosus CNCM I-3690 and the commensal bacterium Faecalibacterium prausnitzii A2-165 exhibit similar protective effects to induced barrier hyper-permeability in mice. *Gut Microbes* 2015;6:1–9.
 - 122 Zhou L, Zhang M, Wang Y, *et al.* Faecalibacterium prausnitzii Produces Butyrate to Maintain Th17/Treg Balance and to Ameliorate Colorectal Colitis by Inhibiting Histone Deacetylase 1. *Inflamm Bowel Dis* 2018;24:1926–40.
 - 123 Carlsson AH, Yakymenko O, Olivier I, *et al.* Faecalibacterium prausnitzii supernatant improves intestinal barrier function in mice DSS colitis. *Scand J Gastroenterol* 2013;48:1136–44.
 - 124 Bousvaros A, Guandalini S, Baldassano RN, *et al.* A Randomized, Double-blind Trial of Lactobacillus GG Versus Placebo in Addition to Standard Maintenance Therapy for Children with Crohn’s Disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005;11:833–9.

- 125 Plein K, Hotz J. Therapeutic effects of *Saccharomyces boulardii* on mild residual symptoms in a stable phase of Crohn's disease with special respect to chronic diarrhea--a pilot study. *Z Gastroenterol* 1993;31:129–34.
- 126 Guslandi M, Mezzi G, Sorghi M, *et al.* *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 2000;45:1462–4.
- 127 Garcia Vilela E, De Lourdes De Abreu Ferrari M, Oswaldo Da Gama Torres H, *et al.* Influence of *Saccharomyces boulardii* on the intestinal permeability of patients with Crohn's disease in remission. *Scand J Gastroenterol* 2008;43:842–8.
- 128 Schultz M, Munro K, Tannock GW, *et al.* Effects of feeding a probiotic preparation (SIM) containing inulin on the severity of colitis and on the composition of the intestinal microflora in HLA-B27 transgenic rats. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004;11:581–7.
- 129 Schultz M, Timmer A, Herfarth HH, *et al.* Lactobacillus GG in inducing and maintaining remission of Crohn's disease. *BMC Gastroenterol* 2004;4:5.
- 130 KRUIS W, SCHÜTZ E, FRIC P, *et al.* Double-blind comparison of an oral *Escherichia coli* preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 1997;11:853–8.
- 131 Kruis W. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. *Gut* 2004;53:1617–23.
- 132 Huynh HQ, DeBruyn J, Guan L, *et al.* Probiotic preparation VSL#3 induces remission in children with mild to moderate acute ulcerative colitis: A pilot study. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15:760–8.
- 133 Bibiloni R, Fedorak RN, Tannock GW, *et al.* VSL#3 Probiotic-Mixture Induces Remission in Patients with Active Ulcerative Colitis. *Am J Gastroenterol* 2005;100:1539–46.
- 134 Guslandi M, Giollo P, Testoni PA. A pilot trial of *Saccharomyces boulardii* in ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15:697–8.
- 135 Rembacken B, Snelling A, Hawkey P, *et al.* Non-pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial. *Lancet* 1999;354:635–9.
- 136 Travis SPL, Stange EF, Lémann M, *et al.* European evidence-based Consensus on the management of ulcerative colitis: Current management. *J Crohn's Colitis* 2008;2:24–62.
- 137 Aguilar-Toalá JE, Garcia-Varela R, Garcia HS, *et al.* Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends Food Sci Technol* 2018;75:105–14.
- 138 Besselink MG, van Santvoort HC, Buskens E, *et al.* Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008;371:651–9.
- 139 Foligné B, Deutsch S-M, Breton J, *et al.* Promising Immunomodulatory Effects of Selected Strains of Dairy Propionibacteria as Evidenced In Vitro and In Vivo. *Appl Environ Microbiol* 2010;76:8259–64.
- 140 Wang H, Zhang L, Xu S, *et al.* Surface-Layer Protein from *Lactobacillus acidophilus* NCFM Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Inflammation through MAPK and NF-κB Signaling

- Pathways in RAW264.7 Cells. *J Agric Food Chem* 2018;66:7655–62.
- 141 Cai Z, Xu P, Wu Z, *et al.* Anti-inflammatory activity of surface layer protein SlpA of *Lactobacillus acidophilus* CICC 6074 in LPS-induced RAW 264.7 cells and DSS-induced mice colitis. *J Funct Foods* 2018;51:16–27.
 - 142 do Carmo FLR, Rabah H, Huang S, *et al.* *Propionibacterium freudenreichii* Surface Protein SlpB Is Involved in Adhesion to Intestinal HT-29 Cells. *Front Microbiol* 2017;8.
 - 143 Taverniti V, Stuknyte M, Minuzzo M, *et al.* S-Layer Protein Mediates the Stimulatory Effect of *Lactobacillus helveticus* MIMLh5 on Innate Immunity. *Appl Environ Microbiol* 2013;79:1221–31.
 - 144 Rabah H, Ménard O, Gaucher F, *et al.* Cheese matrix protects the immunomodulatory surface protein SlpB of *Propionibacterium freudenreichii* during in vitro digestion. *Food Res Int* 2018;106:712–21.
 - 145 Wang Y, Qin S, Jia J, *et al.* Intestinal Microbiota-Associated Metabolites: Crucial Factors in the Effectiveness of Herbal Medicines and Diet Therapies. *Front Physiol* 2019;10.
 - 146 Cai Z, Wang P, Guo Y, *et al.* S-layer protein modulates the stimulatory effects of *Lactobacillus acidophilus* CICC 6074 by triggering PKC signaling cascade in RAW 264.7 cells. *J Funct Foods* 2020;67:103841.
 - 147 Kim HG, Lee SY, Kim NR, *et al.* *Lactobacillus plantarum* lipoteichoic acid down-regulated *Shigella flexneri* peptidoglycan-induced inflammation. *Mol Immunol* 2011;48:382–91.
 - 148 Wang S, Ahmadi S, Nagpal R, *et al.* Lipoteichoic acid from the cell wall of a heat killed *Lactobacillus paracasei* D3-5 ameliorates aging-related leaky gut, inflammation and improves physical and cognitive functions: from *C. elegans* to mice. *GeroScience* 2020;42:333–52.
 - 149 Claes IJ, Segers ME, Verhoeven T LA, *et al.* Lipoteichoic acid is an important microbe-associated molecular pattern of *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Microb Cell Fact* 2012;11:161.
 - 150 Mohamadzadeh M, Pfeiler EA, Brown JB, *et al.* Regulation of induced colonic inflammation by *Lactobacillus acidophilus* deficient in lipoteichoic acid. *Proc Natl Acad Sci* 2011;108:4623–30.
 - 151 Grangette C, Nutten S, Palumbo E, *et al.* From The Cover: Enhanced antiinflammatory capacity of a *Lactobacillus plantarum* mutant synthesizing modified teichoic acids. *Proc Natl Acad Sci* 2005;102:10321–6.
 - 152 Fernandez EM, Valenti V, Rockel C, *et al.* Anti-inflammatory capacity of selected lactobacilli in experimental colitis is driven by NOD2-mediated recognition of a specific peptidoglycan-derived muropeptide. *Gut* 2011;60:1050–9.
 - 153 Strober W, Murray PJ, Kitani A, *et al.* Signalling pathways and molecular interactions of NOD1 and NOD2. *Nat Rev Immunol* 2006;6:9–20.
 - 154 Park JS, Choi JW, Kwon JY, *et al.* A probiotic complex, rosavin, zinc, and prebiotics ameliorate intestinal inflammation in an acute colitis mouse model. *J Transl Med* 2018;16:1–10.

- 155 Matsumoto M, Sakamoto M, Benno Y. Dynamics of fecal microbiota in hospitalized elderly fed probiotic LKM512 yogurt. *Microbiol Immunol* 2009;53:421–32.
- 156 Choi S-P, Oh H-N, Choi C-Y, *et al.* Oral administration of *Lactobacillus plantarum* CJLP133 and CJLP243 alleviates birch pollen-induced allergic rhinitis in mice. *J Appl Microbiol* 2018;124:821–8.
- 157 Korhonen R, Lahti A, Kankaanranta H, *et al.* Nitric Oxide Production and Signaling in Inflammation. *Curr Drug Target -Inflammation Allergy* 2005;4:471–9.
- 158 Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SCJ. Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens. *Nat Rev Microbiol* 2010;8:171–84.
- 159 Vavricka SR, Musch MW, Chang JE, *et al.* hPepT1 transports muramyl dipeptide, activating NF-kappaB and stimulating IL-8 secretion in human colonic Caco2/bbe cells. *Gastroenterology* 2004;127:1401–9.
- 160 Miyamoto J, Hasegawa S, Kasubuchi M, *et al.* Nutritional Signaling via Free Fatty Acid Receptors. *Int J Mol Sci* 2016;17:450.
- 161 Louis P, Flint HJ. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environ Microbiol* 2017;19:29–41.
- 162 Cummings JH, Pomare EW, Branch WJ, *et al.* Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut* 1987;28:1221–7.
- 163 Huda-Faujan N, Abdulamir AS, Fatimah AB, *et al.* The Impact of the Level of the Intestinal Short Chain Fatty Acids in Inflammatory Bowel Disease Patients Versus Healthy Subjects. *Open Biochem J* 2010;4:53–8.
- 164 Venegas DP, De La Fuente MK, Landskron G, *et al.* Short chain fatty acids (SCFAs) mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases. *Front Immunol* 2019;10.
- 165 Hurst NR, Kendig DM, Murthy KS, *et al.* The short chain fatty acids, butyrate and propionate, have differential effects on the motility of the guinea pig colon. *Neurogastroenterol Motil* 2014;26:1586–96.
- 166 Licciardi P V., Ververis K, Karagiannis TC. Histone Deacetylase Inhibition and Dietary Short-Chain Fatty Acids. *ISRN Allergy* 2011;2011:1–8.
- 167 Kelly CJ, Zheng L, Campbell EL, *et al.* Crosstalk between Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids and Intestinal Epithelial HIF Augments Tissue Barrier Function. *Cell Host Microbe* 2015;17:662–71.
- 168 Willemsen LEM. Short chain fatty acids stimulate epithelial mucin 2 expression through differential effects on prostaglandin E1 and E2 production by intestinal myofibroblasts. *Gut* 2003;52:1442–7.
- 169 Fukuda S, Toh H, Hase K, *et al.* Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature* 2011;469:543–7.
- 170 Ishikawa H, Akedo I, Umesaki Y, *et al.* Randomized Controlled Trial of the Effect of Bifidobacteria-Fermented Milk on Ulcerative Colitis. *J Am Coll Nutr* 2003;22:56–63.

- 171 Chapman MA, Grahn MF, Boyle MA, *et al.* Butyrate oxidation is impaired in the colonic mucosa of sufferers of quiescent ulcerative colitis. *Gut* 1994;35:73–6.
- 172 Thibault R, De Coppet P, Daly K, *et al.* Down-Regulation of the Monocarboxylate Transporter 1 Is Involved in Butyrate Deficiency During Intestinal Inflammation. *Gastroenterology* 2007;133:1916–27.
- 173 De Preter V, Arijis I, Windey K, *et al.* Decreased mucosal sulfide detoxification is related to an impaired butyrate oxidation in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18:2371–80.
- 174 Palmieri O, Creanza TM, Bossa F, *et al.* Genome-wide Pathway Analysis Using Gene Expression Data of Colonic Mucosa in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis* 2015;:1.
- 175 Hung T Van, Suzuki T. Short-Chain Fatty Acids Suppress Inflammatory Reactions in Caco-2 Cells and Mouse Colons. *J Agric Food Chem* 2018;66:108–17.
- 176 Park J-S, Lee E-J, Lee J-C, *et al.* Anti-inflammatory effects of short chain fatty acids in IFN- γ -stimulated RAW 264.7 murine macrophage cells: Involvement of NF- κ B and ERK signaling pathways. *Int Immunopharmacol* 2007;7:70–7.
- 177 Liu T, Li J, Liu Y, *et al.* Short-Chain Fatty Acids Suppress Lipopolysaccharide-Induced Production of Nitric Oxide and Proinflammatory Cytokines Through Inhibition of NF- κ B Pathway in RAW264.7 Cells. *Inflammation* 2012;35:1676–84.
- 178 Zheng N, Gao Y, Zhu W, *et al.* Short chain fatty acids produced by colonizing intestinal commensal bacterial interaction with expressed breast milk are anti-inflammatory in human immature enterocytes. *PLoS One* 2020;15:e0229283.
- 179 Masui R, Sasaki M, Funaki Y, *et al.* G Protein-Coupled Receptor 43 Moderates Gut Inflammation Through Cytokine Regulation from Mononuclear Cells. *Inflamm Bowel Dis* 2013;19:2848–56.
- 180 Chang P V., Hao L, Offermanns S, *et al.* The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition. *Proc Natl Acad Sci* 2014;111:2247–52.
- 181 Ji J, Shu D, Zheng M, *et al.* Microbial metabolite butyrate facilitates M2 macrophage polarization and function. *Sci Rep* 2016;6:24838.
- 182 Macia L, Tan J, Vieira AT, *et al.* Metabolite-sensing receptors GPR43 and GPR109A facilitate dietary fibre-induced gut homeostasis through regulation of the inflammasome. *Nat Commun* 2015;6:6734.
- 183 Maslowski KM, Vieira AT, Ng A, *et al.* Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature* 2009;461:1282–6.
- 184 Tian Y, Xu Q, Sun L, *et al.* Short-chain fatty acids administration is protective in colitis-associated colorectal cancer development. *J Nutr Biochem* 2018;57:103–9.
- 185 Singh N, Gurav A, Sivaprakasam S, *et al.* Activation of Gpr109a, Receptor for Niacin and the Commensal Metabolite Butyrate, Suppresses Colonic Inflammation and Carcinogenesis. *Immunity* 2014;40:128–39.
- 186 Sun M, Wu W, Chen L, *et al.* Microbiota-derived short-chain fatty acids promote Th1 cell

- IL-10 production to maintain intestinal homeostasis. *Nat Commun* 2018;9:3555.
- 187 Lawrence T, Natoli G. Transcriptional regulation of macrophage polarization: enabling diversity with identity. *Nat Rev Immunol* 2011;11:750–61.
- 188 Kim MH, Kang SG, Park JH, *et al.* Short-Chain Fatty Acids Activate GPR41 and GPR43 on Intestinal Epithelial Cells to Promote Inflammatory Responses in Mice. *Gastroenterology* 2013;145:396-406.e10.
- 189 Sina C, Gavrilova O, Förster M, *et al.* G Protein-Coupled Receptor 43 Is Essential for Neutrophil Recruitment during Intestinal Inflammation. *J Immunol* 2009;183:7514–22.
- 190 Vernia P, Monteleone G, Grandinetti G, *et al.* Combined oral sodium butyrate and mesalazine treatment compared to oral mesalazine alone in ulcerative colitis: randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Dig Dis Sci* 2000;45:976–81.
- 191 Hamer HM, Jonkers DMAE, Vanhoutvin SALW, *et al.* Effect of butyrate enemas on inflammation and antioxidant status in the colonic mucosa of patients with ulcerative colitis in remission. *Clin Nutr* 2010;29:738–44.
- 192 Scheppach W. Treatment of distal ulcerative colitis with short-chain fatty acid enemas a placebo-controlled trial. *Dig Dis Sci* 1996;41:2254–9.
- 193 STEINHART AH, HIRUKI T, BRZEZINSKI A, *et al.* Treatment of left-sided ulcerative colitis with butyrate enemas: a controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* 1996;10:729–36.
- 194 Breuer RI, Soergel KH, Lashner BA, *et al.* Short chain fatty acid rectal irrigation for left-sided ulcerative colitis: a randomised, placebo controlled trial. *Gut* 1997;40:485–91.
- 195 Breuer RI, Buto SK, Christ ML, *et al.* Rectal irrigation with short-chain fatty acids for distal ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 1991;36:185–7.
- 196 Lührs H, Gerke T, Müller JG, *et al.* Butyrate Inhibits NF-κB Activation in Lamina Propria Macrophages of Patients with Ulcerative Colitis. *Scand J Gastroenterol* 2002;37:458–66.
- 197 Schönfeld P, Wojtczak L. Short- and medium-chain fatty acids in energy metabolism: the cellular perspective. *J Lipid Res* 2016;57:943–54.
- 198 Kishino S, Takeuchi M, Park S-B, *et al.* Polyunsaturated fatty acid saturation by gut lactic acid bacteria affecting host lipid composition. *Proc Natl Acad Sci* 2013;110:17808–13.
- 199 Pujo J, Petitfils C, Le Faouder P, *et al.* Bacteria-derived long chain fatty acid exhibits anti-inflammatory properties in colitis. *Gut* 2021;70:1088–97.
- 200 Miyamoto J, Mizukure T, Park S-B, *et al.* A Gut Microbial Metabolite of Linoleic Acid, 10-Hydroxy-cis-12-octadecenoic Acid, Ameliorates Intestinal Epithelial Barrier Impairment Partially via GPR40-MEK-ERK Pathway. *J Biol Chem* 2015;290:2902–18.
- 201 Wahlström A, Sayin SI, Marschall H-U, *et al.* Intestinal Crosstalk between Bile Acids and Microbiota and Its Impact on Host Metabolism. *Cell Metab* 2016;24:41–50.
- 202 MahmoudianDehkordi S, Arnold M, Nho K, *et al.* Altered bile acid profile associates with cognitive impairment in Alzheimer’s disease—An emerging role for gut microbiome. *Alzheimer’s Dement* 2019;15:76–92.
- 203 Jena PK, Sheng L, Di Lucente J, *et al.* Dysregulated bile acid synthesis and dysbiosis are

- implicated in Western diet-induced systemic inflammation, microglial activation, and reduced neuroplasticity. *FASEB J* 2018;32:2866–77.
- 204 Vavassori P, Mencarelli A, Renga B, *et al.* The Bile Acid Receptor FXR Is a Modulator of Intestinal Innate Immunity. *J Immunol* 2009;183:6251–61.
- 205 Duboc H, Rainteau D, Rajca S, *et al.* Increase in fecal primary bile acids and dysbiosis in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 2012;24:513-e247.
- 206 Martínez-Moya P, Romero-Calvo I, Requena P, *et al.* Dose-dependent antiinflammatory effect of ursodeoxycholic acid in experimental colitis. *Int Immunopharmacol* 2013;15:372–80.
- 207 Lee DK, Park SY, Baik SK, *et al.* Deoxycholic acid-induced signal transduction in HT-29 cells: role of NF-kappa B and interleukin-8. *Korean J Gastroenterol* 2004;43:176–85.
- 208 Mühlbauer M, Allard B, Bosserhoff AK, *et al.* Differential effects of deoxycholic acid and taurodeoxycholic acid on NF-κB signal transduction and IL-8 gene expression in colonic epithelial cells. *Am J Physiol Liver Physiol* 2004;286:G1000–8.
- 209 Yoneno K, Hisamatsu T, Shimamura K, *et al.* TGR5 signalling inhibits the production of pro-inflammatory cytokines by in vitro differentiated inflammatory and intestinal macrophages in Crohn's disease. *Immunology* 2013;139:19–29.
- 210 Pols TWH, Puchner T, Korkmaz HI, *et al.* Lithocholic acid controls adaptive immune responses by inhibition of Th1 activation through the Vitamin D receptor. *PLoS One* 2017;12:e0176715.
- 211 Sinha SR, Haileselassie Y, Nguyen LP, *et al.* Dysbiosis-Induced Secondary Bile Acid Deficiency Promotes Intestinal Inflammation. *Cell Host Microbe* 2020;27:659-670.e5.
- 212 Ward JBJ, Lajczak NK, Kelly OB, *et al.* Ursodeoxycholic acid and lithocholic acid exert anti-inflammatory actions in the colon. *Am J Physiol Liver Physiol* 2017;312:G550–8.
- 213 Zhao S, Gong Z, Zhou J, *et al.* Deoxycholic Acid Triggers NLRP3 Inflammasome Activation and Aggravates DSS-Induced Colitis in Mice. *Front Immunol* 2016;7.
- 214 Kullmann F, Arndt H, Gross V, *et al.* Beneficial effect of ursodeoxycholic acid on mucosal damage in trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997;9:1205–11.
- 215 Xu M, Shen Y, Cen M, *et al.* Modulation of the Gut Microbiota-farnesoid X Receptor Axis Improves Deoxycholic Acid-induced Intestinal Inflammation in Mice. *J Crohn's Colitis* 2021;15:1197–210.
- 216 Ramalho RM, Viana RJS, Low WC, *et al.* Bile acids and apoptosis modulation: an emerging role in experimental Alzheimer's disease. *Trends Mol Med* 2008;14:54–62.
- 217 Barrasa JI, Olmo N, Pérez-Ramos P, *et al.* Deoxycholic and chenodeoxycholic bile acids induce apoptosis via oxidative stress in human colon adenocarcinoma cells. *Apoptosis* 2011;16:1054–67.
- 218 Gubatan J, Moss AC. Vitamin D in inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2018;34:217–25.

- 219 Assa A, Vong L, Pinnell LJ, *et al.* Vitamin D Deficiency Predisposes to Adherent-invasive Escherichia coli-induced Barrier Dysfunction and Experimental Colonic Injury. *Inflamm Bowel Dis* 2015;21:297–306.
- 220 Wang T-T, Dabbas B, Laperriere D, *et al.* Direct and Indirect Induction by 1,25-Dihydroxyvitamin D3 of the NOD2/CARD15-Defensin β 2 Innate Immune Pathway Defective in Crohn Disease. *J Biol Chem* 2010;285:2227–31.
- 221 Stio M, Retico L, Annese V, *et al.* Vitamin D regulates the tight-junction protein expression in active ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 2016;51:1193–9.
- 222 Chen Y-H, Yu Z, Fu L, *et al.* Vitamin D3 inhibits lipopolysaccharide-induced placental inflammation through reinforcing interaction between vitamin D receptor and nuclear factor kappa B p65 subunit. *Sci Rep* 2015;5:10871.
- 223 Ghaly S, Kaakoush NO, Lloyd F, *et al.* High Dose Vitamin D supplementation alters faecal microbiome and predisposes mice to more severe colitis. *Sci Rep* 2018;8:11511.
- 224 Raftery T, Martineau AR, Greiller CL, *et al.* Effects of vitamin D supplementation on intestinal permeability, cathelicidin and disease markers in Crohn’s disease: Results from a randomised double-blind placebo-controlled study. *United Eur Gastroenterol J* 2015;3:294–302.
- 225 Narula N, Cooray M, Anglin R, *et al.* Impact of High-Dose Vitamin D3 Supplementation in Patients with Crohn’s Disease in Remission: A Pilot Randomized Double-Blind Controlled Study. *Dig Dis Sci* 2017;62:448–55.
- 226 Yang L, Weaver V, Smith JP, *et al.* Therapeutic Effect of Vitamin D Supplementation in a Pilot Study of Crohn’s Patients. *Clin Transl Gastroenterol* 2013;4:e33.
- 227 Tan B, Li P, Lv H, *et al.* Treatment of vitamin D deficiency in Chinese inflammatory bowel disease patients: A prospective, randomized, open-label, pilot study. *J Dig Dis* 2018;19:215–24.
- 228 Gubatan J, Mitsuhashi S, Zenlea T, *et al.* Low Serum Vitamin D During Remission Increases Risk of Clinical Relapse in Patients With Ulcerative Colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2017;15:240-246.e1.
- 229 Garg M, Hendy P, Ding JN, *et al.* The Effect of Vitamin D on Intestinal Inflammation and Faecal Microbiota in Patients with Ulcerative Colitis. *J Crohn’s Colitis* 2018;12:963–72.
- 230 Ahamed Z R, Dutta U, Sharma V, *et al.* Oral Nano Vitamin D Supplementation Reduces Disease Activity in Ulcerative Colitis. *J Clin Gastroenterol* 2019;53:e409–15.
- 231 Karimi S, Tabataba-vakili S, Ebrahimi-Daryani N, *et al.* Inflammatory biomarkers response to two dosages of vitamin D supplementation in patients with ulcerative colitis: A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Clin Nutr ESPEN* 2020;36:76–81.
- 232 Darb Emamie A, Rajabpour M, Ghanavati R, *et al.* The effects of probiotics, prebiotics and synbiotics on the reduction of IBD complications, a periodic review during 2009–2020. *J Appl Microbiol* 2020;:1–16.
- 233 de Vrese M, Schrezenmeir J. Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics. In: *Food Biotechnology*.

Springer, Berlin, Heidelberg 2008. 1–66.

- 234 Zhang X-F, Guan X-X, Tang Y-J, *et al.* Clinical effects and gut microbiota changes of using probiotics, prebiotics or synbiotics in inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Nutr* Published Online First: 2021.
- 235 Ghouri YA, Richards DM, Rahimi EF, *et al.* Systematic review of randomized controlled trials of probiotics, prebiotics, and synbiotics in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Gastroenterol* 2014;7:473–87.
- 236 Mitsuyama K, Sata M. Gut microflora: A new target for therapeutic approaches in inflammatory bowel disease. *Expert Opin Ther Targets* 2008;12:301–12.
- 237 Duysburgh C, Van den Abbeele P, Krishnan K, *et al.* A synbiotic concept containing spore-forming *Bacillus* strains and a prebiotic fiber blend consistently enhanced metabolic activity by modulation of the gut microbiome in vitro. *Int J Pharm X* 2019;1:100021.
- 238 Asarat M, Apostolopoulos V, Vasiljevic T, *et al.* Short-chain fatty acids produced by synbiotic mixtures in skim milk differentially regulate proliferation and cytokine production in peripheral blood mononuclear cells. *Int J Food Sci Nutr* 2015;66:755–65.
- 239 Simeoli R, Raso GM, Lama A, *et al.* Preventive and therapeutic effects of *Lactobacillus Paracasei* B21060-based synbiotic treatment on gut inflammation and barrier integrity in colitic mice. *J Nutr* 2015;145:1202–10.
- 240 Sheng K, He S, Sun M, *et al.* Synbiotic supplementation containing: *Bifidobacterium infantis* and xylooligosaccharides alleviates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis. *Food Funct* 2020;11:3964–74.
- 241 Haskey N, Dahl WJ. Synbiotic Therapy Improves Quality of Life and Reduces Symptoms in Pediatric Ulcerative Colitis. *ICAN Infant, Child, Adolesc Nutr* 2009;1:88–93.
- 242 Chermesh I, Tamir A, Reshef R, *et al.* Failure of synbiotic 2000 to prevent postoperative recurrence of Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 2007;52:385–9.
- 243 Ahmed J, Reddy BS, Mølbak L, *et al.* Impact of probiotics on colonic microflora in patients with colitis: A prospective double blind randomised crossover study. *Int J Surg* 2013;11:1131–6.
- 244 Federico A, Tuccillo C, Grossi E, *et al.* The effect of a new symbiotic formulation on plasma levels and peripheral blood mononuclear cell expression of some pro-inflammatory cytokines in patients with ulcerative colitis: A pilot study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2009;13:285–93.
- 245 Furrie E, Macfarlane S, Kennedy A, *et al.* Synbiotic therapy (*Bifidobacterium longum*/Synergy 1) initiates resolution of inflammation in patients with active ulcerative colitis: A randomised controlled pilot trial. *Gut* 2005;54:242–9.
- 246 Steed H, MacFarlane GT, Blackett KL, *et al.* Clinical trial: The microbiological and immunological effects of synbiotic consumption - A randomized double-blind placebo-controlled study in active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;32:872–83.
- 247 Malathi K, Nandini R, Kr D, *et al.* Journal of Hepatology and A Randomized Open Label Study to Evaluate the Efficacy and Tolerability of Synbiotic in the Treatment of Ulcerative

- Colitis. *J Hepatol Gastrointest Disord* 2019;5:1–4.
- 248 Khorshidi M, Djafarian K, Aghayei E, *et al.* A posteriori dietary patterns and risk of inflammatory bowel disease: A meta-analysis of observational studies. 2020.
 - 249 Lewis JD, Abreu MT. Diet as a Trigger or Therapy for Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology* 2017;152:398-414.e6.
 - 250 van der Logt EMJ, Blokzijl T, van der Meer R, *et al.* Westernized high-fat diet accelerates weight loss in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice, which is further aggravated by supplementation of heme. *J Nutr Biochem* 2013;24:1159–65.
 - 251 Devkota S, Wang Y, Musch MW, *et al.* Dietary-fat-induced taurocholic acid promotes pathobiont expansion and colitis in Il10^{-/-} mice. *Nature* 2012;487:104–8.
 - 252 Le Leu RK, Young GP, Hu Y, *et al.* Dietary red meat aggravates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice whereas resistant starch attenuates inflammation. *Dig Dis Sci* 2013;58:3475–82.
 - 253 Suzuki K. The developing world of DOHaD. *J Dev Orig Health Dis* 2018;9:266–9.
 - 254 Klement E, Cohen R V, Boxman J, *et al.* Breastfeeding and risk of inflammatory bowel disease: a systematic review with meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1342–52.
 - 255 Reddavid R, Rotolo O, Caruso MG, *et al.* The role of diet in the prevention and treatment of inflammatory bowel diseases. *Acta Biomed* 2018;89:60–75.
 - 256 Schaible TD, Harris RA, Dowd SE, *et al.* Maternal methyl-donor supplementation induces prolonged murine offspring colitis susceptibility in association with mucosal epigenetic and microbiomic changes. *Hum Mol Genet* 2011;20:1687–96.
 - 257 Nascimento R de P do, Moya AMTM, Machado AP da F, *et al.* Review on the potential application of non-phenolic compounds from native Latin American food byproducts in inflammatory bowel diseases. *Food Res Int* 2021;139.
 - 258 Chan SSM, Luben R, Olsen A, *et al.* Association between high dietary intake of the n –3 polyunsaturated fatty acid docosahexaenoic acid and reduced risk of Crohn’s disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2014;39:834–42.
 - 259 Ananthakrishnan AN, Khalili H, Konijeti GG, *et al.* Long-term intake of dietary fat and risk of ulcerative colitis and Crohn’s disease. *Gut* 2014;63:776–84.
 - 260 John S, Luben R, Shrestha SS, *et al.* Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and the aetiology of ulcerative colitis: a UK prospective cohort study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010;22:602–6.
 - 261 Marion-Letellier R, Savoye G, Beck PL, *et al.* Polyunsaturated fatty acids in inflammatory bowel diseases: A reappraisal of effects and therapeutic approaches. *Inflamm Bowel Dis* 2013;19:650–61.
 - 262 Michalak A, Mosińska P, Fichna J. Polyunsaturated fatty acids and their derivatives: Therapeutic value for inflammatory, functional gastrointestinal disorders, and colorectal cancer. *Front Pharmacol* 2016;7:1–16.
 - 263 Marton LT, Goulart R de A, Carvalho ACA de, *et al.* Omega fatty acids and inflammatory

- bowel diseases: An overview. *Int J Mol Sci* 2019;20.
- 264 Liu F, Smith AD, Solano-Aguilar G, *et al.* Mechanistic insights into the attenuation of intestinal inflammation and modulation of the gut microbiome by krill oil using in vitro and in vivo models. *Microbiome* 2020;8:1–21.
- 265 Draper E, Reynolds CM, Canavan M, *et al.* Omega-3 fatty acids attenuate dendritic cell function via NF- κ B independent of PPAR γ . *J Nutr Biochem* 2011;22:784–90.
- 266 Li Q, Zhang Q, Wang M, *et al.* N-3 Polyunsaturated Fatty Acids Prevent Disruption of Epithelial Barrier Function Induced By Proinflammatory Cytokines. *Mol Immunol* 2008;45:1356–65.
- 267 Trebble TM, Arden NK, Wootton SA, *et al.* Fish oil and antioxidants alter the composition and function of circulating mononuclear cells in Crohn disease. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1137–44.
- 268 Llor X, Pons E, Roca A, *et al.* The effects of fish oil, olive oil, oleic acid and linoleic acid on colorectal neoplastic processes. *Clin Nutr* 2003;22:71–9.
- 269 Charpentier C, Chan R, Salameh E, *et al.* Dietary n-3 PUFA may attenuate experimental colitis. *Mediators Inflamm* 2018;2018.
- 270 Hassan A, Ibrahim A, Mbodji K, *et al.* An α -linolenic acid-rich formula reduces oxidative stress and inflammation by regulating NF- κ B in rats with TNBS-induced colitis. *J Nutr* 2010;140:1714–21.
- 271 Ghosh S, DeCoffe D, Brown K, *et al.* Fish Oil Attenuates Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acid-Induced Dysbiosis and Infectious Colitis but Impairs LPS Dephosphorylation Activity Causing Sepsis. *PLoS One* 2013;8.
- 272 Takashima T, Sakata Y, Iwakiri R, *et al.* Feeding with olive oil attenuates inflammation in dextran sulfate sodium-induced colitis in rat. *J Nutr Biochem* 2014;25:186–92.
- 273 Turner D, Shah PS, Steinhart AH, *et al.* Maintenance of remission in inflammatory bowel disease using omega-3 fatty acids (fish oil): A systematic review and meta-analyses. *Inflamm Bowel Dis* 2011;17:336–45.
- 274 Feagan BG, Sandborn WJ, Mittmann U, *et al.* Omega-3 free fatty acids for the maintenance of remission in Crohn disease: the EPIC Randomized Controlled Trials. *JAMA* 2008;299:1690–7.
- 275 Grimstad T, Berge RK, Bohov P, *et al.* Salmon diet in patients with active ulcerative colitis reduced the simple clinical colitis activity index and increased the anti-inflammatory fatty acid index - A pilot study. *Scand J Clin Lab Invest* 2011;71:68–73.
- 276 Bassaganya-Riera J, Hontecillas R, Horne WT, *et al.* Conjugated linoleic acid modulates immune responses in patients with mild to moderately active Crohn's disease. *Clin Nutr* 2012;31:721–7.
- 277 Gobbetti T, Dalli J, Colas RA, *et al.* Protectin D1n-3 DPA and resolvin D5n-3 DPA are effectors of intestinal protection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017;114:3963–8.
- 278 Bakken JS, Borody T, Brandt LJ, *et al.* Treating Clostridium difficile Infection With Fecal Microbiota Transplantation. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:1044–9.

- 279 Rossen NG. Fecal microbiota transplantation as novel therapy in gastroenterology: A systematic review. *World J Gastroenterol* 2015;21:5359.
- 280 Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, *et al.* Fecal Microbiota Transplantation Induces Remission in Patients With Active Ulcerative Colitis in a Randomized Controlled Trial. *Gastroenterology* 2015;149:102-109.e6.
- 281 Paramsothy S, Kamm MA, Kaakoush NO, *et al.* Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2017;389:1218–28.
- 282 Costello SP, Hughes PA, Waters O, *et al.* Effect of Fecal Microbiota Transplantation on 8-Week Remission in Patients With Ulcerative Colitis. *JAMA* 2019;321:156.

Stratégies thérapeutiques pour les MICI

- L'arsenal thérapeutique existant n'est pas curatif, il comprend des médicaments dont la posologie est à adapter selon la MICI considérée et son degré d'intensité.
- Le développement des thérapies biologiques (anti-TNF- α) a considérablement amélioré la qualité de vie des patients, mais reste porteuse d'effets secondaires et d'un coût non négligeable.
- Le recours à la chirurgie reste fréquent et n'est pas exempt de complications.
- De nouvelles pistes de recherche prometteuses sont en cours d'étude et visent à moduler le microbiote intestinal pour non seulement améliorer la prise en charge des patients, mais également prévenir le développement d'une MICI.

Objectifs

Cet état de l'art a permis de mettre en exergue l'importance d'une amélioration de la prise en charge des MICI. La modulation du microbiote intestinal représente dans ce contexte une piste de recherche prometteuse. Notre projet d'étude vise à déterminer les effets d'une modulation maternelle du microbiote intestinal par des prébiotiques sur le développement d'une MICI chez la progéniture. Pour ce faire, nous cherchons à apporter des éléments de réponse aux questions suivantes :

- Est-ce que la supplémentation maternelle anténatale en prébiotiques a un impact sur le développement de la colite induite chez la descendance ?
- Est-ce que la supplémentation maternelle anténatale en prébiotiques module les réponses de l'hôte et du microbiote en contexte de colite chez la descendance ?

Résultats

A. Résumé de l'article

Afin de répondre à ces questions, nous avons établi un protocole expérimental murin dans lequel une supplémentation maternelle en galacto-oligosaccharides (GOS) et inuline, un mélange de prébiotiques fréquemment retrouvés dans les formulations infantiles et démontré comme protecteur contre le développement d'une allergie alimentaire chez la descendance, a été effectuée lors de la gestation [209,210]. Une supplémentation uniquement lors de la gestation permet de discriminer les effets par rapport à la lactation, et a été démontré comme impactant le système immunitaire, le microbiote et le métabolisme de la descendance [211]. La modélisation d'une MICI chez la descendance a par ailleurs été effectuée par l'utilisation du modèle classique de colite chimique d'administration de « dextran sulfate sodium » dit DSS [212].

Le suivi du développement de la colite a été effectué lors du protocole par la mesure des paramètres suivants : le score pathologique « disease activity index » (DAI), la consistance des selles, la présence ou non de sang dans les selles, le temps de transit, la fréquence et l'humidité des selles, la perméabilité intestinale *in vivo* transcellulaire et paracellulaire. À l'issue du protocole, cette caractérisation a été complétée par la mesure des perméabilités *ex vivo* transcellulaire et paracellulaire, le dosage du marqueur d'inflammation globale lipocaline 2 dans les selles, la détermination de la présence de lymphocytes T et de macrophages dans la muqueuse colique distale, et du remodelage histologique du côlon distal. Une approche mécanistique a été entreprise par la caractérisation des lipides, de l'expression des gènes et de la composition bactérienne du côlon distal tout comme la concentration caecale en AGCC.

De manière surprenante, nos résultats convergent vers une exacerbation du développement d'une colite chronique chez la descendance murine suite à une supplémentation maternelle en prébiotiques lors de la gestation. Cet effet délétère se traduit tout d'abord par une augmentation du DAI, qui est le reflet de la perte de poids associée à la consistance des selles et à la présence de sang dans celles-ci. Une augmentation de l'humidité des selles chez la descendance sous DSS exposée aux prébiotiques par leur mère renforce ce résultat. Les fonctions de la BEI sont affectées par la prise anténatale en prébiotiques sous DSS, avec une abolition de l'augmentation de la perméabilité *in vivo* paracellulaire et *ex vivo* du côlon proximal induite par le traitement au DSS. La prise maternelle en GOS/inuline influence par ailleurs l'inflammation de la BEI, par une augmentation du recrutement de

cellules immunes innées (macrophages) et adaptatives (lymphocytes T) au sein du côlon distal de la descendance exposée au DSS.

Les mécanismes sous-jacents la sensibilité accrue à la colite induite par une supplémentation anténatale en GOS/inuline ont été en partie étudiés.

La supplémentation maternelle en GOS/inuline a modifié sous DSS le microbiome intestinal du côlon distal de la descendance. En effet, 8 souches bactériennes comprenant une ou plusieurs souches des genres *Odoribacter*, *Colidextribacter*, *Lactobacillus*, du groupe *Eubacterium coprostanoligenes* et des familles *Peptococcaceae* et *Muribaculaceae* ont été retrouvées surabondantes dans le côlon distal des souris P+DSS par rapport au groupe DSS. La prise anténatale de GOS/inuline a diminué par ailleurs la concentration caecale de butyrate en contexte de colite. Ces résultats sont surprenants par leur caractère contradictoire, avec une diminution de butyrate anti-inflammatoire tandis que les bactéries surabondantes ont des effets majoritairement associés à la résolution de l'inflammation.

Concernant le métabolisme, le profil lipidique et potentiellement transcriptomique du côlon distal des souris sous DSS sont impactés par l'enrichissement anténatal en GOS/inuline. La concentration des lipides RvD5, 14-HDoHE et PDX est augmentée dans le côlon distal des souris du groupe P+DSS par rapport à son groupe contrôle P. Ces dérivés d'acides gras n-3 possèdent selon la littérature des propriétés anti-inflammatoires, mais plusieurs données suggèrent leur potentiel effet délétère.

En condition de colite, l'exposition anténatale aux prébiotiques a potentiellement induit une modulation spécifique d'une grande variété de gènes. Non seulement les gènes spécifiques au groupe P+DSS sont liés en particulier à la réponse immunitaire (*Tnfrsf1b* et *Tnfrsf23* augmentés), mais aussi au métabolisme des lipides (*Hpgds* diminué), aux fonctions de la BEI (*Aqp11* et *Cldn2* diminués) et à des processus neurologiques (*Sema5a* et *Comt* diminués). Cette modulation souligne le caractère dynamique et interconnecté des différentes composantes de l'intestin, mais surtout l'empreinte à long terme laissée par l'enrichissement anténatal en GOS/inuline sur la descendance.

Nos résultats suggèrent aussi une reprogrammation des systèmes biologiques intestinaux en condition basale, avec une altération des profils lipidique (28 lipides augmentés), transcriptomique (13 gènes différentiellement exprimés) et du microbiote intestinal (7 espèces bactériennes surabondantes), qui se traduisent physiologiquement par un raccourcissement du côlon pour les souris du groupe P par rapport au groupe contrôle. Cette chaîne d'influences s'avère délétère pour la descendance, avec une potentialisation de la réponse inflammatoire en réponse à un stimulus qu'est le traitement DSS, concomitante à une augmentation de processus de résolution de l'inflammation compensateurs.

B. Article

Manuscripts submitted to Journal of Crohn's and Colitis



MATERNAL EXPOSURE TO PREBIOTICS EXACERBATES COLITIS DEVELOPMENT IN OFFSPRING MICE

Journal:	<i>Journal of Crohn's and Colitis</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Lê, Amélie; Université de Nantes, Inserm UMR1235 TENS Selle, Amandine; INRA Pays de la Loire, UR1268 BIA Bordron, Philippe; Université de Nantes, Inserm UMR1235 TENS Delage, Erwan; CNRS, UMR6004, CNRS/LS2N/Université de Nantes Durieu, Emilie; Université de Nantes, Inserm UMR1235 TENS Brosseau, Carole; INRA Pays de la Loire, UR1268 BIA Petitfils, Camille; INSERM, UMR1220, IRSD Cenac, Nicolas; INSERM U1220, IRSD Aubert, Philippe; Université de Nantes, Inserm UMR1235 TENS Bossard, Celine; CHU de Nantes, Service d'Anatomie et Cytologie Pathologique Neunlist, Michel; INSERM, , TENS, The Enteric Nervous System in Gut and Brain Disorders, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif Bodinier, Marie; INRA Pays de la Loire, UR1268 BIA Rolli-Derkinderen, Malvyne; Université de Nantes, Inserm UMR1235 TENS
Subject:	Basic science, experimental models and pathophysiology
Classifications:	Basic science, experimental models and pathophysiology

SCHOLARONE™
Manuscripts

<https://mc.manuscriptcentral.com/ecco-jcc>

TITLE PAGE

MATERNAL EXPOSURE TO PREBIOTICS EXACERBATES COLITIS DEVELOPMENT IN OFFSPRING MICE

Amélie LE : Université de Nantes, Inserm, TENS, The Enteric Nervous System in Gut and Brain Disorders, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, Nantes, F-44093, France. amelie.le67@gmail.com

Amandine SELLE: UR1268 BIA, INRAE Pays de la Loire, Nantes, France amandine.selle@inrae.fr

Philippe BORDRON: Université de Nantes, Inserm, TENS, The Enteric Nervous System in Gut and Brain Disorders, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, Nantes, F-44093, France philippe.bordron@inrae.fr

Erwan DELAGE: UMR6004, CNRS/LS2N/Université de Nantes, Nantes, France erwan.delage.pro@gmail.com

Emilie DURIEU: Université de Nantes, Inserm, TENS, The Enteric Nervous System in Gut and Brain Disorders, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, Nantes, F-44093, France emilie.durieu@univ-nantes.fr

Carole BROSSEAU: UR1268 BIA, INRAE Pays de la Loire, Nantes, France carole.brosseau@inrae.fr

Camille PETITFILS: UMR1220, IRSD, Toulouse, France camille.petitfils@inserm.fr

Nicolas CENAC: UMR1220, IRSD, Toulouse, France nicolas.cenac@inserm.fr

Philippe AUBERT: Université de Nantes, Inserm, TENS, The Enteric Nervous System in Gut and Brain Disorders, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, Nantes, F-44093, France philippe.Aubert@univ-nantes.fr

Céline BOSSARD, Service d'Anatomie et Cytologie Pathologique, Université de Nantes, CHU Nantes, Inserm, CRCINA, Nantes, France Celine.Bossard@univ-nantes

Co-last authors:

Michel NEUNLIST: Université de Nantes, Inserm, TENS, The Enteric Nervous System in Gut and Brain Disorders, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, Nantes, F-44093, France michel.Neunlist@univ-nantes.fr

Marie BODINIER: UR1268 BIA, INRAE Pays de la Loire, Nantes, France marie.bodinier@inrae.fr

Malvyne ROLLI-DERKINDEREN: Université de Nantes, Inserm, TENS, The Enteric Nervous System in Gut and Brain Disorders, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, Nantes, F-44093, France malvyne.derkinderen@univ-nantes.fr

Short title: PREBIOTICS CHANGE OFFSPRING'S COLONIC GENES AND LIPIDS

Non-standardized abbreviations: P=prebiotics GOS+inulin

Address for correspondence: Malvyne Rolli-Derkinderen, 1 Rue Gaston Veil, Nantes F-44000, malvyne.derkinderen@univ-nantes.fr

ABSTRACT

Background and Aims

Current investigations on gut microbial interventions aim to correct the dysbiosis associated to IBD and improve disease outcome. As prebiotics given to pregnant mice are described to enrich the microbiota, and as IBD could have a developmental origin, we investigated the effects of prebiotic supplementation in pregnant mice on colitis occurrence in their offspring.

Methods

Offspring from mothers exposed to the prebiotics galacto-oligosaccharides and inulin during gestation, or fed with a control diet, were submitted or not to 3 cycles of dextran sulfate sodium to induce chronic colitis. The intestinal functions and the disease activity were followed. The colonic remodeling, the gut microbiota composition, the lipidomic and transcriptomic signatures were assessed.

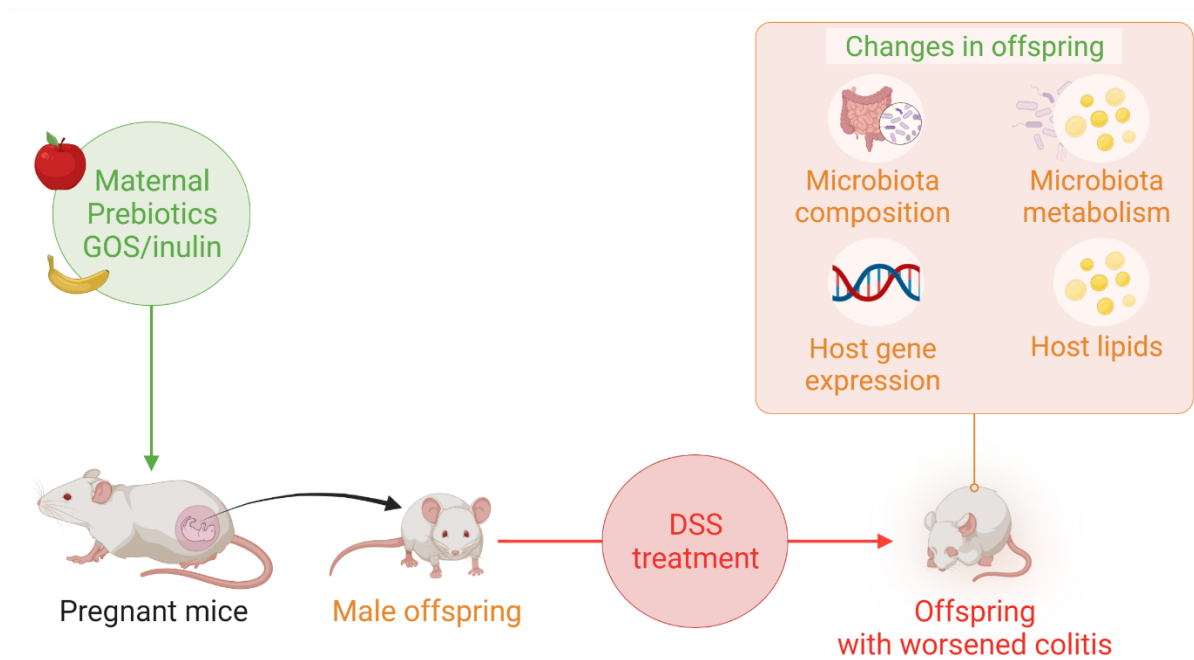
Results

Offspring from prebiotic-fed mothers under colitis presented a higher disease score, a worse weight loss and an increased feces humidity compared to offspring from standard diet-fed mothers. Treated offspring from prebiotic-fed mothers also showed an increase frequency of colonic mucosal lymphocytes and macrophages compared to their control group without colitogen, associated with an increased colonic concentration of RvD5, PDX, 14-HDoHE and a potential modulation of colonic gene expression. Maternal prebiotic supplementation induced, under colitis, an overabundance of 8 bacterial strains and a decreased butyrate caecal concentration compared to colitis control offspring.

Conclusions

Antenatal prebiotics exposure modified the composition and function of the microbiota, the lipids content and the transcriptome of the offspring's colon. These modifications were not able to protect from colitis but rather sensitized to colitis development.

GRAPHICAL ABSTRACT



Key words: IBD, colitis, microbiota, prebiotics, lipids.

INTRODUCTION

Inflammatory bowel diseases (IBD) are a worldwide health issue, reaching about 1.5 million persons in the USA in 2018[1]. IBD include ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD)[2]. They affect young adults but also children for which an altered immune and enteric nervous systems, a dysfunction of the gut epithelial barrier and a dysbiosis are observed[3–5]. IBD pathogenesis is sustained by: 1/ an immune disorder that involves both innate and adaptive cells[6,7]; 2/ an increase permeability of the gut and defects in epithelial repair [8–11]; 3/ a decrease of gut microbiota diversity and abundance of beneficial strains such as *F. prausnitzii* and an alteration of biological functions such as the carbohydrate metabolism[12,13]. The observations of the altered phenotype of the enteric nervous system in IBD patients is now associated with a loss of the enteric glial cell capacity to maintain epithelial homeostasis in CD patients due to a default in bioactive lipids production[14,15]. Incidentally, the lipid profile of CD and UC patients biopsies has been recently shown to differ from control patients, underlining the potential role of these bioactive mediators in IBD pathogenesis[16].

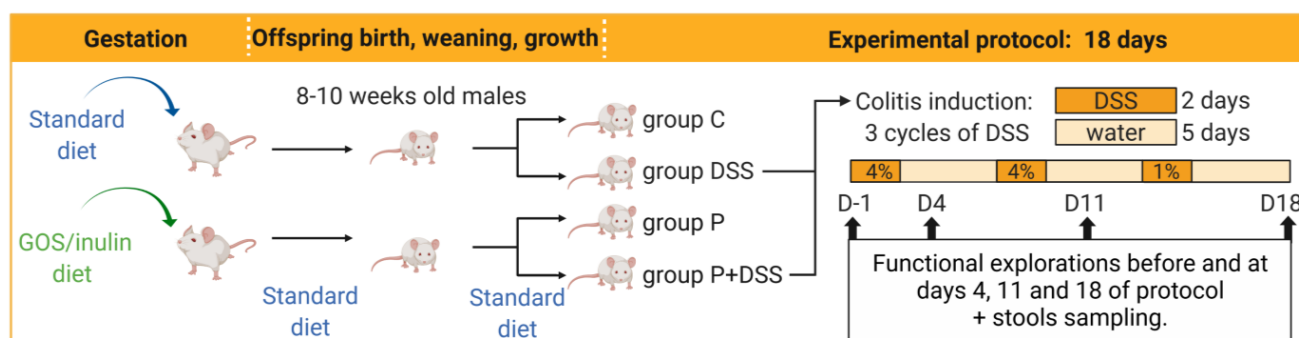
For now, some genetic and environmental factors are known to be involved in the etiology of IBD. In particular, increasing evidence suggests that IBD and other chronic diseases have, at least partially, a developmental origin[17]. The developmental origins of health and disease (DOHaD) paradigm suggests that maternal exposure to environmental factors can have a long-term reprogramming effect on the child, which can negatively or positively influence the development of diseases later in life[18]. Several perinatal environmental factors such as a maternal exposure to antibiotics, antibiotic exposure in infancy and early life otitis media are associated with a higher risk of IBD, while less data are available on beneficial environmental factors like breastfeeding and the

maternal diet[19–21]. Prenatal factors can impact the *in utero* programming, which can modify the immune system and the gut microbiota, influencing gene expression and impacting *in fine* the development of organs of the offspring[18]. The maternal diet was highlighted to be an important environmental factor in the development or prevention of diseases in the child, and can be itself modulated by the intake of food substrates such as prebiotics. Prebiotics are specific substrates modulating positively both the composition and activity of the gut microbiota, and the biological systems of the host[22]. Therefore, prenatal environmental factors such as the maternal diet constitute an interesting field of investigation to further characterize IBD pathogenesis, and may contribute to the development of preventive strategies. Several studies investigate now the effects of prebiotics as maternal dietary intervention on the development of chronic diseases in the progeny. Two studies demonstrated in that sense, in mice, a protective effect of a maternal supplementation with the prebiotics galacto-oligosaccharides and inulin (GOS/inulin) against the development of food allergy in the offspring[23,24]. To date, the impact of maternal prebiotic supplementation on the susceptibility of offspring to develop other chronic pathologies like IBD remains unknown. Current medication rather aims to dampen the inflammation by targeting the immune system and includes immunomodulators, steroids and biotherapies such as anti-TNF agents[1].

Thus, the aim of our study was to uncover the consequences of a maternal supplementation with GOS/inulin during gestation and to determine whether it could prevent the development of colitis in the offspring. A mouse model of chronic colitis induced by dextran sodium sulfate (DSS) was used as IBD model. In addition to the assessment of intestinal functions and the disease activity index, we investigated the mechanisms underlying the effects of GOS/inulin with and without chronic colitis through the establishment of the gut microbiota, colon gene expression and lipid remodeling profiles. The results generated from our study broaden the existing knowledge on the role of maternal diet on the development of IBD in the offspring.

MATERIAL AND METHODS

Animal studies



Eight weeks old BALB/cJrj mice from Janvier Labs (Le Genest-Saint-Isle, France) were used and housed in a ventilated cage system under a 12h light-dark cycle. The protocol was approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation of the Pays de la Loire region (accreditation number: 16925). Mice were fed during gestation either a standard diet or a diet supplemented with 4% GOS (DOMO VIVINAL GOS powder, Friesland-Campina, The Netherlands) and inulin (Orafti HP, BENEIO-Orafti, Belgium) in a 9:1 ratio (Safe, France). Water and food were provided *ad libitum*. In total, prebiotics exposure lasted 4-5 weeks. After delivery and for all the experimentation, mothers and pups were fed the standard diet. Mice were monitored daily and euthanized if limit points (including prostration and >20% of weight loss) were reached.

For the mouse model of colitis, 8-10 weeks old male offspring of each group of mothers (exposed or not to prebiotics) were submitted or not to 3 cycles of DSS (MP Biomedicals). A cycle consists of 2 days of 4% or 1% at the last cycle, of DSS given in drinking water (renewed each day) followed by 5 days of water. In the end, 4 groups of mice can be distinguished: the mice of mothers who followed a standard diet either exposed to DSS (DSS) or left untouched (C); and the mice of mothers supplemented with prebiotics either exposed to DSS (P+DSS) or left untouched (P). Animals were weighted daily during the protocol, D1 corresponding to 1 day after starting the first DSS administration. *In vivo* functional explorations have been conducted before (D-1) and during the protocol at day 4, 11 and 18 (D4, D11, D18).

At the end of the protocol at D18, mice were killed by cervical dislocation and survival curves were generated. Colon length was measured from the end of the caecum to the anus. Intestinal fragments (caecum, proximal and distal colon), associated luminal contents and feces were collected then either snap-frozen for omic, lipocalin-2 (Lcn-2) and short-chain fatty acids (SCFAs) analysis. Intestinal fragments were also opened along the mesenteric border to be used in *ex vivo* permeability assessment or to be fixed for at least 1 hour in paraformaldehyde solution (4% in PBS) for immunohistochemistry and histopathology. The project included 3 independent protocol repeats, with 8-12 mice per group for each protocol. The number of animals analysed is specified for each analysis.

***In vivo* intestinal functional explorations**

The intestinal functional exploration consisted in the macroscopic characterization of colitis development assessed by intestinal permeabilities, disease activity index, fecal pellet output, total transit time and stool humidity. For that, mice received by gavage (5µL/g mouse) a solution comprising carmine red at 60mg/mL, fluorescein-5,6-sulfonic acid at 10 mg/mL (FSA, Thermo Fisher Scientific), horseradish peroxidase at 10 mg/mL (HRP, Sigma-Aldrich) resuspended in 0.5% carboxymethylcellulose in PBS (Sigma-Aldrich), then placed in individual cages.

1) Intestinal permeabilities

Four hours after gavage, blood was sampled from the tail vein and the plasma was isolated by centrifugation at 3200 rpm, 5 min at 20°C. The paracellular permeability was evaluated by the titration of the FSA fluorescence intensity in plasma measured by an automatic microplate reader (Varioskan, Thermo Fisher Scientific). These plasma samples were then kept frozen and later used to determine transcellular permeability to HRP by an enzymatic activity assay with 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine reagent (TMB, BD Biosciences).

2) Disease Activity Index

The Disease Activity Index (DAI) was calculated based on stool consistency observed right after gavage (0= hard feces; 1= soft feces; 2= liquid feces), blood in feces (0= no blood; 1= blood) and weight loss (0= no loss, 1= <5% loss, 2= loss between 5% included and 10%, 3= loss between 10% included and above). The DAI ranged from 0 to 6.

3) Fecal pellet output, total transit time, feces humidity

The fecal pellet output (FPO) represented the number of feces emitted by each mouse during 2 hours. The total transit time (TTT) corresponded to the interval of time between the gavage and the first observation of red carmine feces for each mouse. For humidity assessment, the weight difference between dried and fresh FPO feces was calculated and divided by the weight of fresh FPO feces (feces humidity).

Lipocalin-2 ELISA fecal quantification

Feces of each mouse were resuspended in a solution of PBS-Tween 20 0.1%-protease inhibitors cocktail (1/2 tablet for 25mL solution, cOmplete™, Roche) to reach 100mg feces/mL. Lcn-2 in the feces solutions was measured using an ELISA kit according to manufacturer's protocol (Mouse Lcn-2/NGAL DuoSet ELISA, Bio-Techne).

Ex vivo intestinal permeability assessment in Ussing chambers

The measure of *ex vivo* paracellular and transcellular permeabilities of the collected intestinal segments was achieved according to the following protocol with the modifications: 2h30 of fluorescence measurement and 30µL collected at each measure[25].

Immunohistochemistry and histopathology

Four percent paraformaldehyde-fixed distal colon tissues were embedded in paraffin then sectioned into 5µm thick slices with a microtome (HM 355S, Thermo Fisher Scientific) either by the laboratory using the Therassay platform (Nantes, France), or by the MicroPICell platform (Nantes, France).

1) Histological score: micro Disease Activity Index (micro DAI)

Slides were stained with hematoxylin-phloxine-saffron (HPS) or alcyan blue by the MicroPICell platform or with the Inserm UMR1238 Phy-OS laboratory (Nantes, France) to visualize tissue morphology and goblet cells. Pictures were taken with a slide scanner (Nanozoomer, Hamamatsu). A micro DAI score was calculated in a blinded manner by two individuals for each distal colon segment according to the following protocol[16].

2) CD3 and F4/80 Immunostaining

Paraffin was removed of the slides by 2 xylene baths (10 min) followed by 4 ethanol baths: 100% 5 min, 95% 4 min, 70% 3 min, 50% 3 min. After washing the slides in PBS, antigens retrieval was performed through an incubation at 95°C for 20 min in a sodium citrate solution (10mM sodium citrate tribase-0.05% Tween 20 in distilled water, pH=6). The slides were incubated in a NH₄Cl solution (100 mM) for 30 min followed by a permeabilization in a PBS-NaN₃-1% saponine- 0.5% Triton X-100 solution for 30 min to 1 hour. A blocking period of 1 hour to overnight incubation was respected in PBS-NaN₃-1% saponine-0.5% Triton X-100-10% horse serum. The incubation of the primary antibodies for CD3 (1:1000, rabbit polyclonal antibody, Abcam) and F4/80 (1:500, rat monoclonal antibody, Cell Signaling Technology) was performed overnight at 4°C. After 3 washes of 15 min in PBS, secondary antibodies (1:500, donkey Cy3-labeled anti-rabbit and anti-mouse antibodies) were incubated 2 hours at room temperature. Slides were washed 3 times 15 min in PBS and 1 time in-between 5 min with DAPI (1:1000 in PBS). Coverslips were mounted with ProLong™ Gold Antifade Mountant (ThermoFisher). Images were acquired with an Axio Zoom.V16 microscope (Zeiss) then analyzed with the software ImageJ/Fiji (National Institute of Health, Bethesda, Maryland, USA).

Transcriptomic analyses: 3' Seq RNA Profiling (3' SRP)

Distal colon samples were lysed in RA1 buffer (Macherey-Nagel) then total RNA was extracted with the NucleoSpin RNA kit according to manufacturer's instructions (Macherey-Nagel). Purified mRNA were used for the sequencing with the 3' Seq RNA Profiling (3'SRP) protocol performed by the GenoBiRD platform (Nantes, France)[26]. During primary analysis, reads were striped of any poly A tails by using cutadapt (version 1.18) and then aligned to RefSeq mouse mRNA sequences (mm10) by using BWA (version 0.7.17, with non-default parameter "-l 24")[27,28]. Reads mapping to several positions into the genome were filtered out from the analysis. The secondary analysis was performed on samples that have more than 450000 reads assigned and more than 5000 genes detected (*i.e.* number of genes with at least 1 count). From 61 initial samples, 57 samples were kept with those parameters: 1 sample from DSS group and 3 samples from P+DSS group were removed. We then removed genes with no count in at least 13 samples. Principal component analysis (PCA)

was computed by the 3'SRP pipeline, which relies on prcomp function from R. The differential analysis was conducted with DESeq2 (version 1.26.0) to normalize gene counts and to study differentially expressed genes (DEG)[29]. DEG between two conditions were genes with an adjusted p-value<0.05 and an absolute value of gene expression fold-change>1.5. Following comparisons were studied: P+DSS vs. DSS, P+DSS vs. P and DSS vs. C. An indirect analysis was also conducted for P+DSS vs. DSS by looking at specific and common DEGs obtained from the comparisons P+DSS vs. P and DSS vs. C, *i.e.* DEGs that only exist in P+DSS vs. P or in DSS vs. C, and DEGs that exist in both P+DSS vs. P and DSS vs. C. Finally, over-representation enrichment analysis were conducted on the list of DEGs by using clusterProfiler (version 3.14) with GO and KEGG knowledge bases[30]. For each comparison, the universe used with the enrichGO or enrichKEGG functions is the set of genes (DEGs and not DEGs) present in the DESeq2 results table. Biological enrichments obtained from each comparison were compared by using the emaplot function from clusterProfiler. The universe in this case is the union of the universes used in each comparison.

PUFA metabolites profiling

PUFA metabolites were quantified from mice colons by mass spectrometry after lipid extraction as previously described[31]. After the addition of 500µL of PBS, and 5µL of deuterated Internal Standard (IS) mixture (5-HETEd8, LxA4d4 and LtB4d4), the colons were crushed in lysing MatrixA tubes in a Precellys (Bertin Technologies). After two crush cycles (6.5 ms–1.30s), 10µL of suspension were withdrawn for protein quantification and 0.3mL of cold methanol (MeOH) were added. The samples were centrifuged at 1016 × g for 15min (4°C) and the resulting supernatants were submitted to solid phase extraction of lipids using HLB plate (OASIS® HLB 30 mg, 96-well plate, Waters, Saint-Quentin-en-Yvelines, France). Briefly, plates were conditioned with 500µL MeOH and 500µL H₂O/MeOH (90:10, v/v). Samples were loaded at a flow rate of about one drop per 2s and, after complete loading, columns were washed with 500µL H₂O/MeOH (90:10, v/v). The phases were thereafter dried under aspiration and lipids were eluted with 750µL MeOH. Solvent was evaporated under N₂ and samples were resuspended with 140µL MeOH and transferred into a vial (Macherey-Nagel, Hoerd, France). Finally, the 140µL of methanol were evaporated and our sample resuspended with 10µL of methanol for liquid chromatography/mass spectrometry analysis. 6-keto-prostaglandin F₁ α (6kPGF_{1α}), thromboxane B₂ (TxB₂), Prostaglandin E₂ (PGE₂), 8-iso Prostaglandin A₂ (8-isoPGA₂), Prostaglandin E₃ (PGE₃), 15-Deoxy-Δ^{12,14}-prostaglandin J₂ (15d-PGJ₂), Prostaglandin D₂ (PGD₂), Lipoxin A₄ (LxA₄), Lipoxin B₄ (LxB₄), Resolvin D₁ (RvD₁), Resolvin D₂ (RvD₂), Resolvin D₅ (RvD₅), 7-Maresin 1 (7-Mar1), Leukotriene B₄ (LtB₄), Leukotriene B₅ (LtB₅), Protectin Dx (PDx), 18-hydroxyeicosapentaenoic (18-HEPE), 5,6-dihydroxyeicosatetraenoic acid (5,6-DiHETE), 9-hydroxyoctadecadienoic acid (9-HODE), 13-hydroxyoctadecadienoic acid (13-HODE), 15-hydroxyeicosatetraenoic acid (15-HETE), 12-hydroxyeicosatetraenoic acid (12-HETE), 8-hydroxyeicosatetraenoic acid (8-HETE), 5-hydroxyeicosatetraenoic acid (5-HETE), 17-hydroxydocosahexaenoic acid (17-HDoHE), 14-hydroxydocosahexaenoic acid (14-HDoHE), 14,15-epoxyeicosatrienoic acid (14,15-EET), 11,12-epoxyeicosatrienoic acid (11,12-EET), 8,9-epoxyeicosatrienoic acid (8,9-EET), 5,6-epoxyeicosatrienoic acid (5,6-EET), 5-oxoeicosatetraenoic acid (5-oxoETE), Prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}), 13-hydroxyoctadecadienoic acid (13oxoODE), 9-

hydroxyoctadecadienoic acid (9oxoODE), 10-hydroxyoctadecadienoic acid (10-HODE), 9,10-dihydroxy-12-octadecenoic acid (9,10-DiHOME), 12,13-dihydroxy-12-octadecenoic acid (12,13-DiHOME), 9-hydroxy-10,12,15-octadecatrienoic acid (9-HOTrE), 13-hydroxy-9,11,15-octadecatrienoic acid (13-HOTrE), 9,10,13-trihydroxy-11-octadecenoic acid (10-TriHOME), 9,12,13-trihydroxy-11E-octadecenoic acid (12-TriHOME), C12-asparagine (C12Asn), C14-asparagine (C14Asn), ω -hydroxylated fatty acid (C8-3OH, C10-3OH, C12-3OH, C14-3OH, C16-3OH, C16:1-3OH, C18-3OH and C18:1-3OH) and α -hydroxylated fatty acid (C16-2OH and C18-2OH) were quantified in mouse colons. To simultaneously separate 53 lipids of interest and three deuterated internal standards (5-HETEd8, LxA4d4 and LtB4d4), LC-MS/MS analysis was performed on an ultrahigh-performance liquid chromatography system (UHPLC; Agilent LC1290 Infinity) coupled to an Agilent 6460 triple quadrupole MS (Agilent Technologies) equipped with electrospray ionization operating in negative mode. Reverse-phase UHPLC was performed using a Zorbax SB-C18 column (Agilent Technologies) with a gradient elution. The mobile phases consisted of water, acetonitrile (ACN), and formic acid (FA) [75:25:0.1 (v/v/v)] (solution A) and ACN and FA [100:0.1 (v/v)] (solution B). The linear gradient was as follows: 0% solution B at 0 min, 85% solution B at 8.5min, 100% solution B at 9.5min, 100% solution B at 10.5min, and 0% solution B at 12 min. The flow rate was 0.4ml/min. The autosampler was set at 5°C, and the injection volume was 5 μ L. Data were acquired in multiple reaction monitoring (MRM) mode with optimized conditions. Peak detection, integration, and quantitative analysis were performed with MassHunter Quantitative analysis software (Agilent Technologies). Blank samples were evaluated, and their injection showed no interference (no peak detected), during the analysis. TxB₂, RVD2, LxA4 and 7Mar1 were not detected in our samples. For data analysis, the Metaboanalyst web interface was used (www.dev.metaboanalyst.ca/). Data were first scaled with an auto-scaling method to obtain mean-centered values divided by the standard deviation of each variable. The heatmap was generated with hierarchical clustering of group averages and metabolites, using the average clustering algorithm and the Euclidean distance measure on scaled data.

Gut microbiota analysis

A. Composition: 16S rRNA gene sequencing

Sample preparation and sequencing:

The luminal content of the distal colon was collected with different forceps for each condition and snap-frozen. The DNA of the samples was then extracted and sequenced by Biofortis (Nantes, France).

Metabarcoding analysis:

Raw sequencing data were obtained from a single Illumina MiSeq run as 250 bp paired-end reads targeting the V3-V4 region (Primers: Bakt_341F 5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3', Bakt_805R 5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3') of the 16S rDNA gene. Reads were processed with microSysMics, a workflow built around the QIIME2 toolbox (version 2020.6), chaining softwares in order to automatize metabarcoding analysis[32,33]. PCR primers and remaining Illumina adapters were

removed with Cutadapt. ASVs inference and count estimation were performed with dada2 using a trimming length of 220 and default parameters[34]. We used a Naive Bayes Classifier pre-trained on the SILVA 99% reference database (Release 138) to assign ASVs to taxa. Alpha and beta diversity metrics were calculated on a rarefied ASV table (sampling depth: 52305). Shannon index and Bray-curtis dissimilarity boxplots were produced using R package ggstatsplot (version 0.7.0) with Kruskal-Wallis followed by pairwise Dunn used as statistical tests[35]. PERMANOVA analysis was conducted with R package vegan (version 2.5-7) using the adonis function set to 9999 permutations[36]. Differential abundance analysis was realized with DESeq2 (version 1.30.1)[29]. A pre-filtering step removed ASVs with low prevalence (found in less than 5 samples). Normalization was done in “poscounts” mode, which accounts for the inherent sparsity of microbiome data. Benjamini-Hochberg procedure with a FDR threshold of 0.05 was applied to account for multiple testing, resulting in adjusted p-values.

B. Functionality: Short-chain fatty acid measurement

Measurement of the short-chain fatty acids (SCFA) acetate, butyrate, isobutyrate, valerate and propionate was performed in caecal contents of the mice at the Mass Spectrometry Core Facility of CRNH-O (Nantes, France) as previously described[37].

Statistical analysis

For omic analyses, IHC, PCR and SCFA quantification, 57-78 samples, according to the analysis, were picked randomly using the Excel functions RAND and RANK. Statistical analysis and associated plots were generated using the software GraphPad Prism 7.0 and 8.0 (La Jolla, CA, USA). Additional statistical tests were used for omic data. Data were expressed as mean $\pm$ standard deviation (SD) and mainly compared by two-way ANOVA corrected by a Bonferroni multiple-comparisons test, or log-rank test for survival analysis. Normalization by the control group was made according to each experimental series. Results that were not significant were not shown on the graphics. Values were considered significant if the adjusted p-value was less than 0.05.

RESULTS

Antenatal consumption of prebiotics worsened colitis in offspring.

To assess the consequences of antenatal consumption of GOS/inulin prebiotics on colitis development in the offspring, a chronic colitis was induced or not by DSS in offspring from both standard diet-fed mothers and prebiotics-supplemented mothers during gestation. Colitis was characterized by stool consistency, blood in feces, weight loss, stool humidity and intestinal motility and permeability. Daily weight increase was not significantly different between the control and the prebiotic groups that gained respectively $6.7 \pm 6.6\%$ and $3.2 \pm 8.3\%$ of their D1-weight at the end of the third DSS cycle (D16) (Fig. 1A). The weight of the DSS group was significantly decreased at the end of the second DSS cycle for the surviving animals ($96.7 \pm 16.1\%$ of their D1-weight at D13 compared to $105.7 \pm 5.7\%$ for the C group) (Fig. 1A). The weight of the P+DSS group was significantly lower than the weight of animals from the P group from D5 to D18, and significantly lower than the weight of animals from the DSS group at D3 ($96.7 \pm 4.5\%$ of their D1-weight for the P+DSS group compared to $100.5 \pm 5.8\%$ for the DSS group) (Fig. 1A). Survival rate was reduced in mice following chronic DSS treatment, independently of the antenatal consumption of prebiotics (Fig. 1B). The development of colitis was monitored through the DAI scoring (Fig. 1C). At D18, the DAI score was significantly increased in DSS-treated groups compared to their respective control. This increase was significantly greater in the DSS-treated offspring group from mothers exposed to prebiotics compared to the DSS group (Fig. 1C, 1.8 vs. 0.8 AU). In addition, this DAI was already significantly increased at the end of the first DSS cycle (D4) for the P+DSS group vs P whereas the DAI for the DSS group vs C was not significantly increased at that time (data not shown). DSS treatment or antenatal consumption of prebiotics alone did not affect feces humidity (Fig. 1D), but at D18, prebiotics significantly increased feces humidity in DSS condition (1.12 vs. 0.984-fold of mean feces humidity of control group C). The total transit time (TTT) was significantly increased and fecal pellet output (FPO) was significantly reduced at D18 in DSS-treated mice compared to their respective control, without an impact of prebiotic treatment (Fig. S1A and B). But at D4, the TTT was significantly higher in the P+DSS groups compared to the DSS groups, again showing an increased sensitivity of the offspring from prebiotics-supplemented mothers during gestation. Interestingly, maternal prebiotics exposure did not have a basal effect on the *in vivo* intestinal paracellular permeability at D18, did not have an effect on the early increased paracellular permeability at D4 (data not shown) but it protected against the DSS-induced increase of paracellular permeability (Fig. S1C). The intestinal transcellular permeability was also measured *ex vivo* for each intestinal segment at D18 and showed an abrogation of the DSS-induced increase of transcellular permeability in the proximal colon by maternal prebiotics exposure (Fig. S1D). These results suggested that, independently of their effect on intestinal permeability, maternal GOS/inulin supplementation promoted colitis in offspring, with an impact on feces consistency.

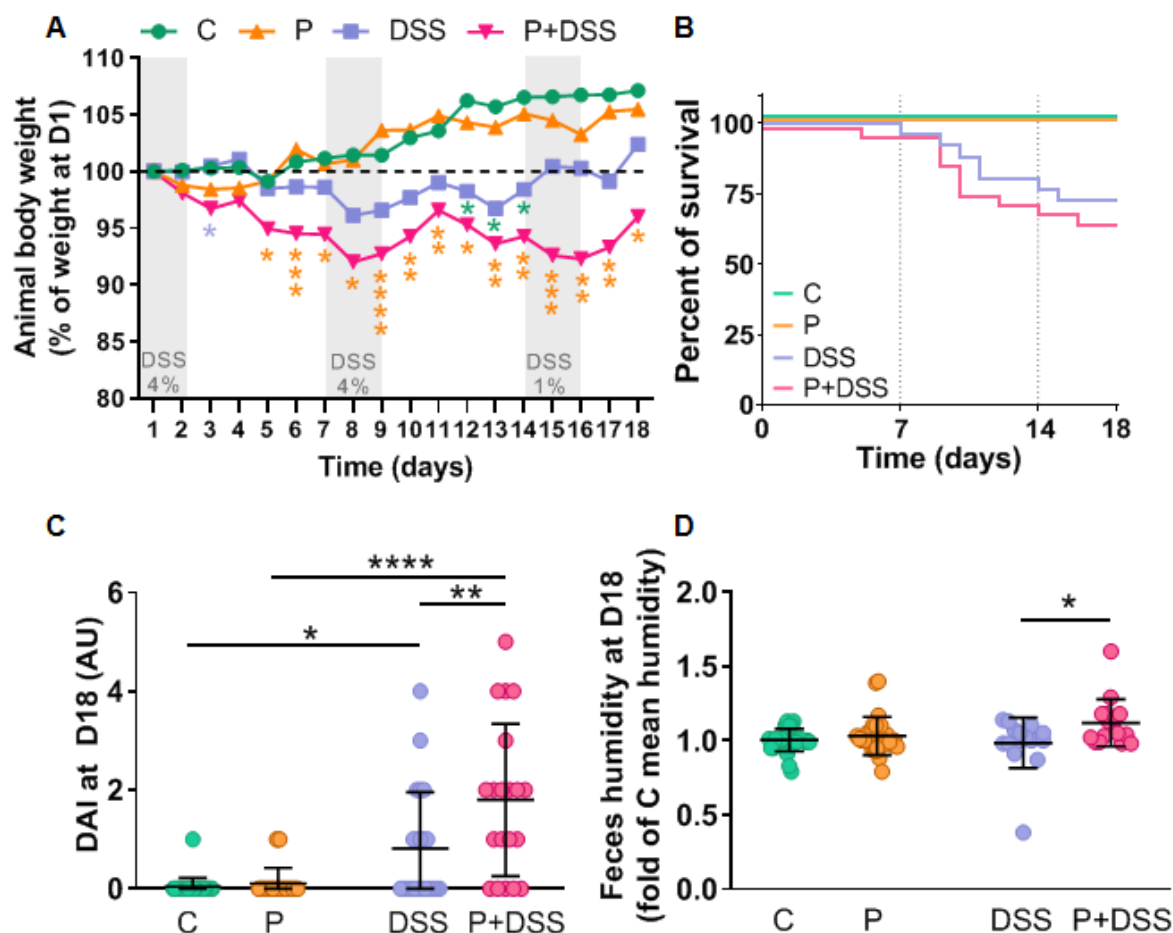


Figure 1. Prebiotic administration to mothers sensitizes offspring to colitis. The impact of prebiotic administration to mothers was measured in offspring during, and at the end of a protocol of colitis induction by DSS, in all groups of mice. Pups of mothers fed with a standard diet were administered DSS (DSS) or left untouched (C). The same procedure is followed for pups of mothers fed with a diet enriched with prebiotics (P+DSS, P). (A) Weight curves of the animals with the weight normalized per the weight at first day of DSS treatment (D1) for each mouse. (B) Survival curves of mice. (C) Disease Activity Index (DAI) of each mouse. (D) Feces humidity for each mouse. Data represent means and standard deviation of the mean of 19 to 28 mice per group. Log-rank test for survival or two-way ANOVA followed by Bonferroni's post-hoc comparisons tests: $p < 0.05$; $p^{**} < 0.01$; $p^{***} < 0.001$; $p^{****} < 0.0001$; blue asterisk for P+DSS vs. DSS, orange for P+DSS vs. P, green for DSS vs. C.

Antenatal GOS/inulin consumption induces colon shortening in healthy offspring and exacerbates inflammatory features in DSS condition *via* the recruitment of immune cells.

To further characterize DSS- and/or P-induced intestinal remodelling and inflammation, we analysed more precisely the micro DAI of distal colon, the immune cell infiltration in distal colon, the global (Lcn-2 concentration) and colonic inflammation (colon length). The micro DAI score was increased in DSS-induced colitis groups compared to their control, but no significant effect of prebiotics was observed (Fig. 2A and B). The effect of maternal prebiotics exposure on the immune inflammatory response in the distal colon of control or DSS-treated offsprings was investigated by analysing innate and adaptative cells such as F4/80+ macrophages and CD3+ T cells. An increase of both T cells and macrophages was only observed in DSS-induced colitis condition with maternal prebiotics, in the distal colons of the animals (2-fold of mean CD3+ T cell population for P+DSS vs C,

1.6 fold of mean F4/80+ macrophages population for P+DSS vs C) (Fig. 2C and D). The non-invasive marker of inflammation Lcn-2 was used to assess global inflammation in mice at D18. Its fecal concentration was increased in DSS-treated animals compared to respective control group (392-377 ng/g feces in DSS-treated group vs. 16-21 ng/g feces in C group) independently of maternal prebiotics exposure (Fig. 2E). The administration of DSS induced a shortening of the colons in both DSS and P+DSS groups (Fig. 2F). Moreover, antenatal prebiotics exposure induced a significant basal colon shortening (6.5 ± 0.9 cm in group P vs. 7.3 ± 1.2 cm in group C). These results highlighted an inflammation of the colon induced by antenatal prebiotics in healthy pups, which was exacerbated and associated with immune cells recruitment in pathologic DSS condition.

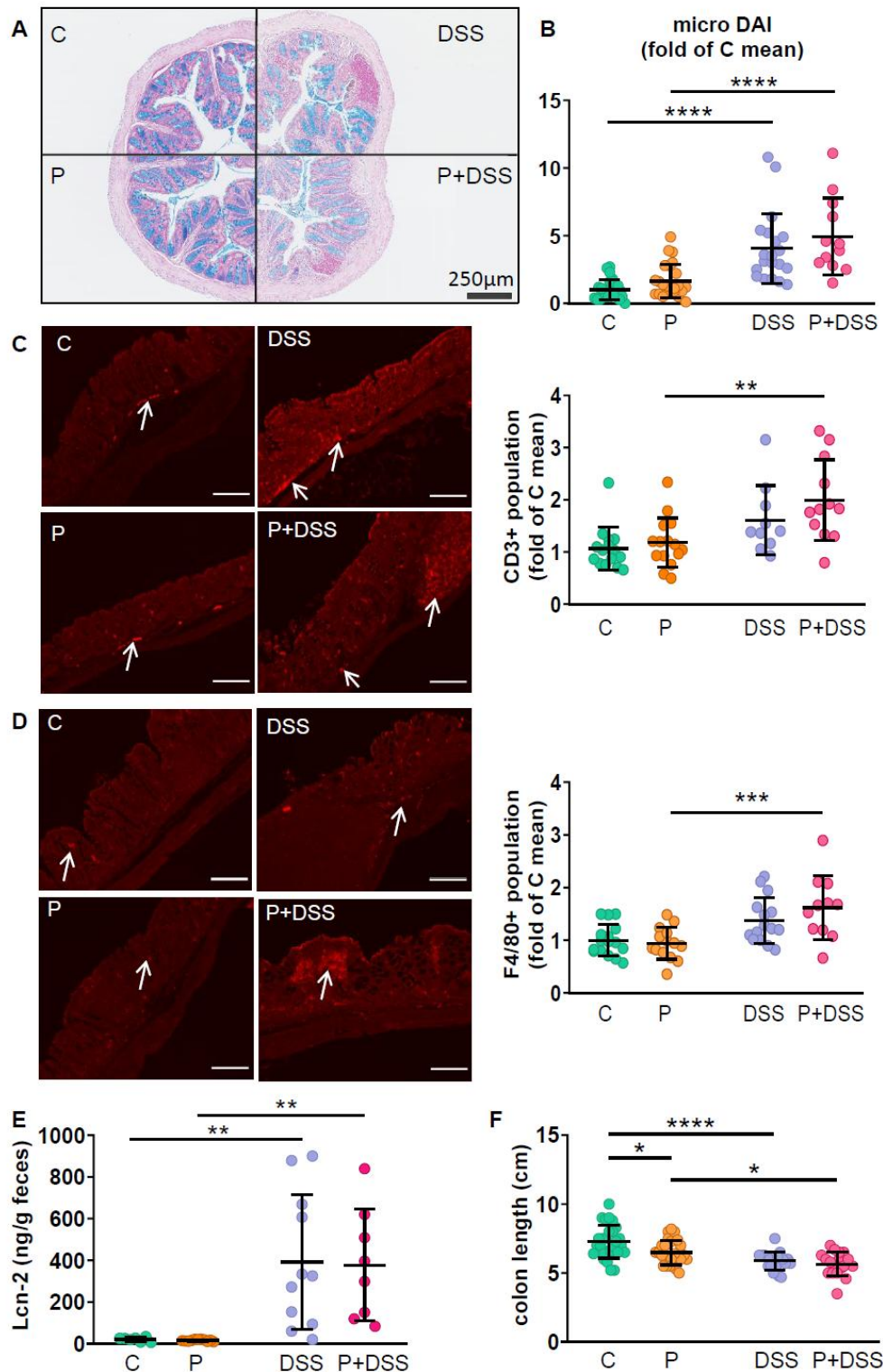


Figure 2. Prebiotic administration to mothers increases colon shortening and DSS-induced immune cell infiltration in offspring but not global inflammation or tissue remodelling. Colon remodelling was evaluated through calculation of a (B) histological score (micro DAI), representing the destruction of mucosal architecture, muscle thickening, loss of goblet cells and cellular infiltration, after HES and alcian blue staining of distal colon sections (A: representative pictures). More precise immune cell infiltrations were evaluated through immunostaining of CD3 (T cells, C) and of F4/80 (macrophages, D) in distal colon sections. Scale bar = 100µm. Global intestinal inflammation was evaluated in all 4 groups of mice through the measurement of Lipocalin-2 (Lcn-2, E) fecal content and colon shortening (F). Data represent means and standard deviation of the mean of 8 to 28 mice per group. Two-way ANOVA, followed by Bonferroni's post-hoc comparisons tests: $p < 0.05$; $p^{**} < 0.01$; $p^{***} < 0.001$; $p^{****} < 0.0001$ (Prebiotics or DSS effect).

Maternal prebiotic supplementation modulates the transcriptomic response to DSS treatment in distal colon.

In order to investigate the potential link between a modulation of the host's response by prebiotic and colitis development, the transcriptomic profile of the distal colons of all mice were compared. A PCA revealed 4 clusters of transcripts according to the 4 experimental groups which encompassed overlapping as well as distinct parts (Fig. 3A). When compared two by two, no differentially expressed genes were found between the DSS and P+DSS groups (Fig. 3B). Changes of gene expression induced by chronic DSS were observed in mice from standard diet-fed mothers and prebiotics-supplemented mothers in comparison to their controls. 278 upregulated genes and 186 downregulated genes were found in the distal colon of the P+DSS group in comparison with the P group (Fig. 3C and 3E), while the offspring of standard mothers presented 253 upregulated and 83 downregulated genes after DSS treatment in comparison to the control group (Fig. 3D and 3E). For offspring of mothers exposed to standard diet, the DSS-induced upregulation of genes was mainly associated, per over-representation enrichment analysis with KEGG database, with the regulation of the inflammatory response and lipids metabolism (Fig. S2A). For offspring of mothers supplemented with GOS/inulin, the identified KEGG modules included as well genes related to inflammation and genes associated with xenobiotics and amino acids metabolism (Fig. S2B). In addition to these different modules, the number and class of regulated genes following colitis induction was different depending on the maternal diet. Comparison of both responses to DSS treatment, *i.e.* P vs. P+DSS and C vs. DSS, revealed 155 up- and 140 down-regulated genes specific to the comparison P vs. P+DSS and not C vs. DSS, which may be linked to a specific prebiotic effect (Fig. 3E and S2C). In the 155 upregulated genes modulated specifically in the group P+DSS were included genes associated to immune pathways *Anxa1*, *Cebp*, *Cxcl1*, *Tnfrsf1b* and *Tnfrsf23*, epithelial barrier regulation *Clca3b* (Fig. S2C). In the 140 downregulated genes modulated specifically in the group P+DSS were included genes associated to lipid metabolism *Cyp2s1*, *Hpgds* and *Ppargc1a*, epithelial barrier regulation *Aqp11*, *Clcc1* and *Cldn2*. Neurological processes were also downregulated and included *Maoa* and *Maob*, *Comt* and *Sema5a* (Fig. S2C). A KEGG analysis showed enhanced metabolic pathways specific to the comparison of P+DSS vs P transcriptomes and included the TNF signalling pathway (Fig. 3F in red). When the IL-17 signalling pathway was here a common module to the offspring of mothers with prebiotics-enriched diet and standard diet, the genes encompassed in the module were different according to the maternal diet. The KEGG analysis highlighted that modules related to the metabolism of amino acids such as tyrosine and tryptophan were also specific to the comparison of P+DSS vs. P groups (Fig. 3F). Furthermore, antenatal prebiotics consumption *per se* induced in basal condition a change of transcriptomic profile. Thirteen genes were upregulated in the P group compared to the control group and were comprised in KEGG modules related to sperm development (Fig. S3A and B). The enrichment analysis based on gene ontology (GO) database highlighted modules linked to amino acid metabolism (Fig. S3C). Taken together, these data indicated that the antenatal prebiotics supplementation modified the transcriptome in distal colon of healthy pups and offspring treated with DSS.

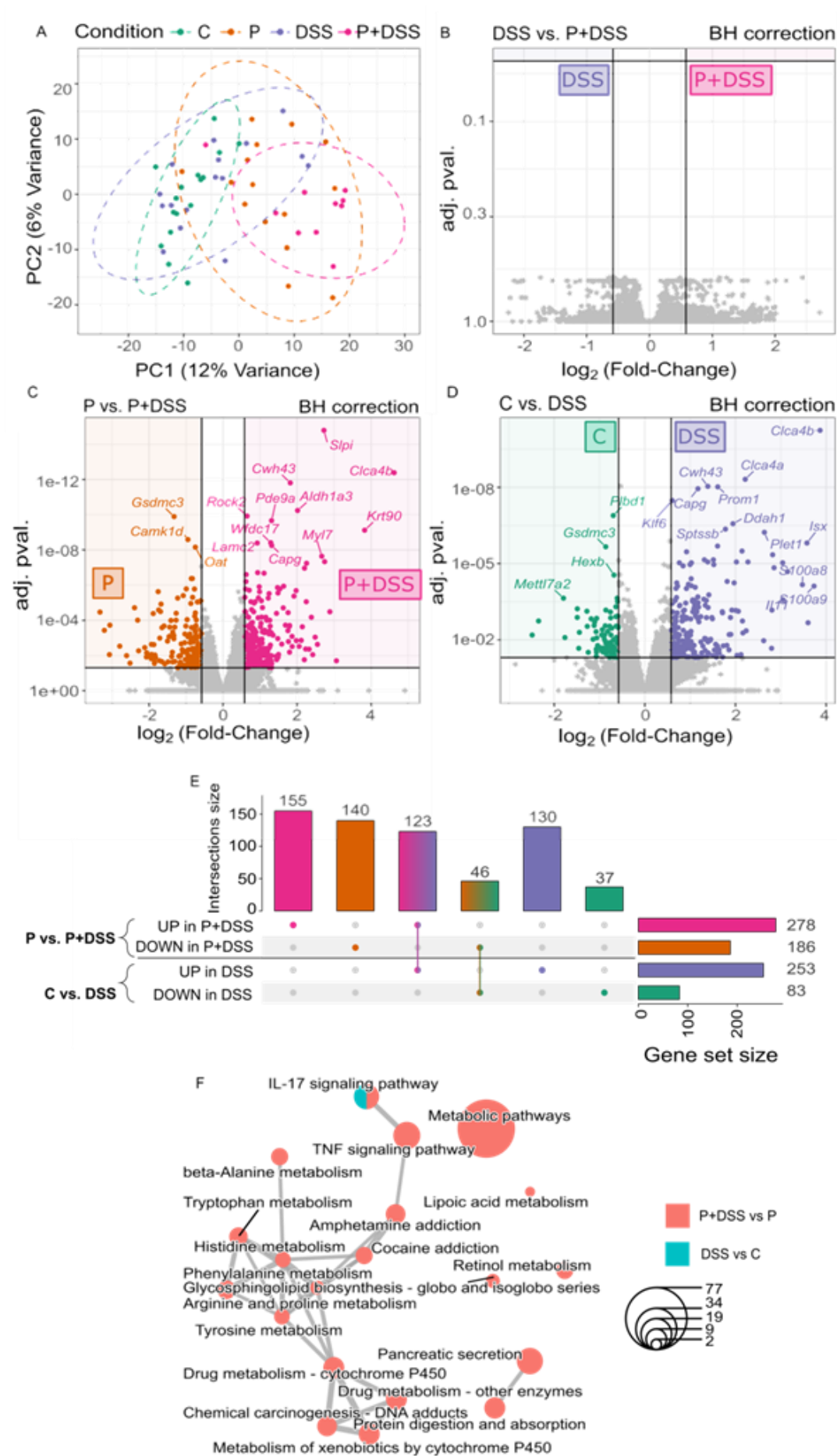


Figure 3. Prebiotic administration to mothers modulates transcriptomic response to DSS treatment in distal colon: 155 upregulated genes and 140 downregulated genes are specific to the group P+DSS. (A) A principal component analysis describes the transcriptomic profile of each mouse in distal colon. Volcano plots show differentially expressed genes in distal colon for the comparisons (B) DSS vs. P+DSS, (C) P vs. P+DSS and (D) C vs. DSS. Upregulated genes are colored according to the group of mice (C green, P orange, DSS violet, P+DSS pink). Grey dots show non-significant differences in gene expression. (E) The P impact on the response to DSS treatment, represented by the comparisons of genes for the P vs. P+DSS groups and C vs. D groups, were compared and showed specific and common sets of up- and downregulated genes. These identified genes are comprised in a (F) network of enriched pathways from the KEGG pathway enrichment analysis.

Maternal prebiotic supplementation induces a long-term change in distal colon lipid profile and a switch of lipid production when treated with DSS.

In addition to the transcriptomic profile, we extended our analyses through the establishment of the bioactive lipid profile of the 4 groups of mice, consisting in the measurement of the concentration of 49 n-6/n-3 PUFA-derived metabolites in distal colon segments. A heatmap enabled us to observe that the lipid profile was poorly affected by the DSS treatment, whereas the prebiotic antenatal exposure completely changed the profile and significantly increase the concentration of 28 of them (Fig. 4A, Fig. S4). Maternal prebiotics supplementation associated with DSS treatment (P+DSS group) operated a switch in lipid concentration: 16 of the afore mentioned 28 lipid productions were also significantly decreased in P+DSS vs. P, whereas the production of a cluster of 5 lipids tended to increase: the resolving D5 (RvD5), the protectin DX (PDX), the 14-hydroxydocosahexaenoic acid (14-HDoHE), the 17-HDoHE and the 12-hydroxyeicosatetraenoic acid (12-HETE) (Fig4A, Fig. S4). Among them, 3 lipid concentrations were significantly increased in the distal colon of DSS-treated mice due to maternal prebiotics consumption: the RvD5, the PDX, and the 14-HDoHE (Fig. 4B, C and D). The other lipids of the cluster, 17-HDoHE and 12-HETE, did not reach significance (Fig. 4E and F). Taken together, these data demonstrated that antenatal prebiotics exposure modified in basal and colitis conditions the lipid profile of the distal colon of mice.

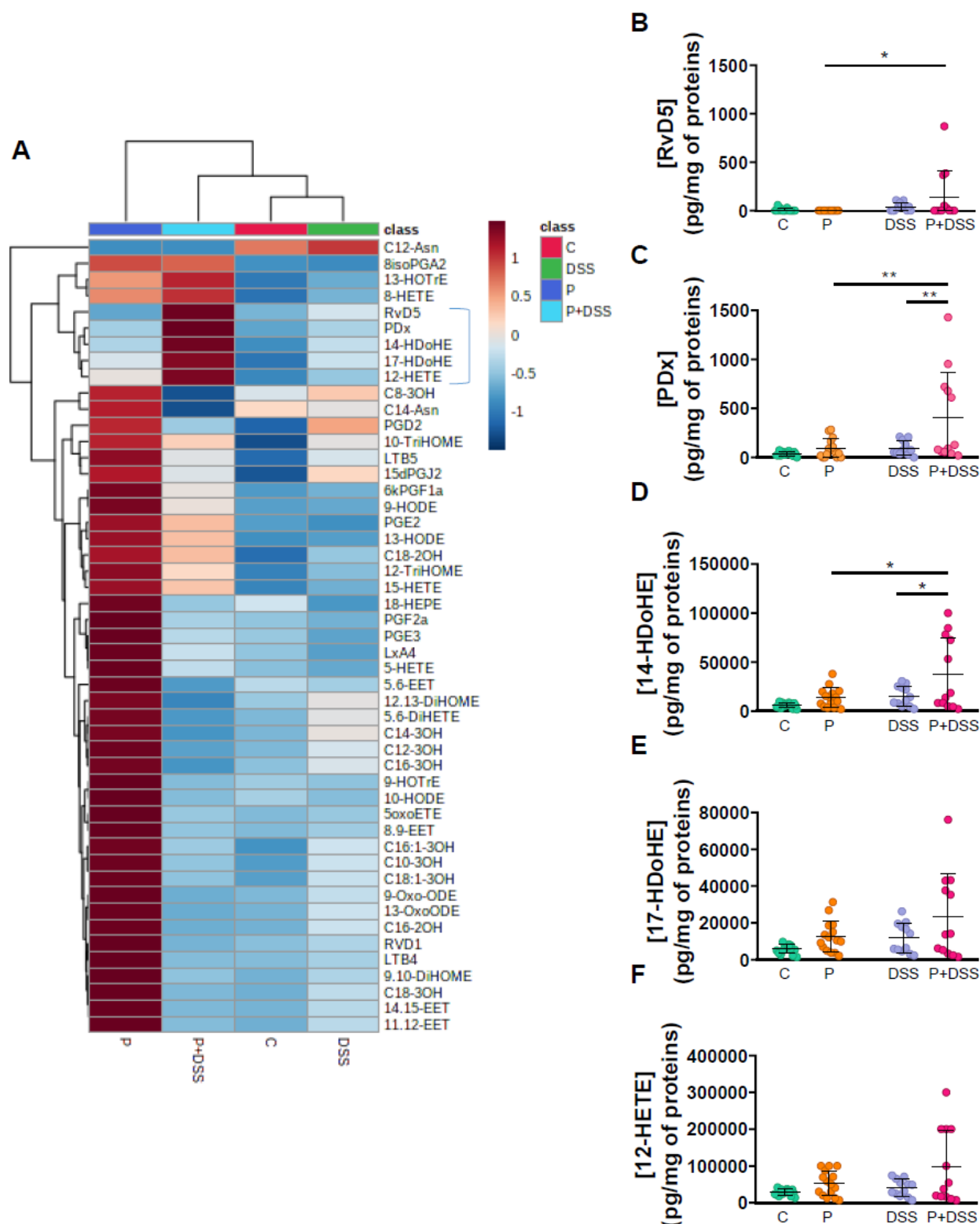


Figure 4. Prebiotic administration to mothers remodels bioactive lipid profiles and increases the concentration of RvD5, PDx and 14-HDoHE when combined to DSS treatment in distal colon. (A) The heatmap showing mean normalized concentrations of 49 lipid mediators in distal colon for each group of mice identified a cluster of 5 metabolites with similar variation in the P+DSS group (blue square bracket). Color gradient indicates the fold-change, with red and blue colors associated respectively to up- and downregulation. (B, C, D, E, F) Analysis of the concentrations of the lipid mediators identified in the cluster by two-way ANOVA

followed by Bonferroni's post-hoc comparisons tests: $p^* < 0.05$; $p^{**} < 0.01$ (Prebiotics effect). Data represent means and standard deviation of the mean of 12 to 16 mice per group.

Maternal GOS/inulin enriched diet altered the composition and the activity of gut microbiota in offspring exposed to DSS treatment.

We then determined whether maternal consumption of prebiotics could alter the composition and the activity of the gut microbiota of their offspring, and whether it modifies its response to DSS. First, the composition of the microbiota was investigated in the luminal content of distal colons. The alpha diversity characterized by the Shannon index was decreased following DSS treatment, independently of maternal GOS/inulin diet (Fig. 5A). Beta diversity analysis further emphasized the DSS treatment effect. Distances (Bray-Curtis dissimilarities) from control samples (group C) to each group of samples showed that DSS-treated groups of mice were more distant to the control group (Fig. 5B). A principal coordinates analysis (data not shown) and PERMANOVA results ($p = 0.0001$) confirmed that the DSS treatment led to a distinct microbial composition. The gut bacterial composition appeared to be impacted by the DSS treatment at phylum and amplicon sequence variant (ASV) levels, with an increase of *Verrucomicrobiota* phylum (from 1 and 1%, to 18 and 22% of the composition in the DSS and P+DSS groups respectively) including an increase of the *Akkermansia* genus of the *Akkermansiaceae* family (from 1 and 1%, to 18 and 22% of the composition in the DSS and P+DSS groups respectively), an increase of *Proteobacteria* phylum (from both 0%, to 1% and 3% of the composition in the DSS and P+DSS groups respectively), an increase of the *Alistipes* genus of the *Rikenellaceae* family (from 5 and 4%, to 8 and 7% of the composition in the DSS and P+DSS groups respectively), an increase of the *Lachnospiraceae* family (from both 2%, to 3 and 4% of the composition in the DSS and P+DSS groups respectively), but also a decrease of *Firmicutes* (from 43 and 45%, to 32 and 34% of the composition in the DSS and P+DSS groups respectively), a decrease of *Desulfovibrionaceae* family (from 14 and 18%, to 11 and 8% of the composition in the DSS and P+DSS groups respectively), a decrease of *Desulfobacterota* (from 14 and 19%, to 11 and 8% of the composition in the DSS and P+DSS groups respectively), and a decrease of *Faecalibaculum* genus (from 9 and 7%, to 4 and 3% of the composition in the DSS and P+DSS groups respectively) (Fig. 5C and D, Fig. S5A). The DSS-induced shift of bacteria abundance was confirmed by DEseq2 analysis (Fig. S5B and C). Eight ASVs were found overabundant in the group P+DSS compared to the group DSS, with 2 strains belonging to the *Muribaculaceae* family, 1 strain of the genus *Odoribacter*, *Colidextribacter*, *Lactobacillus* and 1 strain of the bacterial families *Peptococcaceae*, *Eubacterium coprostanoligenes* group and *Lachnospiraceae* NK4A136 group (Fig. 6). The basal gut bacterial composition between the pups of mothers with prebiotics-enriched diet or standard diet also differed, with 4 *Muribaculaceae* strains and 3 *Lachnospiraceae* strains overabundant in case of antenatal GOS/inulin consumption (Fig. S5D). Altogether, antenatal GOS/inulin exposure induced a shift of gut bacterial composition with or without DSS treatment. Gut microbiota activity was evaluated through the quantification of 5 short-chain fatty acids (SCFA) in pups' caecum (Fig. 7 A-E). No significant modification of acetate, isobutyrate and valerate concentrations were observed (Fig. 7A, B and C). Maternal prebiotics exposure did not significantly

influence the increase of caecal propionate concentration that was induced by DSS treatment in the offspring (Fig. 7D). However, it decreased butyrate concentration in DSS condition ($0.97 \mu\text{mol/g}$ for group P+DSS vs. 1.9 for group P) (Fig. 7E). These results highlighted that maternal exposure to prebiotic induced changes of gut microbiota composition and activity in offspring, with and without chronic colitis.

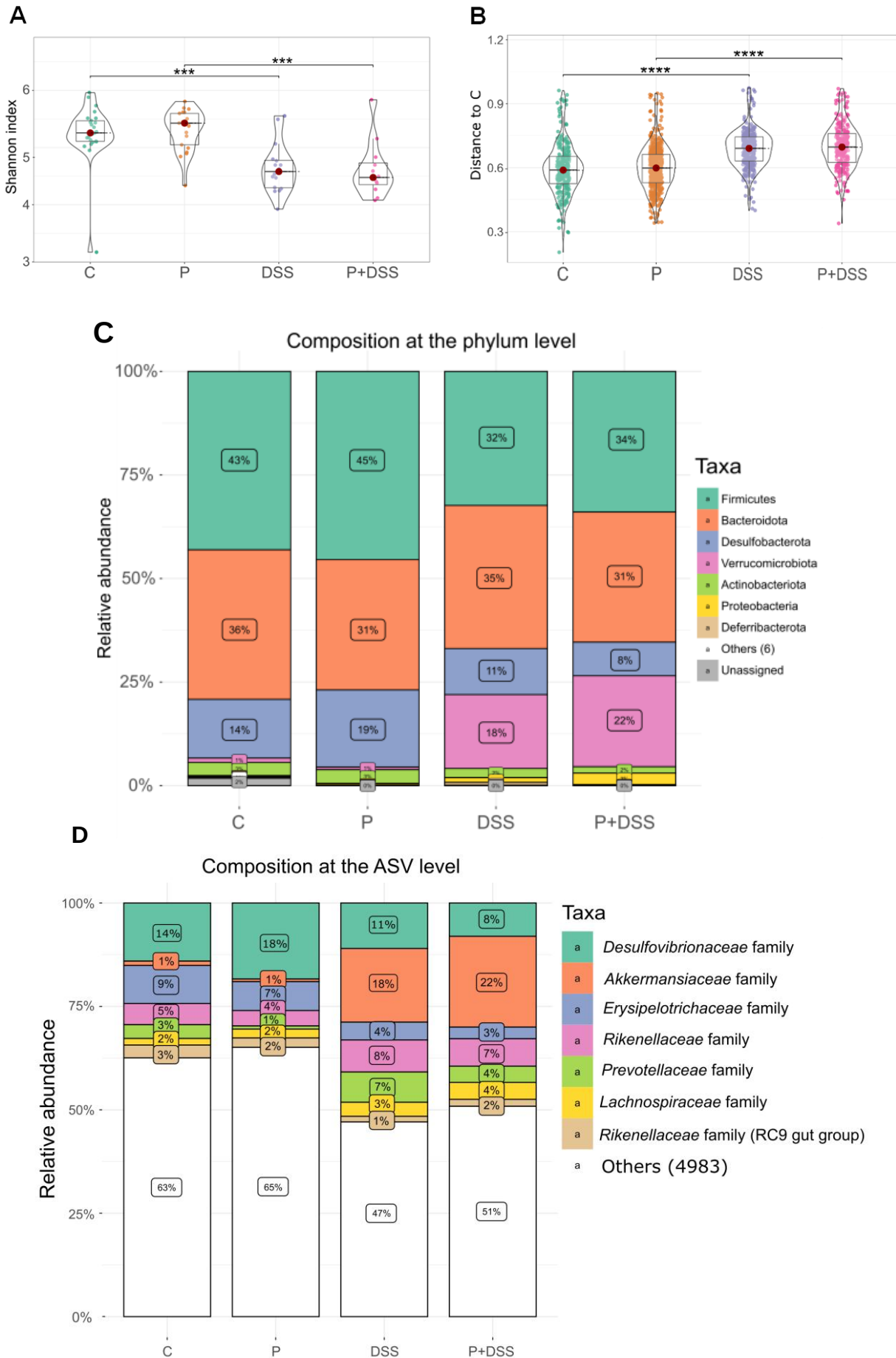


Figure 5. DSS treatment decreases α - and alters β -diversities independently of maternal prebiotic supplementation that slightly changes phylum relative abundance. The impact of prebiotics on bacterial diversities was measured in the luminal content of distal colons of all groups of mice. (A) Alpha diversity is represented by the Shannon index. (B) Distance from all samples to C samples expressed as Bray-Curtis dissimilarity. Relative abundance of bacterial populations at (C) phylum level and at (D) Amplicon Sequence Variants (ASV) level with family classification. Kruskal-Wallis test followed by Dunn's post-test (A, B): $p^{***}<0.001$; $p^{****}<0.001$ (DSS effect).

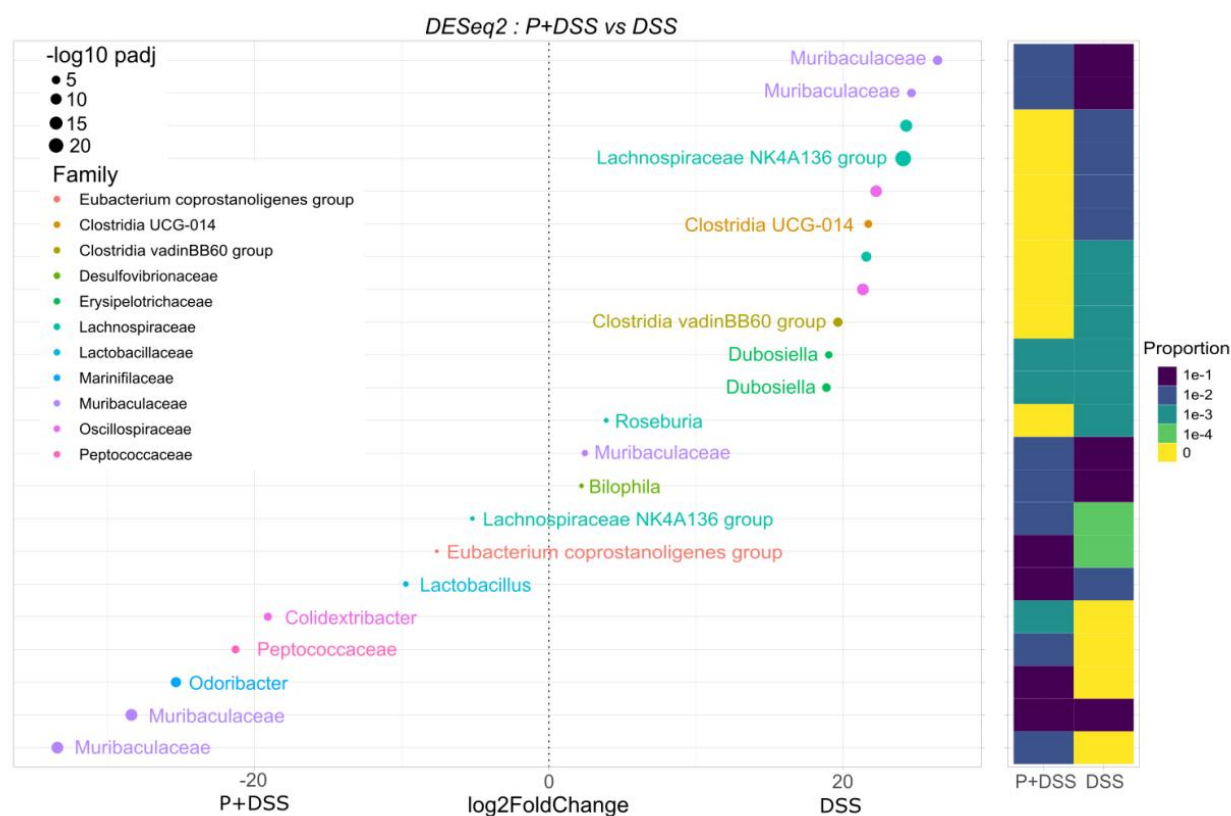


Figure 6. Prebiotic administration to mothers changes the relative abundance of several bacterial strains in offspring treated with DSS. The impact of prebiotics supplementation on the bacterial composition was analysed in the luminal content of distal colons of all groups of mice by DESeq2, which shows differentially abundant ASVs between P+DSS vs. DSS groups of mice.

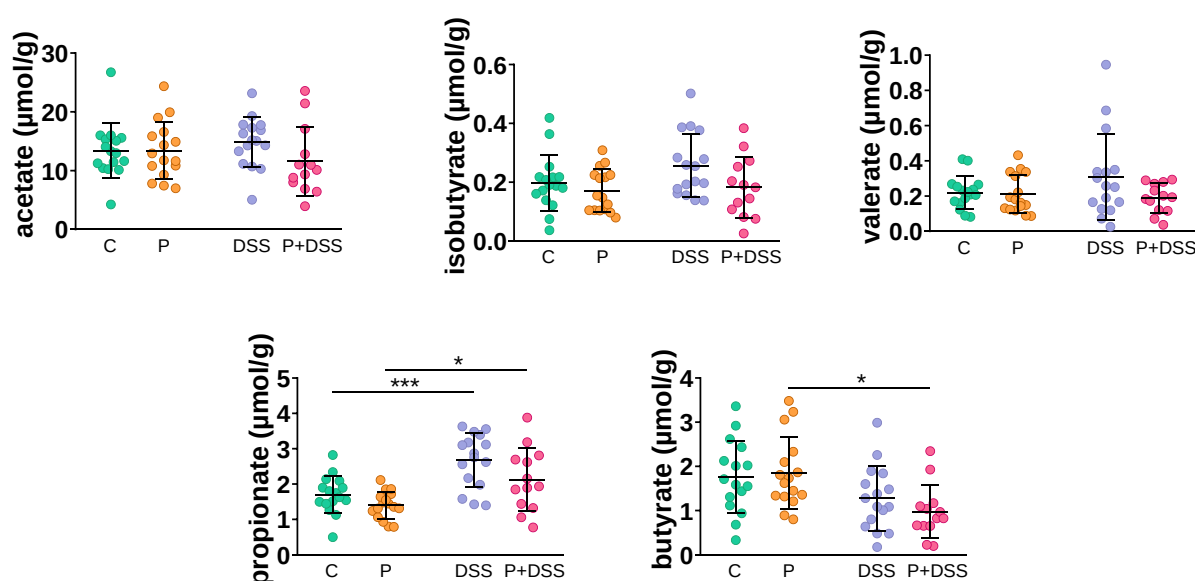


Figure 7. Prebiotic administration to mothers decreases the caecal short-chain fatty acid butyrate concentration when offspring are treated with DSS. (A-E) The impact of prebiotics supplementation and/or DSS treatment on different SCFAs was measured in caecal content of all groups of mice. Data represent means and standard deviation of the mean of 11 to 17 mice per group. Two-way ANOVA followed by Bonferroni's post-hoc comparisons tests: $p^* < 0.05$; $p^{***} < 0.001$ (Prebiotics or DSS effect).

DISCUSSION

Prevention strategies are still missing to avoid or reduce IBD development, and this could be related to the lack of knowledge about the early mechanisms determining the pathology. In this regard, the present work tested very early microbiota enrichment, through maternal supplementation with prebiotic during gestation, that is described to reduce the occurrence of food allergy, asthma or skin inflammation in their offsprings[23,38–40]. Surprisingly, this study showed a higher susceptibility to develop colitis in pups from mothers exposed to prebiotics during gestation. This susceptibility was linked to the modulation of different biological parameters by prebiotics in pathologic condition, such as increased feces humidity, increased inflammatory cells recruitment, changes in colon gene expression and lipid contents, and an alteration of the gut microbiota.

Maternal diet during pregnancy modifies the gut microbiota composition and function, leading to the production of specific compounds that are transferred to the foetus and enhance the ontogeny and maturation of different biological systems including the immune system. Recent works underlined the *in utero* effects of GOS/inulin, both on the foetus and mouse mothers[41]. Prebiotic supplementation increased the abundance of regulatory B and T cells in gestational tissues and in the foetus. Interestingly, these regulatory cells remained later in life[41]. Selle *et al.* demonstrated in mice that prebiotics supplementation during the gestation prevent from food allergy occurrence in the offspring[24]. More recently, it was shown that prebiotic supplementation during pregnancy led to the transmission of specific microbial and immune factors from mother to child, allowing the establishment of a tolerogenic immune imprinting in the foetus that may be beneficial for the infant health outcome[41]. Hogenkamp *et al.* (2015) and Fujiwara *et al.* (2010) also demonstrated in a mouse model that antenatal prebiotics supplementation decreased airway hyper-reactivity and reduced the allergic skin response[38–40]. Concerning colitis, prevention

studies in IBD murine models displayed both beneficial and deleterious effects of prebiotics. Mice directly exposed to an inulin-enriched diet before acute α IL10R-colitis induction showed a worsening of colitis, while rats orally exposed to inulin presented a reduced inflammation after acute DSS-induced colitis[42,43]. These studies underline the complexity of the modulation of disease onset by prebiotics, and the importance of parameters including the mode of administration of prebiotics and the disease model. Nevertheless, we have observed an imprint of GOS/inulin-enriched maternal diet on the offspring. From what we have observed, this imprint drastically concerned colon lipid production, some changes in colon gene expression and slight modifications of the intestinal microbiota composition, but this preconditions an inappropriate response to a noxious stimulus such as DSS. Indeed, we observe that the P+DSS group shows an exacerbated response to DSS in terms of changes in the composition of the microbiota, of decreased production of butyrate and of infiltrated immune cells. This expansion is accompanied by shifts in lipid productions and in gene expression that concern the inflammation transduction, IEB and ENS functions of the offspring colon.

In our study, the offspring gut microbiota was impacted by antenatal GOS/inulin consumption and presented specific overabundant bacterial strains of the genus *Odoribacter*, *Colidextribacter*, *Lactobacillus* and a strain of the *Eubacterium coprostanoligenes* group in colitis condition. Whereas in mice, we observed that *Odoribacter* was down regulated by DSS, in IBD, a reduction of *Odoribacter* and *Lactobacillus* was observed[44,45]. The *Odoribacter* strains have beneficial effects associated with their ability to produce SCFAs or to induce IL-10 in a mouse colitis model[44]. In the same manner *Lactobacillus* strains are probiotics used to alleviate IBD[45]. Some strains of the genus like *Lactobacillus acidophilus* CGMCC 7282 and *Lactobacillus rhamnosus* GG respectively ameliorated colitis in mice and rats, and reduced the expression of TNF- α and IL-17 in UC patients biopsies[46,47]. *Eubacterium coprostanoligenes* ameliorated also colitis development in fiber-free diet-fed mice[48]. *Colidextribacter* genus is more associated with metabolic functions, and was described as a hyperlipidemia-related bacteria negatively correlated with serum total antioxidant activity[49,50]. Therefore, these strains cannot explain the increased colitis observed in P+DSS animals. But in addition to the induction of these strains in the P+DSS group, we can observe an increase in the abundance of families or phyla whose presence was already increased by DSS, such as *Verrucomicrobiota*, *Proteobacteria*, *Akkermansiaceae* and *Lachnospiraceae* families, and a decrease of *Desulfobacterota*, *Desulfovibrionaceae* and *Erysipelotrichaceae* that were already less present after DSS. This includes the increase of the pathogen *Escherichia Shigella* and the decrease of *Roseburia* (Fig S5C). These changes are accompanied by changes in the 3-hydroxylated long chain fatty acid productions, which increase observed in the P group is completely lost in the P+DSS group (Fig 4 and S4). One of these mediators, the 3-hydroxyoctadecaenoic acid (C18-3OH) has anti-inflammatory effects and may protect against DSS-induced colitis, but its production is abolished by DSS[51]. If it is difficult to predict the result of the global change in bacterial composition on the host, we could objectify a decrease of butyrate production that supports the deleterious effect of maternal prebiotics consumption in colitis development. Indeed, butyrate is a SCFA contributing to the gut barrier

through the promotion of IEC differentiation, antimicrobial peptides production and modulation of tight-junction proteins[4]. Butyrate has also anti-inflammatory properties, and could restore the Treg/Th17 balance[52]. In our study, we have not analyzed the T cell subpopulations but have observed an increase of the infiltration of T cells and macrophages in the distal colon, in accordance with the DSS model which features an upregulation of T cells and macrophages[53]. This upregulation of immune response by antenatal prebiotics may even imply a persistent aspect of inflammation, persistence of inflammatory signals being known as a main feature of chronic inflammation[54]. But we cannot state for a pro- or anti-inflammatory role, because we cannot distinguished M1 macrophages, which are associated with DSS-induced colitis development, from M2 macrophages participating to the resolution of the inflammation[2]. Associated with the analysis of gene expression that we have performed, we could argue that P+DSS did not modify the Th17 profile, characterized by an increased IL-17 signaling pathway in DSS as well as in P+DSS, but changed the Th1 profile associated to the TNF- α signaling pathway[2]. The genes *Cxcl1*, *Cxcl2* and *Tnfrsf1b*, participate to the modulation of gut inflammation by respectively enhancing epithelial proliferation and inhibiting colonic CD8⁺ T cells expansion[55–57]. High levels of CXCL1 are found during inflammatory responses and could participate to these processes[58].

The transcriptomic analysis revealed that in addition to cytokine signaling, the genes regulated concern bioactive lipid metabolism, which could also participate in immune regulation. The gene *Hpgds* was downregulated, and encodes the enzyme producing the prostaglandin D₂, which is one of the lipids secreted by the mouse macrophage cell line RAW 264.7 upon TLR4 binding[59,60]. Whereas PGD₂ and its metabolites 15d-PGJ₂ productions were upregulated in the P group, they were downregulated in the P+DSS group. Among the other host distal colonic lipid concentrations impacted, we observed an increase of RvD5, 14-HDoHE and PDX concentrations only in the group P+DSS. These lipids are derived from the n-3 PUFA docosahexaenoic acid (DHA) or docosapentaenoic acid (DPA) by a lipoxygenase-mediated synthesis pathway[61,62]. The resolvins pathway was found upregulated in human IBD colon biopsies and DPA-derived RvD5 reduced DSS-colitis inflammation in mice[54]. 14-HDoHE is more described as an anti-inflammatory mediator and oxidative stress marker[63,64]. PDX presents anti-inflammatory properties by inhibiting COX-1 and 2, and by reducing reactive oxygen species production in human blood neutrophils[61]. Nevertheless, COX inhibition has deleterious effect for the intestinal epithelial barrier (IEB) and could be linked to exacerbations in IBD patients[65].

In a way as interesting as the increased infiltration of T cells and macrophages in the distal colon, we observed that the worsened DSS-induced colitis due to antenatal prebiotics consumption was associated with stool softening, blood in stool and weight loss. The feces humidity, linked to diarrhea, is a well-known symptom of DSS-induced colitis and IBD[53]. It is higher in colitis context only in the presence of maternal prebiotics diet and may be linked, if prebiotics were transmitted to the offspring, to the water-binding capacity of prebiotics which softens feces[66]. The downregulation of the gene *Aqp11* observed in this P+DSS group, is however inconsistent with the increased feces humidity of our animals as it encodes a member of the aquaporin water channels which are the main transcellular transporters of water in the gastrointestinal (GI) tract[67].

In addition to modules related to inflammation, lipid metabolism and epithelial functions, the computational transcriptomic analysis revealed genes related to neurological processes, from connectivity (*Sema5a*) through channels (*Kcna1*, *Cacna1d*, *Kcnk6*) to neurotransmitters (*VIP*) and neurotransmitter production (*Comt*, *Maoa* and *Maob*). *Comt* and *Maoa* are both specific downregulated genes in the P+DSS group encoding degradation enzymes of catecholamines[68,69]. Catecholamines are important for gut functions including nutrients absorption, gut motility but also by their interaction with the immune system[70]. Even if MAO inhibitors have anti-inflammatory effects[71], they have, like COMT inhibition[72], intestinal adverse effects (nausea, vomiting) and we could wonder how much an alteration of the concentration of gut catecholamines may contribute to the impact of maternal prebiotics consumption on the intestinal permeability.

Altogether, our results showed that antenatal prebiotic supplementation has a major imprint on the offspring, and that this imprint turned out to be insufficient to prevent colitis development that on contrary develops earlier and stronger. Nevertheless, at the end of our protocol, it is difficult to decide and rule on the pro-inflammatory or pro-resolving nature of persistent immune response observed in the distal colon of DSS-treated offspring of GOS/inulin-exposed mothers. Our work questions the effects of prebiotics, supposed to be, by definition, for the benefit of the host, underline the specificity of each chronic disease and will contribute to guide future research on nutritional modulations of the gut microbiota in IBD care and prevention.

FUNDING

This work was supported by the « Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale » (INSERM), the Université de Nantes, the Région Pays de la Loire (MiBioGate). Amélie Lê benefits of a doctoral fellowship from the Région Pays de la Loire (MiBioGate). MRD is supported by the Centre National pour la Recherche Scientifique (CNRS).

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare no conflicts of interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank all the members of both the INRAE UR1268 and INSERM TENS laboratories for their help in the execution of the experimental protocols. They thank Friesland Campina and Orafiti® HP for providing them with GOS and inulin, respectively. They also thank the Therassay platform and the INSERM Phy-OS laboratory for providing the equipment, for helping with the experiments and sharing protocols. They acknowledge the MicroPICell facility, SFR-Bonamy, member of the national infrastructure France-BioImaging supported by the French National Research Agency (ANR-10-INBS-04). The graphical abstract was created with BioRender.com.

AUTHOR'S CONTRIBUTIONS

Study conceptualization: AL, MRD, MN, MB;

Methodology: AL, CB, AS, EDe, NC, CP, PB, PA, EDu, MN, MRD, MB;

Formal analysis: AL, MRD;

Statistics: AL, EDe, PB, MRD;

Resources: MN, MRD, MB;

Writing—original draft preparation: AL;

Writing—review and editing: AL, MRD, MB, MN;

Supervision: MRD, MB;

Project administration: MRD, MB, MN;

Funding acquisition: MN, MRD, MB.

SUPPLEMENTARY FIGURES

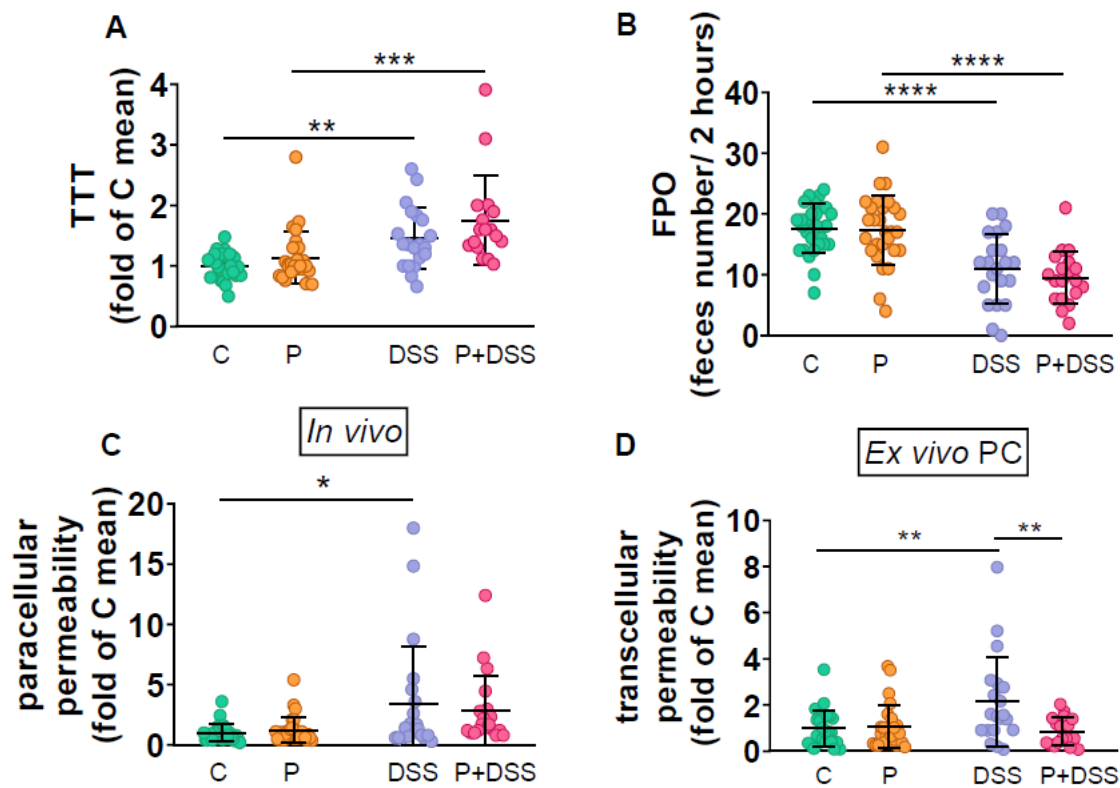


Figure S1. Maternal prebiotics do not change the DSS-induced decrease in intestinal motility, but protect from DSS-induced increased permeabilities at D18. The impact of prebiotics on intestinal functions was measured in all groups of mice at D18 through motility and permeability evaluations. (A) Total transit time (TTT). (B) Fecal pellet output (FPO). (C) *In vivo* paracellular permeability was evaluated by FSA flow measurement. (D) *Ex vivo* transcellular permeability in proximal colon (PC) was characterized by the AUC of HRP mean flow in Ussing chamber. Data represent means and standard deviation of 16 to 28 mice per group. Two-way ANOVA followed by Bonferroni's post-hoc comparisons tests: $p^* < 0.05$; $p^{**} < 0.01$; $p^{***} < 0.001$; $p^{****} < 0.0001$ (Prebiotics or DSS effect).

A

Genes in DSS vs. C	p.adjust	qvalue	KEGG Description
S100a8/S100a9/Jun/Mmp3/Cxcl2/Fos/Mmp9/Ptgs2/Cxcl5/Fosb	0.00065151	0.00056496	IL-17 signaling pathway
Jun/Mmp3/Cxcl2/Fos/Ifi47/Mmp9/Creb3l3/Ptgs2/Cxcl5	0.01370218	0.01188179	TNF signaling pathway
Il11/Jun/Mmp3/Cxcl2/Fos/Tlr2/Cxcl5	0.03445487	0.0298774	Rheumatoid arthritis
Pla2g2a/Dgat2/Pla2g5/Abcg5/Abcg8	0.03445487	0.0298774	Fat digestion and absorption
Pla2g2a/Acaa1b/Pla2g5/Fads2	0.03445487	0.0298774	alpha-Linolenic acid metabolism
St3gal1/St8sia5/Hexb	0.04898505	0.04247719	Glycosphingolipid biosynthesis - ganglio series
Ereg/Il4ra/Igta2/Lama3/Ddit4/Tlr2/Pik3ap1/Creb3l3/Areg/Cd19/Sgk2/Them4/Fgf9/Ccnd2/Thbs4	0.03727915	0.03232646	PI3K-Akt signaling pathway
Hbegf/Krt20/Jun/Krt15/Fos/Mmp9/Creb3l3/Kcnj6	0.04898505	0.04247719	Estrogen signaling pathway
Nos2/Jun/Marcks1/Fos/Tlr2/Ptgs2	0.03727915	0.03232646	Leishmaniasis

B

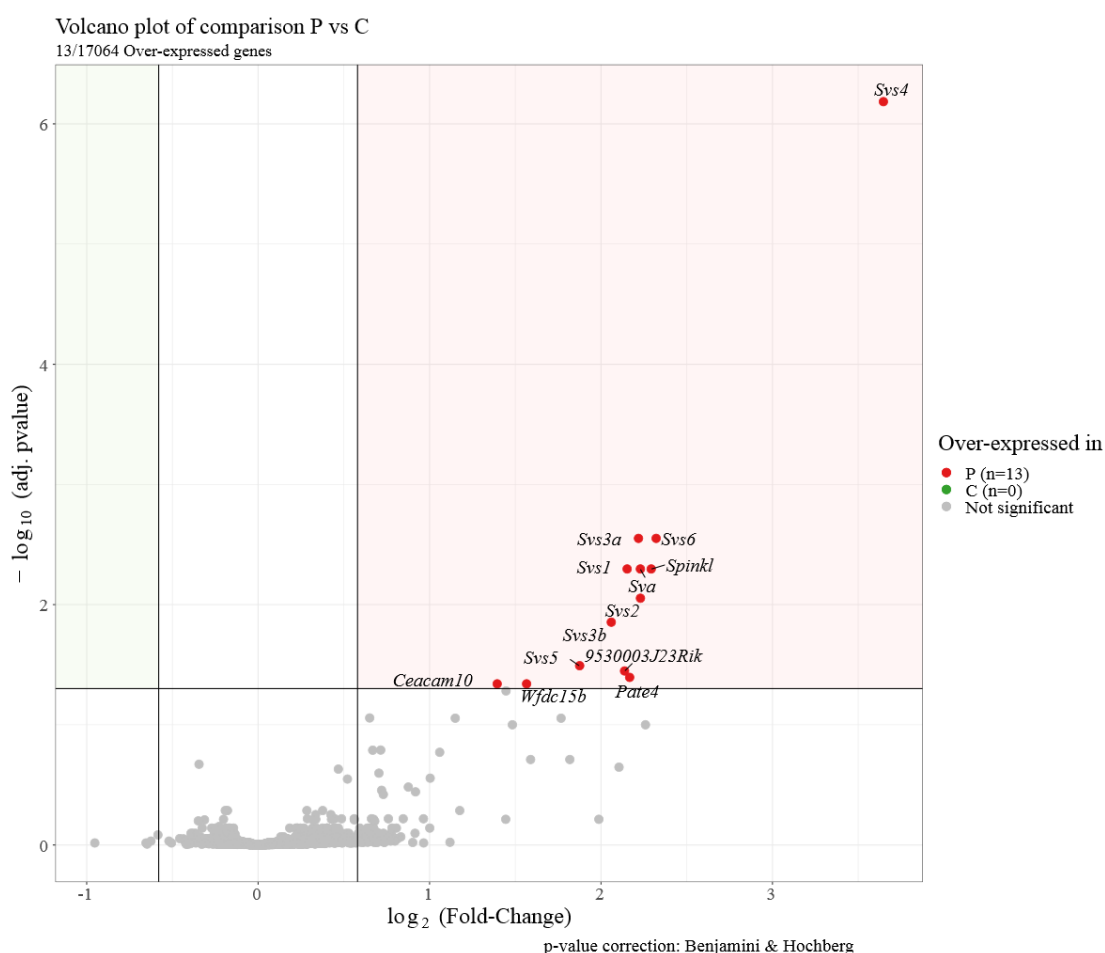
Genes in P+DSS vs. P	p.adjust	qvalue	KEGG Description
Ptgs2/Casp8/Jun/Cebpb/Cxcl1/Fos/Cxcl2/Mmp9/Fosb	0.00680104	0.00568908	IL-17 signaling pathway
Ptgs2/Casp8/Jun/Cebpb/Vcam1/Cxcl1/Fos/Tnfrsf1b/Ripk3/Bcl3/Socs3/Cxcl2/Mmp9/Creb3l3/Creb3l1	1.1906E-05	9.9592E-06	TNF signaling pathway
Aldh3a1/Gstp3/Hpgds/Maob/Gstm7/Gstm6/Ugt2b35/Gstm2/Maoa	0.00291044	0.00243459	Drug metabolism - cytochrome P450
Aldh3a1/Gstp3/Hpgds/Gstm7/Gstm6/Cyp2f2/Ugt2b35/Cyp2s1/Gstm2	0.00291044	0.00243459	Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450
Aldh3a1/Smox/Dpyd/Abat/Upb1/Aldh1b1	0.00347901	0.0029102	beta-Alanine metabolism
Ido1/Haao/Dhtkd1/Svs1/Maob/Maoa/Aldh1b1	0.00680104	0.00568908	Tryptophan metabolism
Nos2/Smox/Svs1/Maob/Maoa/Aldh1b1/Oat	0.00680104	0.00568908	Arginine and proline metabolism
Clca4b/Clca4a/Sct/Cd38/Clca3a2/Pla2g2a/Clca3a1/Cela2a/Bst1/Try4/Ctrb1/Clca3b/Fxyd2/Kcnq1	4.5511E-05	3.807E-05	Pancreatic secretion
Jun/Fos/Fosb/Creb3l3/Cacna1d/Maoa/Creb3l1/Maoa	0.00680104	0.00568908	Amphetamine addiction

C

UP in P+DSS		DOWN in P+DSS		UP in DSS		DOWN in DSS
1190028D05Rik	Niban3	0610005C13Rik	Lrig1	2210407C18Rik	Myl4	2310040G24Rik
2010003K11Rik	Nipal4	1110065P20Rik	Maoa	9530014B07Rik	N4bp2l1	9330162012Rik
4732471J01Rik	Nroos	9230105E05Rik	Maob	Acaa1b	Ncoa7	Adprhl2
4930481A15Rik	Ooop	9530002B09Rik	Mcrip2	Acacb	Nfasc	Apobec2
A530032D15Rik	P2rx1	9530003J23Rik	Mep1a	Acod1	Nipal1	Azin1
Adamts8	Pcolce2	9530053A07Rik	Mettl7a1	Actg2	Nqo1	Ccnd2
Aebp1	Pdlim2	Abat	Mmp7	Ada	Oas2	Chdh
Al661453	Pgap1	Abhd3	Myorg	Adam12	Oas3	Cyp2d12
Anxa1	Pglyrp1	Acot1	Niban1	Adgrf1	Pik3ap1	Dctd
Anxa8	Pgs1	Acsn3	Nkg7	Alpi	Pla2g5	Dhx37
Arl1	Pi16	Airn	Nxpe2	Amn	Plekkg2	Dmkn
B3galt5	Pir	Aldh1b1	Oat	Apol7a	Prap1	Dtl
Bcl3	Plac8	Alms1	Ormdl2	Arg1	Prom2	Efemp1
Bfsp2	Pld2	Amer1	Otc	Arl15	Ptprz1	Eno3
Bglap3	Plek2	Amot	Pate14	B4galnt2	Rasl12	Fads2
Bst1	Plk1	Ank	Pate4	Bcl11a	Rbp3	Fgf9
Bst2	Prc1	Anxa13	Pate9	Blk	Reg3g	Gjb2
Casp4	Prdm1	Aqp11	Pbsn	Bub1b	Ret	Gm2061
Casp8	Pscs	Ar	Pccb	Card11	Retnlb	Gp2
Cd14	Ptpn22	Axin2	Pdp2	Ccdc136	Rhoh	Gsdmcl-ps
Cd38	Pyy	B4galnt3	Ppargc1a	Ccdc9b	Rsad1	H4c8
Cd83	Rap2b	Bbof1	Prelid2	Ccl4	S100a8	Hamp2
Cebpb	Rbp1	BC021767	Prlr	Ccn3	S100a9	Hoxaas3
Cela2a	Rdh18-ps	Bhlha15	Rab5if	Ccn5	Satb1	Hpn
Cep95	Rel	Cachd1	Rangrf	Cd19	Shank3	Igsf10
Chst10	Rgs11	Cacna1d	Rbp7	Cd27	Slamf6	Klk15
Clca3b	Rgs13	Camk1d	Retsat	Cdc42ep2	Slc12a5	Npbwr1
Cp	Ripk3	Cbl	Rgcc	Cellf5	Slc13a1	Pcsk6
Ctrb1	Rock2	Cbs	Rnf43	Cemip	Slc16a6	Psmc3ip
Cxcl1	S100a11	Cd36	Rprm	Cldn13	Spry4	Slc37a2
Cyp26b1	S100a14	Cdk6	Rwdd2b	Cldn4	Srpk3	St8sia5
Dhtkd1	Sbp	Cep41	S100g	Clec2e	St3gal1	Tgm3
Dmbt1	Scarf2	Ces1e	Selenbp1	Cntnap2	St3gal3	Thbs4
Dnmt3l	Serpina1a	Chpt1	Sema5a	Cpxm1	Stra6	Them4
Doc2a	Serpina3n	Clcc1	Shmt1	Cxcl5	Syt5	Ttc37
Dusp6	Sfn	Cldn2	Slc11a2	Cyp2c65	Tlr2	Ttc39c
Egfl7	Sh3kbp1	Comt	Slc1a1	Ddit4	Tmem238l	Zfp607a
Fa2h	Slc45a3	Cps1	Slc39a8	Dgat2	Tmem86b	
Fabp1	Slc7a11	Creb3l1	Slc41a2	Drp2	Tmigd1	
Fer1l4	Smox	Crim1	Slc46a1	Dtx1	Tnfrsf8	
Fhdc1	Snai2	Ctsf	Snhg10	Egr1	Tnnt3	
Fhl3	Snx20	Cyp2s1	Sord	Elmo1	Trim30a	
Fn1	Socs3	D330023K18Rik	Spinkl	Fcho1	Ttyh1	
Gbp2	Sod3	D630039A03Rik	Sult1a1	Fcrl1	Upk1a	
Gm15987	Sp140	Ddx20	Sva	Fmn1l	Upk3a	
Gna14	Spire2	Dhfr	Svs1	Gdf5	Vav2	
Grhl3	Ston2	Egf	Svs2	Ghrl	Vnn1	
Gsap	Sulf2	Enpep	Svs3a	Gimap7	Wdr62	
Hao	Syk	Eppk1	Svs3b	Gm6345	Xist	
Hk2	Tacstd2	Foxd2os	Svs4	Gpnmb	Zc3h12a	
Hrh1	Tagln3	Fut4	Svs5	Gpr39	Zfp469	
Hs3st1	Tat	Fut9	Svs6	Hif3a	Zfp772	
Hspa12a	Tc2n	Fxyd2	Tbc1d24	Hmgcs2		
Igsf23	Thop1	Fzd7	Tceal8	Hsd17b13		
Insl5	Thpo	Galm	Tent5c	Ifi47		
Itgav	Tmem241	Gm42372	Tmem42	Il10ra		
Kcnk6	Tmem68	Gm4737	Tpd52l1	Il11		
Krt14	Tmprss11f	Gpr37l1	Trabd2b	Ipcef1		
Ksr1	Tnfrsf1b	Gstm2	Tspan33	Isg15		
Lacc1	Tnfrsf23	Gstm6	Txnrd3	Itga2		
Lamc2	Tnfsf9	Guca1a	Wfdc2	Kcnj6		
Lax1	Trim15	Hao2	Zfp764	Kif15		
Litaf	Trim6	Hbb-b1		Kmo		
Lrg1	Try4	Hmga2		Krt5		
Lmp	Ttc22	Hopx		Laptm5		
Lst1	Ttc39aos1	Hpgds		Lgals9		
Ly6c1	Upk2	Hunk		Lox		
Ly6g	Vcam1	Iftap		Lpxn		
Map1s	Vip	Immp2l		Lyl1		
Mbd4	Vsig1	Itih2		Madcam1		
Mcpt1	Vwa2	Kcna1		Mal		
Mgat4c	Xdh	Kcne3		Marchf3		
Mgp	Xk	Kcnn3		Mdk		
Ms4a12	Zbtb7c	Kcnq1		Me1		
Msh5	Zdhhc13	Lgals12		Mmp3		
Muc13	Zfp710	Lipt1		Mt1		
Mybl1	Zg16	Lipt2		Mt2		
Myef2		Lpo		Muc2		

Figure S2. DSS treatment differentially changes the transcriptomic profile of the distal colon of offspring depending on the maternal diet: standard or P supplemented. The impact of DSS treatment on gene expression was measured in the distal colon of the groups DSS vs. C and P+DSS vs. P of mice. The genes differentially expressed were associated in several KEGG clusters. (A, B) Tables of the 9 most relevant KEGG clusters in both comparisons of groups. Statistics generated using clusterProfiler 3.14. (C) Specific and common genes associated to the P impact on the response to DSS treatment (*cf.* Figure 3E).

A



B

Genes in P vs. C	p.adjust	GO Description
Svs3a/Spink1/Svs2/Svs3b	3.77E-08	sperm capacitation
Svs3a/Spink1/Svs2/Svs3b	2.37E-05	cell maturation
Svs3a/Spink1/Svs2/Svs3b	2.37E-05	spermatid development
Svs3a/Spink1/Svs2/Svs3b	2.37E-05	spermatid differentiation
Svs3a/Spink1/Svs2/Svs3b	7.10E-05	developmental maturation
Svs3a/Spink1/Svs2/Svs3b	7.71E-05	germ cell development
Svs3a/Spink1/Svs2/Svs3b	0.00017731	cellular process involved in reproduction in multicellular organism
Spink1/Ceacam10	0.00402424	flagellated sperm motility
Spink1/Ceacam10	0.00402424	sperm motility
Svs2/Pate4	0.00556735	acrosomal vesicle

C

Genes in P vs. C	p.adjust	KEGG Description
Svs1	0.016108136	Histidine metabolism
Svs1	0.016108136	Tryptophan metabolism
Svs1	0.016108136	Arginine and proline metabolism
9530003J23Rik	0.019205627	Salivary secretion

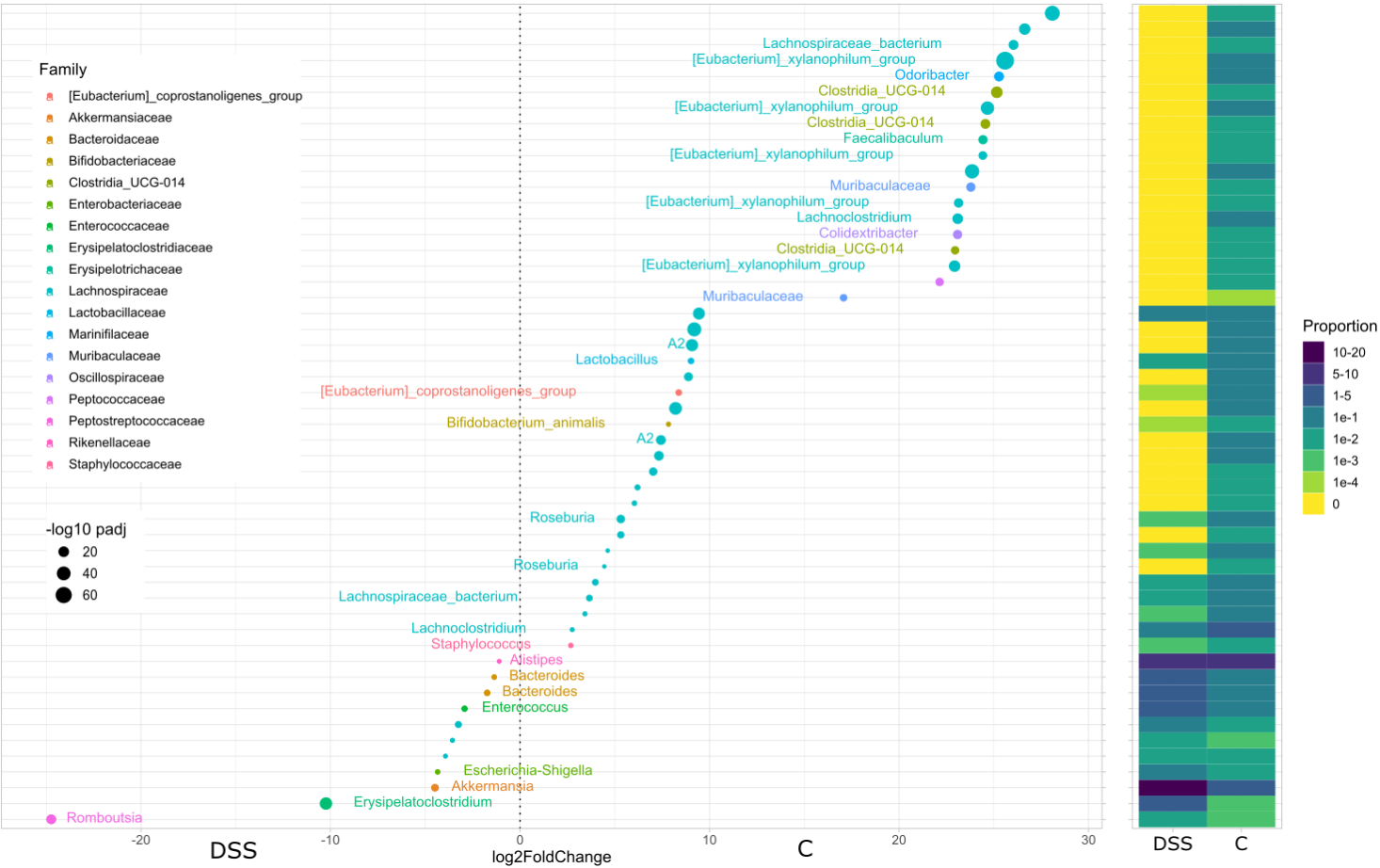
Figure S3. Prebiotic maternal supplementation changes the transcriptomic profile of the distal colon of offspring in basal condition. The basal impact of maternal prebiotics on gene expression was measured in the distal colon through the comparison of groups C and P of mice. (A) Volcano plot showing differentially expressed genes in the comparison of groups P and C. Genes upregulated in the group P or C are respectively represented in red or green. (B, C) Tables of respectively 10 and 4 most relevant GO clusters and KEGG clusters in the comparison of groups P and C. Statistics generated using clusterProfiler 3.14.

Lipids $\uparrow$ in P vs. C		
Lipid	Adj. p-value	Significance
C8-3OH	>0.9999	
C14-Asn	>0.9999	
PGD2	0.3655	
10-TriHOME	0.2193	
LTB5	0.0797	
15dPGJ2	0.2447	
6kPGF1 α	0.0045	**
9-HODE	0.0410	*
PGE2	0.0304	*
13-HODE	0.0730	
C18-2OH	0.0043	**
12-TriHOME	0.0420	*
15-HETE	0.0166	*
18-HEPE	0.0073	**
PGF2 α	0.0030	**
PGE3	0.0063	**
LxA4	0.0491	*
5-HETE	0.0231	*
5.6-EET	0.0801	
12.13-DiHOME	0.1344	
5.6-DiHETE	0.0048	**
C14-3OH	0.0674	
C12-3OH	0.0195	*
C16-3OH	0.0740	
9-HOTrE	0.0272	*
10-HODE	0.2048	
5oxoETE	0.0034	**
8.9-EET	0.0002	***
C16:1-3OH	0.0387	*
C10-3OH	0.0012	**
C18:1-3OH	0.0074	**
9-Oxo-ODE	0.0312	*
13-Oxo-ODE	0.0349	*
C16-2OH	0.0093	**
RvD1	0.0037	**
LTB4	0.0001	***
9.10-DiHOME	0.0089	**
C18-3OH	0.0454	*
14.15-EET	0.0069	**
11.12-EET	0.0217	*

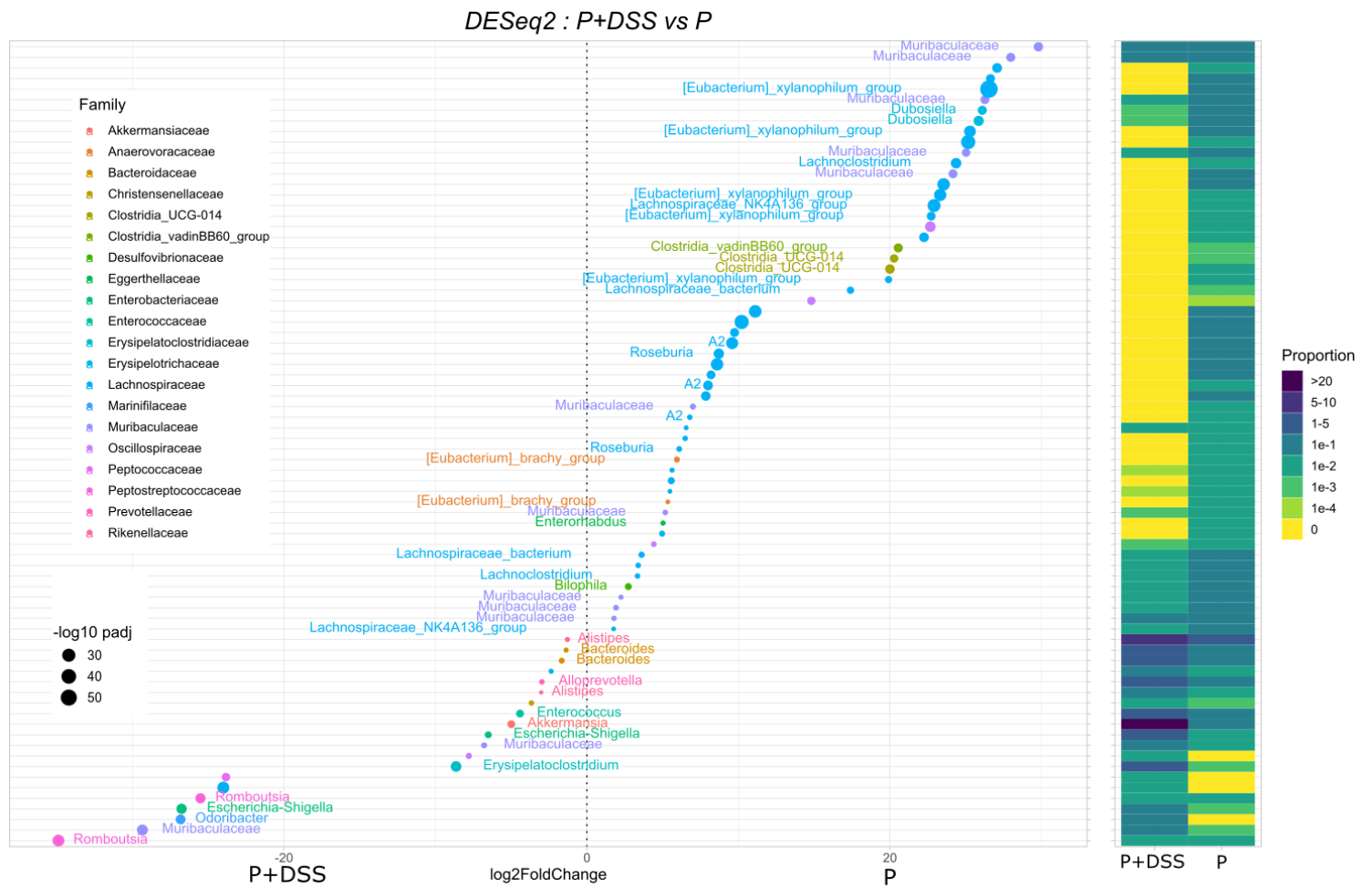
Figure S4. Prebiotic administration to mothers changes the concentration of 28 lipids in distal colon. The heatmap showing mean normalized concentrations of 49 lipid mediators in distal colon for each group of mice identified a cluster of 40 metabolites with similar variation in the P group. Lipids written in red are also significantly decreased in the P+DSS group vs. group P. Analysis of the concentrations of the lipid mediators identified in the cluster by two-way ANOVA followed by Bonferroni's post-hoc comparisons tests: $p^* < 0.05$; $p^{**} < 0.01$; $p^{***} < 0.001$ (Prebiotics effect). Data represent means and standard deviation of the mean of 12 to 16 mice per group.

A	ASV	Most detailed classification
	3b8fae66a7abbaa263ab111ce4384c4e	<i>Desulfovibrionaceae</i> family
	dfa833b266bd2993b86feab3617b34c3	<i>Akkermansia</i> genus
	3f1f72c3cede775d435ea652f655298f	<i>Faecalibaculum</i> genus
	9d1f6be17ee3760c64f3a472e97688dc	<i>Alistipes</i> genus
	1dcd5cddd286ba7e9e4786d8d8c1d201	<i>Alloprevotella</i> genus
	ed7c23c36478a883667859c2b3c010ea	<i>Lachnospiraceae</i> family
	26d711535837669071a59214244e02ad	<i>Rikenellaceae</i> RC9 gut group genus

B DESeq2 : DSS vs C



C



D

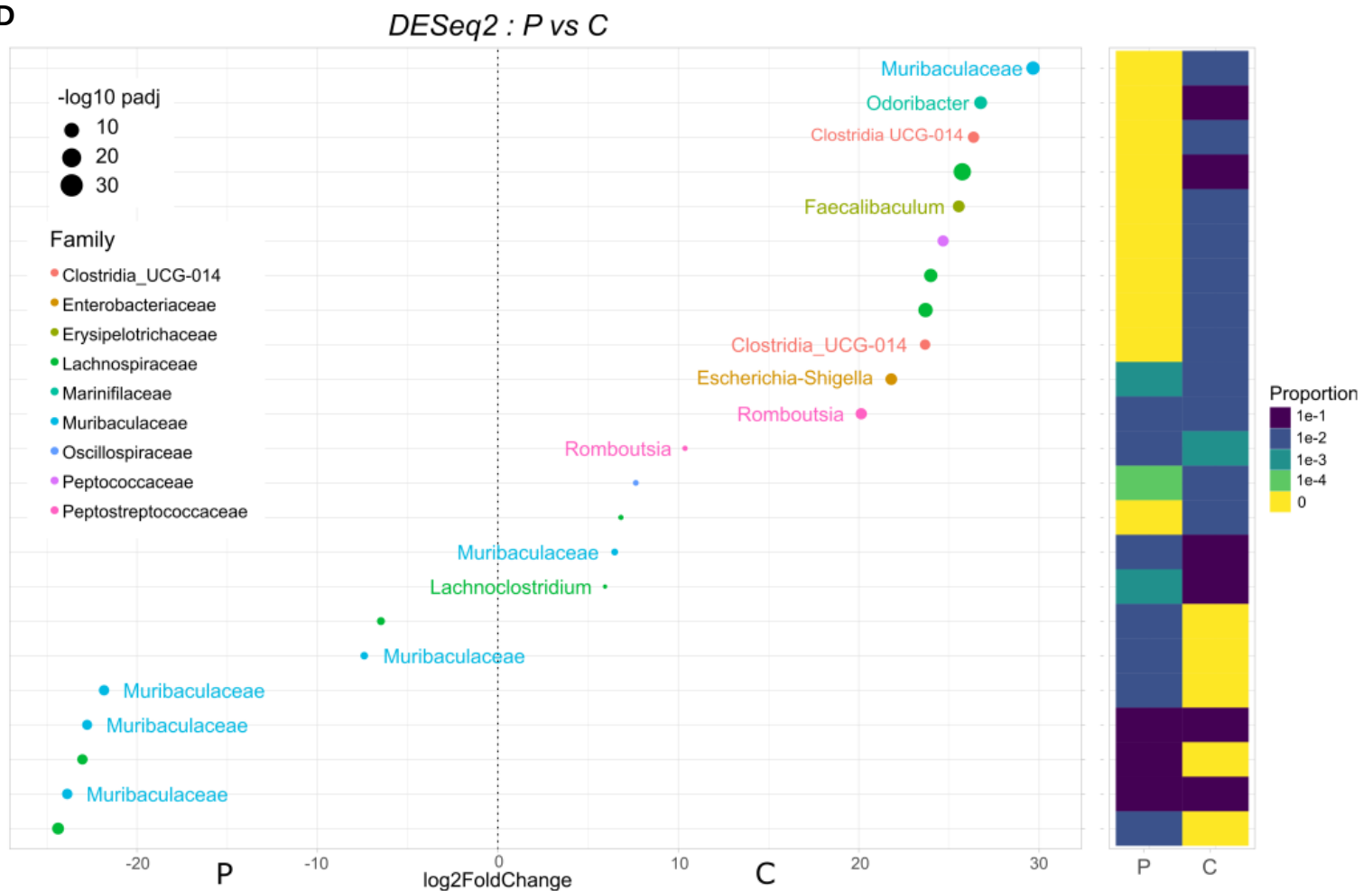


Figure S5. Maternal prebiotics increase in basal condition 7 ASVs, including 4 belonging to *Muribaculaceae*. (A) ASV names and their most detailed classification found in Figure 5D, which represents the relative abundance of bacterial populations at ASV level. The impact of DSS treatment on the bacterial composition was analysed in the luminal content of distal colons of all groups of mice by DESeq2, which shows differentially abundant ASVs between (B) DSS vs. C and (C) P+DSS vs. P groups of mice. The basal impact of maternal prebiotics on the bacterial composition was analysed in the luminal content of the groups P vs. C of mice by DESeq2. (D) Differentially abundant ASVs between P and C groups of mice.

REFERENCES

- 1 Gajendran M, Loganathan P, Catinella AP, *et al.* A comprehensive review and update on Crohn's disease. *Disease-a-Month* 2018;64:20–57.
- 2 Zhu J, Xu Y, Zhao J, *et al.* IL-33 Protects Mice against DSS-Induced Chronic Colitis by Increasing Both Regulatory B Cell and Regulatory T Cell Responses as Well as Decreasing Th17 Cell Response. *J Immunol Res* 2018;2018:1–12.
- 3 Oliveira SB, Monteiro IM. Diagnosis and management of inflammatory bowel disease in children. *BMJ* 2017;357:1–15.
- 4 Gonçalves P, Araújo JR, Di Santo JP. A cross-talk between microbiota-derived short-chain fatty acids and the host mucosal immune system regulates intestinal homeostasis and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2018;24:558–72.
- 5 Pochard C, Coquenlorge S, Freyssinet M, *et al.* The multiple faces of inflammatory enteric glial cells: Is crohn's disease a gliopathy? *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol* 2018;315:G1–11.
- 6 Ananthakrishnan AN, Bernstein CN, Iliopoulos D, *et al.* Environmental triggers in IBD: A review of progress and evidence. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2018;15:39–49.
- 7 Warhurst AC, Hopkins SJ, Warhurst G. Interferon γ induces differential upregulation of α and β chemokine secretion in colonic epithelial cell lines. *Gut* 1998;42:208–13.
- 8 Aguanno D, Coquant G, Postal BG, *et al.* The intestinal quorum sensing 3-oxo-C12:2 Acyl homoserine lactone limits cytokine-induced tight junction disruption. *Tissue Barriers* 2020;00.
- 9 Arrieta MC, Bistritz L, Meddings JB. Alterations in intestinal permeability. *Gut* 2006;55:1512–20.
- 10 Irvine EJ, Marshall JK. Increased intestinal permeability precedes the onset of Crohn's disease in a subject with familial risk. *Gastroenterology* 2000;119:1740–4.
- 11 Baert F, Moortgat L, Van Assche G, *et al.* Mucosal Healing Predicts Sustained Clinical Remission in Patients With Early-Stage Crohn's Disease. *Gastroenterology* 2010;138:463–8.
- 12 Vich Vila A, Imhann F, Collij V, *et al.* Gut microbiota composition and functional changes in inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome. *Sci Transl Med* 2018;10:eaap8914.
- 13 Ni J, Wu GD, Albenberg L, *et al.* Gut microbiota and IBD: Causation or correlation? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;14:573–84.
- 14 Pochard C, Coquenlorge S, Jaulin J, *et al.* Defects in 15-HETE Production and Control of Epithelial Permeability by Human Enteric Glial Cells from Patients with Crohn's Disease. *Gastroenterology* 2016;150:168–80.
- 15 Coquenlorge S, Van Landeghem L, Jaulin J, *et al.* The arachidonic acid metabolite 11 β -ProstaglandinF2 α controls intestinal epithelial healing: Deficiency in patients with Crohn's disease. *Sci Rep* 2016;6:1–14.
- 16 Pochard C, Gonzales J, Bessard A, *et al.* PGI2 Inhibits Intestinal Epithelial Permeability and

- Apoptosis to Alleviate Colitis. *Cmgh* 2021;12:1037–60.
- 17 Kellermayer R. Epigenetics and the developmental origins of inflammatory bowel diseases. *Can J Gastroenterol* 2012;26:909–15.
 - 18 Rodriguez-Caro H, Williams SA. Strategies to reduce non-communicable diseases in the offspring: Negative and positive in utero programming. *J. Dev. Orig. Health Dis.* 2018;9:642–52.
 - 19 Seyedian SS, Nokhostin F, Malamir MD. A review of the diagnosis, prevention, and treatment methods of inflammatory bowel disease. *J Med Life* 2019;12:113–22.
 - 20 Agrawal M, Sabino J, Frias-Gomes C, *et al.* Early life exposures and the risk of inflammatory bowel disease: Systematic review and meta-analyses. *EClinicalMedicine* 2021;36.
 - 21 Koletzko B, Godfrey KM, Poston L, *et al.* Nutrition During Pregnancy, Lactation and Early Childhood and its Implications for Maternal and Long-Term Child Health: The Early Nutrition Project Recommendations. *Ann Nutr Metab* 2019;74:93–106.
 - 22 Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, *et al.* Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;14:491–502.
 - 23 Bouchaud G, Castan L, Chesné J, *et al.* Maternal exposure to GOS/inulin mixture prevents food allergies and promotes tolerance in offspring in mice. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol* 2016;71:68–76.
 - 24 Selle A., Brosseau C., Duval A., Bouchaud G., Rousseaux A., Bruneau A., Cherbuy C., Mariadassou M. , Cariou V., Barbarot S., Bodinier M. Food allergy prevention in progeny by prebiotic supplementation during pregnancy in a preclinical study. (Submitted to.
 - 25 Vanhaecke T, Aubert P, Grohard P-AA, *et al.* L. fermentum CECT 5716 prevents stress-induced intestinal barrier dysfunction in newborn rats. *Neurogastroenterol Motil* 2017;29:1–12.
 - 26 Charpentier E, Cornec M, Dumont S, *et al.* 3 ' RNA sequencing for robust and low-cost gene expression profiling.
 - 27 Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.journal* 2011;17:10.
 - 28 Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics* 2009;25:1754–60.
 - 29 Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol* 2014;15:550.
 - 30 Yu G, Wang LG, Han Y, *et al.* ClusterProfiler: An R package for comparing biological themes among gene clusters. *Omi A J Integr Biol* 2012;16:284–7.
 - 31 Le Faouder P, Baillif V, Spreadbury I, *et al.* LC–MS/MS method for rapid and concomitant quantification of pro-inflammatory and pro-resolving polyunsaturated fatty acid metabolites. *J Chromatogr B* 2013;932:123–33.
 - 32 [Website] <https://bio.tools/microSysMics> [accessed 2021 Sep 03].

- 33 Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR, *et al.* Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol* 2019;37:852–7.
- 34 Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, *et al.* DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods* 2016;13:581–3.
- 35 Patil I. Visualizations with statistical details: The ‘ggstatsplot’ approach. *J Open Source Softw* 2021;6:3167.
- 36 Jari Oksanen, F. Guillaume Blanchet, Michael Friendly, Roeland Kindt, Pierre Legendre, Dan McGlinn, Peter R. Minchin, R. B. O’Hara, Gavin, L. Simpson, Peter Solymos, M. Henry H. Stevens, Eduard Szoecs and Helene Wagner (2020). *vegan: Community Ecology Pac.*
- 37 Cuffaro B, Assohoun ALW, Boutillier D, *et al.* Identification of New Potential Biotherapeutics from Human Gut Microbiota-Derived Bacteria. *Microorganisms* 2021;9:565.
- 38 Hogenkamp A, Thijssen S, van Vlies N, *et al.* Supplementing pregnant mice with a specific mixture of nondigestible oligosaccharides reduces symptoms of allergic asthma in male offspring. *J Nutr* 2015;145:640–6.
- 39 Hogenkamp A, Knippels LMJ, Garssen J, *et al.* Supplementation of Mice with Specific Nondigestible Oligosaccharides during Pregnancy or Lactation Leads to Diminished Sensitization and Allergy in the Female Offspring. *J Nutr* 2015;145:996–1002.
- 40 Fujiwara R, Takemura N, Watanabe J, *et al.* Maternal consumption of fructo-oligosaccharide diminishes the severity of skin inflammation in offspring of NC/Nga mice. *Br J Nutr* 2010;103:530–8.
- 41 Brosseau C, Selle A, Duval A, *et al.* Prebiotic Supplementation During Pregnancy Modifies the Gut Microbiota and Increases Metabolites in Amniotic Fluid, Driving a Tolerogenic Environment In Utero. *Front Immunol* 2021;12:1–16.
- 42 Singh V, Yeoh BS, Walker RE, *et al.* Microbiota fermentation-NLRP3 axis shapes the impact of dietary fibres on intestinal inflammation. *Gut* 2019;68:1–12.
- 43 Videla S, Vilaseca J, Antolín M, *et al.* Dietary inulin improves distal colitis induced by dextran sodium sulfate in the rat. *Am J Gastroenterol* 2001;96:1486–93.
- 44 Hiippala K, Barreto G, Burrello C, *et al.* Novel *Odoribacter splanchnicus* Strain and Its Outer Membrane Vesicles Exert Immunoregulatory Effects in vitro. *Front Microbiol* 2020;11:1–14.
- 45 Leccese G, Bibi A, Mazza S, *et al.* Probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* Strains Counteract Adherent-Invasive *Escherichia coli* (AIEC) Virulence and Hamper IL-23/Th17 Axis in Ulcerative Colitis, but Not in Crohn’s Disease. *Cells* 2020;9:1824.
- 46 Wang Y, Gu Y, Fang K, *et al.* *Lactobacillus acidophilus* and *Clostridium butyricum* ameliorate colitis in murine by strengthening the gut barrier function and decreasing inflammatory factors. *Benef Microbes* 2018;9:775–87.
- 47 Pagnini C, Corleto VD, Martorelli M, *et al.* Mucosal adhesion and anti-inflammatory effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the human colonic mucosa: A proof-of-concept study. *World J Gastroenterol* 2018;24:4652–62.
- 48 Bai D, Sun T, Zhao J, *et al.* Oroxylin A maintains the colonic mucus barrier to reduce disease susceptibility by reconstituting a dietary fiber-deprived gut microbiota. *Cancer Lett*

2021;515:73–85.

- 49 Duan R, Guan X, Huang K, *et al.* Flavonoids from Whole-Grain Oat Alleviated High-Fat Diet-Induced Hyperlipidemia via Regulating Bile Acid Metabolism and Gut Microbiota in Mice. *J Agric Food Chem* 2021;69:7629–40.
- 50 Wang M, Zhang S, Zhong R, *et al.* Olive Fruit Extracts Supplement Improve Antioxidant Capacity via Altering Colonic Microbiota Composition in Mice. *Front Nutr* 2021;8:126.
- 51 Pujo J, Petitfils C, Le Faouder P, *et al.* Bacteria-derived long chain fatty acid exhibits anti-inflammatory properties in colitis. *Gut* 2021;70:1088–97.
- 52 Wen S, He L, Zhong Z, *et al.* Stigmasterol Restores the Balance of Treg/Th17 Cells by Activating the Butyrate-PPAR γ Axis in Colitis. *Front Immunol* 2021;12:741934.
- 53 Chassaing B, Aitken JD, Malleshappa M, Vijay-Kumar M. Dextran Sulfate Sodium (DSS)-Induced Colitis in Mice. *Curr Protoc Immunol* Published Online First: 2014.
- 54 Gobbetti T, Dalli J, Colas RA, *et al.* Protectin D1n-3 DPA and resolvin D5n-3 DPA are effectors of intestinal protection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017;114:3963–8.
- 55 Ciorba MA. Indoleamine 2,3 dioxygenase in intestinal disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2013;29:146–52.
- 56 Na YR, Jung D, Stakenborg M, *et al.* Prostaglandin E 2 receptor PTGER4-expressing macrophages promote intestinal epithelial barrier regeneration upon inflammation. *Gut* 2021;;gutjnl-2020-322146.
- 57 Punit S, Dubé PE, Liu CY, *et al.* Tumor Necrosis Factor Receptor 2 Restricts the Pathogenicity of CD8+ T Cells in Mice With Colitis. *Gastroenterology* 2015;149:993-1005.e2.
- 58 Silva RL, Lopes AH, Guimarães RM, *et al.* CXCL1/CXCR2 signaling in pathological pain: Role in peripheral and central sensitization. *Neurobiol Dis* 2017;105:109–16.
- 59 Tam VC. Lipidomic profiling of bioactive lipids by mass spectrometry during microbial infections. *Semin Immunol* 2013;25:240–8.
- 60 Brosseau C, Selle A, Palmer DJ, *et al.* Prebiotics: mechanisms and preventive effects in allergy. *Nutrients* 2019;11:1–26.
- 61 Lagarde M, Guichardant M, Bernoud-Hubac N. Anti-inflammatory and anti-virus potential of poxytrins, especially protectin DX. *Biochimie* 2020;179:281–4.
- 62 Lagarde M, Guichardant M, Bernoud-Hubac N, *et al.* Oxygenation of polyunsaturated fatty acids and oxidative stress within blood platelets. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids* 2018;1863:651–6.
- 63 Fu J, Schoeman JC, Harms AC, *et al.* Metabolomics profiling of the free and total oxidised lipids in urine by LC-MS/MS: application in patients with rheumatoid arthritis. *Anal Bioanal Chem* 2016;408:6307–19.
- 64 Ambaw YA, Chao C, Ji S, *et al.* Tear eicosanoids in healthy people and ocular surface disease. *Sci Rep* 2018;8:1–12.
- 65 Miao X-P, Ouyang Q, Li H-Y, *et al.* Role of selective cyclooxygenase-2 inhibitors in exacerbation of inflammatory bowel disease: A systematic review and meta-analysis. *Curr*

Ther Res 2008;69:181–91.

- 66 Sanders ME, Merenstein DJ, Reid G, *et al.* Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* Published Online First: 2019.
- 67 Zhu C, Chen Z, Jiang Z. Expression, distribution and role of aquaporin water channels in human and animal stomach and intestines. *Int J Mol Sci* 2016;17.
- 68 Nissinen E, Lindén IB, Schultz E, *et al.* Inhibition of catechol-O-methyltransferase activity by two novel disubstituted catechols in the rat. *Eur J Pharmacol* 1988;153:263–9.
- 69 Liao C, Lin T-P, Li P, *et al.* Loss of MAOA in epithelia inhibits adenocarcinoma development, cell proliferation and cancer stem cells in prostate. *Oncogene* 2018;37:5175–90.
- 70 Mittal R, Debs LH, Patel AP, *et al.* Neurotransmitters: The Critical Modulators Regulating Gut–Brain Axis. *J Cell Physiol* 2017;232:2359–72.
- 71 Ostadkarampour M, Putnins EE. Monoamine Oxidase Inhibitors: A Review of Their Anti-Inflammatory Therapeutic Potential and Mechanisms of Action. *Front. Pharmacol.* 2021;12:889.
- 72 Kaakkola S. Clinical pharmacology, therapeutic use and potential of COMT inhibitors in Parkinson’s disease. *Drugs* 2000;59:1233–50.

Discussion et perspectives

1. L'essentiel des objectifs et résultats

Nous avons émis l'hypothèse que le renforcement anténatal du microbiote pourrait être une stratégie préventive des MICI. Les questions soulevées dans notre projet portent sur le potentiel effet modulateur des prébiotiques à la mère sur le développement d'une MICI chez l'enfant, modélisé ici par : un mélange GOS/inuline administré à des souris pendant la gestation et l'induction d'une colite chronique chez les descendants mâles. D'un point de vue clinique tout d'abord, la question se pose de connaître leur impact sur l'évolution des symptômes observés en MICI. D'un point de vue mécanistique ensuite, l'intérêt réside en la détermination de l'effet de l'enrichissement anténatal en prébiotiques sur la composition et l'activité du microbiote intestinal chez la descendance. De plus, la détermination de son impact sur la réponse intestinale de l'hôte représente un enjeu à caractériser sur plusieurs niveaux : des fonctions physiologiques digestives, de la réponse immunitaire, du profil lipidomique et transcriptomique intestinaux.

Pour répondre à ces interrogations, nous avons mis en place un protocole expérimental qui s'appuie sur un modèle murin où les souris mères sont soumises ou non à un régime enrichi en prébiotiques GOS/inuline lors de la gestation, et où une MICI est modélisée chez la descendance mâle âgée de 8 à 10 semaines par une colite chronique induite suite à l'administration répétée du composé colitogène DSS. Au cours du protocole, les fonctions digestives ont été suivies par la mesure des perméabilités para- et transcellulaire *in vivo*, du transit intestinal, du nombre de fèces émises en 2h et de l'humidité des selles. L'évolution de la colite a été mesurée à travers le calcul de l'index pathologique DAI. En fin de protocole, les prélèvements de segments intestinaux ont permis de compléter l'étude fonctionnelle digestive par la mesure des perméabilités *ex vivo*. L'inflammation intestinale a été décrite de manière globale par le dosage fécal de la Lcn-2. Au niveau du côlon distal, le calcul d'un score de dommage histologique micro-DAI ainsi que la mesure par IHC de la présence des lymphocytes T et des macrophages ont permis de décrire au niveau tissulaire intestinal l'inflammation. La composition du microbiote a été caractérisée par le séquençage des gènes de l'ARNr 16S des contenus luminaux des côlons distaux, et son activité par la quantification par GC/MS-MS des AGCC caecaux. Pour ce qui est de l'hôte, un profil lipidomique a été établi dans le côlon distal par le dosage d'un panel de 49 lipides. Un séquençage 3'SRP a permis par ailleurs d'établir son profil transcriptomique au niveau de ce même côlon distal.

À l'issue du protocole, le DAI a mis en évidence une augmentation de la sévérité de la colite chronique induite chez la descendance suite à un enrichissement anténatal en GOS/inuline (groupe de souris P+DSS), avec une augmentation du recrutement de cellules immunes innées et adaptatives au niveau intestinal. Ces augmentations s'accompagnent d'effets physiologiques comme une humidité des selles plus importantes chez ces souris P+DSS et d'un raccourcissement du côlon. Les systèmes biologiques intestinaux de la descendance ont été également modulés par l'enrichissement anténatal en GOS/inuline de la souris mère en contexte de colite. Une altération du profil lipidique du côlon distal a été mise en évidence, avec une augmentation de RvD5, 14-HDoHE et PDX pour le groupe P+DSS par rapport à son groupe contrôle. Le microbiote a été de même affecté par la prise anténatale de GOS/inuline, avec une surabondance de 8 souches bactériennes au niveau du contenu du colon distal et une diminution de la concentration caecale en butyrate observées dans le groupe P+DSS. Enfin, l'analyse transcriptomique du côlon distal des souris a permis d'identifier des gènes

potentiellement impliqués dans la susceptibilité accrue à la colite qui comprennent entre autres des gènes en lien avec l'inflammation, la barrière épithéliale intestinale et des processus neurologiques.

De manière surprenante, nos travaux ont révélé une susceptibilité accrue à la colite liée à la prise anténatale des prébiotiques GOS/inuline. En lien avec cet effet délétère sont des changements à la fois au niveau du microbiote intestinal, mais aussi au niveau de l'hôte, avec une altération de ses systèmes biologiques dont son profil lipidomique et potentiellement transcriptomique du côlon distal.

2. Un retour sur les concepts clés de la littérature

L'hypothèse de l'origine développementale de la santé et des maladies souligne l'importance des facteurs environnementaux aux stades précoces de vie, dans le développement ultérieur de maladies chroniques [126]. Les stimuli environnementaux rencontrés peuvent être à l'origine d'une altération de la mise en place et de la maturation des systèmes biologiques de l'individu jeune, pour lequel une empreinte à long terme est observée [126]. En effet, cette modulation est à l'origine d'une reprogrammation pérenne dont les retombées peuvent être délétères ou protectrices sur le développement ou non, à l'âge adulte, d'une maladie non transmissible [126].

Parmi les stimuli environnementaux, l'alimentation maternelle représente un acteur important. En effet, plusieurs études mettent en évidence une influence à long terme du régime alimentaire maternel. Une sous-nutrition maternelle est associée par exemple à un ralentissement de la croissance du fœtus par réduction de la vitesse de son métabolisme et à une altération des sécrétions fœtales d'hormones, qui augmentent le risque pour l'enfant de développer de l'hypertension, de l'obésité ou du diabète de type 2 [126]. À l'inverse, un régime alimentaire maternel riche en fibres induit une augmentation de la concentration d'AGCC chez l'embryon et la souris mère (Figure 53) [140]. Ces AGCC participent au développement de cellules neurales, de cellules entéroendocrines exprimant GLP-1 et des cellules pancréatiques β par liaison aux GPR41 et GPR43 présents au niveau de l'intestin, des nerfs sympathiques et du pancréas de la descendance [140]. De plus, ce régime riche en fibres protège des conséquences d'un régime riche en graisses chez la descendance en améliorant la tolérance au glucose et la résistance à l'insuline [140].

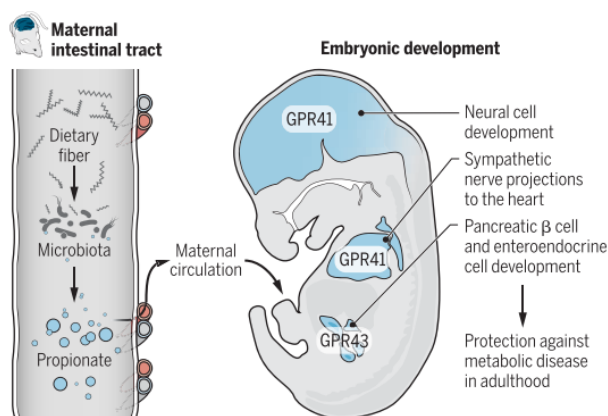


Figure 53. Impact d'une alimentation maternelle riche en fibres sur la survenue de maladies métaboliques chez la descendance à travers l'action d'AGCC [140,213].

Le régime alimentaire maternel peut être lui-même défini par l'apport ou la restriction spécifique en certains composés tels que les prébiotiques. Les prébiotiques sont des substrats alimentaires conférant des effets bénéfiques pour l'hôte à travers une prise en charge spécifique de son microbiote [214]. Ils sont en ce sens utilisés au sein de stratégies nutritionnelles chez la mère pour

lesquelles un impact sur la descendance est observé. Leur impact se situe à différents niveaux de l'organisme du descendant. Des travaux sur modèle animal ont notamment montré que des paramètres physiologiques sont modifiés par une supplémentation en prébiotiques lors de la gestation et la lactation, avec une augmentation du poids, de la masse musculaire et osseuse tout comme la longueur du côlon chez la descendance [215]. D'un point de vue métabolique, les prébiotiques donnés à la mère peuvent réduire la glycémie chez la descendance murine [120]. En parallèle, une reprogrammation épigénétique peut être également induite par la prise maternelle en prébiotiques. L'administration maternelle d'inuline lors de la reproduction jusqu'au sevrage engendre au niveau hépatique une hyperméthylation du gène *Wnt5a* et une hypométhylation des gènes *Pik3c2a*, *Pik3c2b*, et *Pik3r2* chez la descendance mâle, en réponse à un régime alimentaire maternel riche en graisses [216]. Concernant l'immunité de la progéniture, l'administration des prébiotiques kestones aux souris mères lors de la gestation et de la lactation induit une augmentation du niveau d'IgA dans le lait maternel consommé par la descendance [217]. Ainsi, une reprogrammation des paramètres physiologiques, du microbiote intestinal, du système immunitaire et métabolique ainsi que de l'expression génique sont observés chez la descendance suite à l'enrichissement maternel en prébiotiques.

Au sujet précis de la supplémentation maternelle en GOS/inuline lors de la gestation, des effets maternels sont observés et rejaillissent sur la progéniture au niveau de son microbiote et de ses différents systèmes biologiques, dont immunitaire et métabolique [109,211]. Concernant les effets maternels, une différence notable de microbiote intestinal est observée chez les souris mères soumises à un enrichissement en GOS/inuline lors de la gestation, par rapport aux mères contrôles, en fin de gestation, soit après 3 semaines de supplémentation en prébiotiques. Ces effets perdurent jusqu'au 10^{ème} jour de lactation, avec jusqu'à 128 souches bactériennes surabondantes [211]. Au-delà, le microbiote intestinal tend à se rapprocher de celui des mères contrôles avec seulement 3 souches surabondantes (des familles *Lachnospiraceae* et *Rikenellaceae*) chez les souris mères ayant reçu des prébiotiques lors de la gestation [211]. Non seulement la composition mais aussi l'activité du microbiote est modulée par la prise gestationnelle de GOS/inuline. La concentration en métabolites dont l'acétate est augmentée dans le liquide amniotique de souris mères supplémentées en GOS/inuline [109]. L'acétate est connu pour ses propriétés de renforcement de la BEI et de l'immunité par modulation de la différenciation des cellules caliciformes, de leur production de mucines et de la différenciation des lymphocytes Breg [27,35,109]. En plus du liquide amniotique, la concentration fécale en AGCC est augmentée en présence de GOS/inuline lors de la gestation chez les souris mères, avec une augmentation d'acétate et de propionate en fin de gestation qui inclut au 10^{ème} jour de lactation une augmentation de butyrate [211]. Ces résultats montrent une modulation maternelle du microbiote intestinal maternelle suite à enrichissement en GOS/inuline lors de la gestation. Cette modulation est également retrouvée chez la descendance femelle à 6 semaines de vie, pour laquelle 5 espèces bactériennes surabondantes sont observées, dont des souches *Actinobacteria* et *Proteobacteria* de manière similaire aux mères supplémentées en fin de gestation [211]. De même, le métabolisme de cette descendance est impacté. Les concentrations de butyrate, propionate et de 18 métabolites en lien entre autres avec le métabolisme d'acides aminés, de lipides et du muscle sont augmentées par la prise anténatale de prébiotiques [211]. Concernant l'immunité de la descendance, les fœtus de souris mères supplémentées en GOS/inuline voient leur fréquence en lymphocytes Breg producteurs d'IL-10 augmenter dans l'intestin et la moelle osseuse [109]. Cette prépondérance en Breg est maintenue sur le long terme et est corrélée à la mise en place de lymphocytes Treg dans les ganglions mésentériques [109]. En effet, une augmentation de lymphocytes Treg CD3⁺CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ et CD3⁺CD8⁺Foxp3⁺, de lymphocytes Breg CD9⁺ et CD25⁺ est observée à

6 semaines de vie chez la descendance dans les ganglions mésentériques et inguinaux [211]. En plus de cette augmentation de Treg, le nombre de lymphocytes Th2 CD3⁺CD4⁺IL-4⁺ a aussi augmenté à 6 semaines de vie [211].

Le concept de DOHaD a donc mis en lumière l'importance du régime alimentaire maternel, et donc de sa modulation par des prébiotiques, dans la physiologie de la descendance. Ces modifications peuvent également être déterminantes dans l'induction de maladies chroniques. En ce sens, plusieurs études ont démontré des effets bénéfiques des prébiotiques contre le développement de maladies chroniques. La prise maternelle en GOS/inuline lors de la gestation et la lactation protège entre autres la descendance du développement d'une allergie alimentaire [210]. Un régime riche en prébiotiques lors de la gestation prévient également du développement d'asthme chez la souris [126]. De même, la consommation maternelle de fructo-oligosaccharides à longue chaîne diminue la sévérité d'une inflammation cutanée chez la descendance [217]. Enfin, dans un modèle murin d'obésité maternelle, une supplémentation en oligofructoses lors de la gestation et la lactation protège la descendance des conséquences d'une alimentation maternelle riche en sucre et graisses en améliorant la sensibilité à l'insuline, la tolérance au glucose et la stéatose hépatique [218]. De plus, une différence significative du microbiote intestinal est aussi observée jusqu'à 11 semaines de vie pour la descendance de rats mères supplémentées en oligofructoses [218]. Les données concernant la modulation nutritionnelle maternelle en contexte de MICI sont faibles. Une étude démontre qu'une supplémentation anténatale en donneurs de méthyles augmente la susceptibilité à la colite murine, ce qui va dans le sens de notre étude qui a souligné l'effet délétère d'un enrichissement anténatal en GOS/inuline dans le développement d'une colite chronique murine [205].

Pour rappel, les MICI sont des maladies chroniques représentant un enjeu de santé majeur, avec une prépondérance croissante au niveau mondial [112]. Ces maladies se caractérisent par des poussées inflammatoires et se traduisent par des troubles digestifs et extra-digestifs [4,8]. Ces symptômes traduisent chez ces patients MICI une dysbiose intestinale, une dérégulation de leur système immunitaire et de leur BEI ainsi qu'une altération de leur SNE [44,77,146,160]. Ces différents systèmes biologiques impactés dans les MICI contribuent à leur pathogenèse. Les MICI sont des maladies complexes, dont l'étiologie n'est pas encore entièrement caractérisée mais pour laquelle l'importance des facteurs environnementaux, génétiques et épigénétiques a été montrée (Figure 54) [81,200]. Ces facteurs environnementaux peuvent être d'ordre global, et donc être relatifs à une population donnée, comme la localisation géographique, la pollution et le mode de vie [17,81]. Ils peuvent aussi se situer à l'échelle individuelle et comprendre la prise de médicaments dont des antibiotiques et des contraceptifs qui augmentent le risque de développer une MICI, tout comme le régime alimentaire. L'enjeu que représente l'alimentation est à la fois direct et indirect, comme le suggère le concept de DOHaD ainsi que les travaux cités précédemment sur le régime anténatal donneurs de méthyles [205].

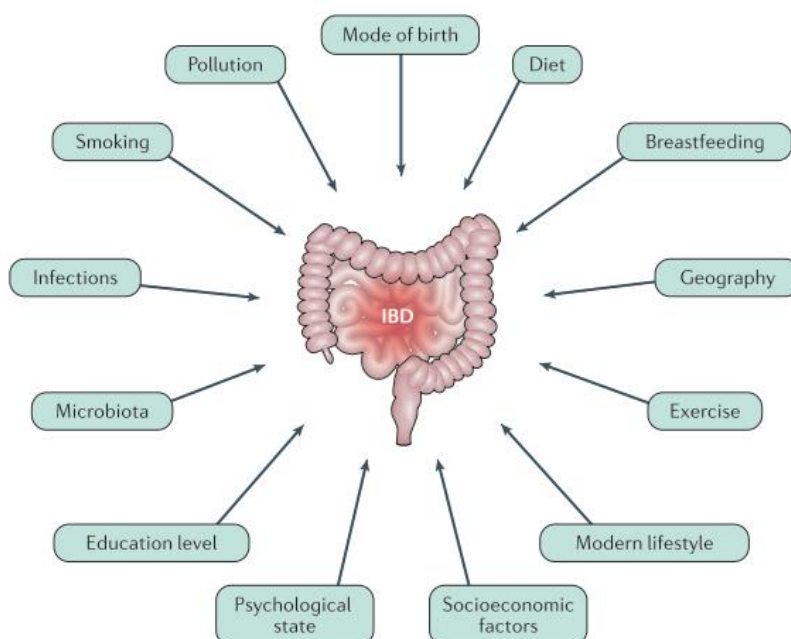


Figure 54. Facteurs environnementaux en lien avec les MICI [81]

Toutefois, l'étude des effets d'autres régimes alimentaires comme l'enrichissement en prébiotiques, en particulier en contexte anténatal, nécessite d'être approfondi dans les MICI. L'identification des mécanismes d'action mis en jeu se révèle importante, tout comme la distinction des effets selon la maladie chronique et la période de supplémentation considérée. Ainsi, mon projet de thèse s'inscrit dans ce contexte global et a pour but d'apporter des éléments de réponse quant aux effets potentiels de la prise anténatale de prébiotiques sur le développement d'une MICI chez la descendance.

3. Les hypothèses mécanistiques de l'empreinte et de la colite exacerbée

Nos travaux ont permis de mettre en évidence que, chez les descendants mâles murins traités ou non au DSS, plusieurs systèmes biologiques ont été impactés suite à un enrichissement anténatal en GOS/inuline. Dans notre protocole chez la souris mère, la composition des bactéries intestinales, des métabolites bactériens dont des AGCC, des anticorps et des prébiotiques retrouvés au sein de l'intestin et du lait sont modifiées par l'administration *in utero* de GOS/inuline [211]. Sachant que la composition du microbiote intestinal maternel est modifiée jusqu'au 10^{ème} jour de lactation par la supplémentation gestationnelle en GOS/inuline, nous pouvons supposer que la composition bactérienne du lait maternel pourrait être par la même modifiée [211]. Des bactéries intestinales pourraient en effet être acheminées aux glandes mammaires selon un trafic entéro-mammaire assuré par des leucocytes ayant pris en charge et transporté des bactéries par la circulation systémique [219]. Chez la descendance, la supplémentation anténatale en GOS/inuline induit une surabondance de 7 espèces bactériennes dans le côlon distal, dont des espèces des familles *Muribaculaceae* et *Lachnospiraceae* de manière similaire aux souris mères en fin de gestation [211]. Une modification du métabolisme des souris issues de mères supplémentées en prébiotiques est aussi observée en condition basale, à travers l'augmentation de la concentration de 28 lipides du côlon distal dont des lipides anti-inflammatoires comme le C18:3OH [220]. Par ailleurs, l'expression génique de 13 gènes dont des gènes comme *Svs3a* liés au développement de spermatides, est augmentée pour ces mêmes souris.

Les modifications de la composition et de l'activité du microbiote intestinal de la descendance pourraient être liées aux altérations de microbiote intestinal observées chez les souris mères supplémentées lors de la gestation en GOS/inuline [109,211]. La transmission directe *in utero* des bactéries du microbiote intestinal de la mère à l'enfant est toutefois au cœur d'une controverse opposant le concept de stérilité à celui de colonisation *in utero* [27,104]. Une hypothèse de colonisation *in utero* suggère par exemple le transfert transplacentaire de bactéries liées aux IgG maternels [221]. Les arguments penchent actuellement vers le concept de stérilité, avec comme principal raisonnement étant que la viabilité des bactéries détectées dans le placenta et le liquide amniotique n'est pas assurée, et que les micro-organismes détectés seraient issus de contaminations environnementales [27,104]. Dans notre protocole, une transmission directe des micro-organismes de la mère à l'enfant pourrait préférentiellement avoir eu lieu lors de la mise-bas et de la lactation, et ainsi permettre l'implantation de micro-organismes symbiotiques mais aussi favoriser l'implantation d'espèces pathogènes contribuant à l'induction d'une colite chronique chez la descendance. En effet, les effets des prébiotiques ne sont pas restreints à l'intestin. Leur action atteint également d'autres muqueuses comme la peau et les poumons, ce qui suggère que le microbiote vaginal pourrait être de manière similaire affecté par la consommation maternelle en prébiotiques [138]. Sachant que le microbiote vaginal est la source principale de micro-organismes pour la colonisation de l'enfant né par voie basse en plus de la colonisation assurée par le microbiote cutané et intestinal de la mère, une modification du microbiote vaginal pourrait être de ce fait reflétée dans la composition du microbiote de l'enfant [38,81,222]. Le microbiote intestinal maternel fournit par ailleurs au fœtus des AGCC, des antigènes bactériens et alimentaires par la circulation sanguine [38,109,140]. De même, ces composés sont rendus disponibles en période post-natale dans le lait maternel [211].

Le lait maternel est par ailleurs une autre source de bactéries, comprenant des bactéries probiotiques des genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, mais aussi leurs métabolites associés, des prébiotiques comme les oligosaccharides du lait humain (HMO), des anticorps IgA maternels et des facteurs antimicrobiens qui contribuent à la maturation du système immunitaire et à l'atténuation de l'inflammation intestinale [202,222,223]. Les oligosaccharides du lait humain ont des propriétés prébiotiques qui vont favoriser la croissance de souches *Bifidobacterium* et des propriétés anti-infectieuses [223]. L'importance de la lactation est de ce fait soulignée dans l'induction de maladies chez l'animal, où une alimentation riche en graisses donnée aux mères lors de la lactation induit de l'hypertension et une susceptibilité plus forte à développer une obésité chez la descendance [219]. En revanche, une supplémentation maternelle en prébiotiques GOS/inuline lors de la gestation et la lactation protège la descendance murine du développement d'une allergie alimentaire, soulignant ainsi un effet protecteur de l'allaitement dans l'induction de maladies [210]. La période de lactation s'avère être un élément important dans le développement de l'enfant. La modulation maternelle par GOS/inuline a été effectuée dans notre protocole uniquement lors de la gestation, ce qui diminue à la fois la probabilité d'impacter fortement le lait maternel par les prébiotiques, et le temps d'exposition aux prébiotiques de la souris mère et de sa descendance.

Ainsi l'empreinte à long terme des prébiotiques est moins forte lorsque la supplémentation a lieu uniquement lors de la gestation. Les composés du lait maternel contribuent en effet à la maturation du système immunitaire de l'enfant, à la fois dans l'établissement de la tolérance alimentaire et dans la défense envers les micro-organismes pathogènes. Les AGCC influencent en ce sens, par voie de signalisation épigénétique directe ou indirecte activant les enzymes HDAC et HAT, l'expression des gènes de l'hôte [138]. De ce fait, l'expression des gènes de la descendance pourrait

avoir été modifiée sur le long terme dans notre protocole par acétylation (donc activation de la transcription) et désacétylation de manière similaire à l'étude de Kimura *et al.* de 2020 qui montre une modulation du métabolisme de la descendance par action épigénétique du propionate [138,140]. Dans notre étude, cette potentielle modification de l'expression génique pourrait être à l'origine du changement à long terme du métabolisme des souris issues de mères supplémentées en GOS/inuline. Outre le lait maternel, la reprogrammation des systèmes biologiques des souris mères peut également avoir une répercussion sur la maturation des systèmes de la descendance [224]. En effet, la prise anténatale de prébiotiques pourrait influencer l'environnement immunitaire du fœtus et modifier la maturation de son système immunitaire [109,211]. Cette influence pourrait entre autres être exercée par la production de médiateurs lipidiques pro-inflammatoires ou la transmission maternelle d'IgG par voie placentaire et par le lait maternel [126,211,221]. En dehors des IgG non-inflammatoires (IgA, IgG2a par exemple), une empreinte du microbiote pourrait contribuer au profil immunitaire *via* le transfert maternel de bactéries ou composés dérivés de bactéries liés à des IgG dans le lait maternel [221,224]. Ainsi une reprogrammation pérenne du système immunitaire de la descendance pourrait avoir eu lieu lors de notre protocole.

Notre projet d'étude n'adresse pas la question des mécanismes de la transmission mère-enfant. Il permet toutefois de constater en condition basal une différence significative de microbiote chez les descendants issus de mères supplémentées dont certaines familles bactériennes similaires aux mères en fin de gestation, des changements pérennes de métabolisme lipidique et d'expression génique [211]. Nos résultats soulignent essentiellement une différence de susceptibilité au stimulus DSS. Chez la descendance sous DSS, la supplémentation anténatale en GOS/inuline induit une surabondance de 8 espèces bactériennes dans le côlon distal, dont des espèces des familles *Lactobacillaceae* et *Lachnospiraceae* de manière similaire aux souris mères en fin de gestation [211]. Une diminution de la concentration caecale de butyrate chez la descendance traitée au DSS est également observée. Des changements métaboliques en condition DSS, à travers l'augmentation de la concentration de 3 lipides du côlon distal, sont de même observés pour ces souris. De plus, nos résultats suggèrent que les gènes potentiellement modulés sous traitement DSS en présence de GOS/inuline maternels sont également associés aux systèmes biologiques intestinaux comme le système immunitaire intestinal, le SNE et la BEI.

La reprogrammation épigénétique des systèmes intestinaux de la descendance liée à la prise anténatale de prébiotiques pourrait contribuer au développement d'une colite chronique, par exacerbation de l'inflammation en lien avec une dysfonction de la BEI et du SNE. Une modification de la BEI et des fonctions du SNE en faveur d'une contraction de l'intestin pourrait expliquer le raccourcissement du côlon observé chez nos souris du groupe P par rapport au groupe contrôle en condition basale. Une reprogrammation pérenne du système immunitaire de la descendance pourrait avoir eu lieu lors de notre protocole, s'accompagnant d'une augmentation des populations immunes notamment pro-inflammatoires dont des lymphocytes Th1, Th2 et Th17 effecteurs et mémoires entraînant sous DSS une exacerbation de l'inflammation. Par ailleurs, la reprogrammation épigénétique pourrait avoir engendré une altération du métabolisme lipidique sous DSS à l'origine de la diminution de lipides anti-inflammatoires comme C18-3OH. L'ensemble de ces hypothèses mécanistiques soutient l'effet délétère généré par la présence anténatale de GOS/inuline sur l'induction d'une colite chronique chez la descendance. Néanmoins nous n'avons actuellement pas assez d'éléments pour vérifier ces hypothèses. Malgré ces potentielles modulations, la nature anti-inflammatoire des bactéries retrouvées surabondantes dans le groupe P+DSS suggère que la modification de susceptibilité à la colite n'est pas en lien direct avec la modification de composition

bactérienne du microbiote intestinal. Les résultats lipidomiques sont à ce jour les résultats les plus robustes pour appuyer nos hypothèses.

Ce travail d'investigation s'avère complexe de par la nature indirecte des résultats obtenus. En effet, la cible de la modulation est la mère mais l'objet de notre étude, et par extension les paramètres de sortie, portent sur sa descendance. Ainsi, les données générées dans notre projet n'apportent pas d'informations directes sur les liens de causalité/l'origine des effets prébiotiques donnés en anténatal mais permettent l'établissement d'hypothèses mécanistiques à vérifier. Nos travaux observationnels apportent un premier éclairage sur les effets macroscopiques de prébiotiques donnés lors de la gestation sur l'induction d'une colite chronique murine et méritent d'être approfondis par des protocoles expérimentaux complémentaires qui seront décrits par la suite dans les perspectives.

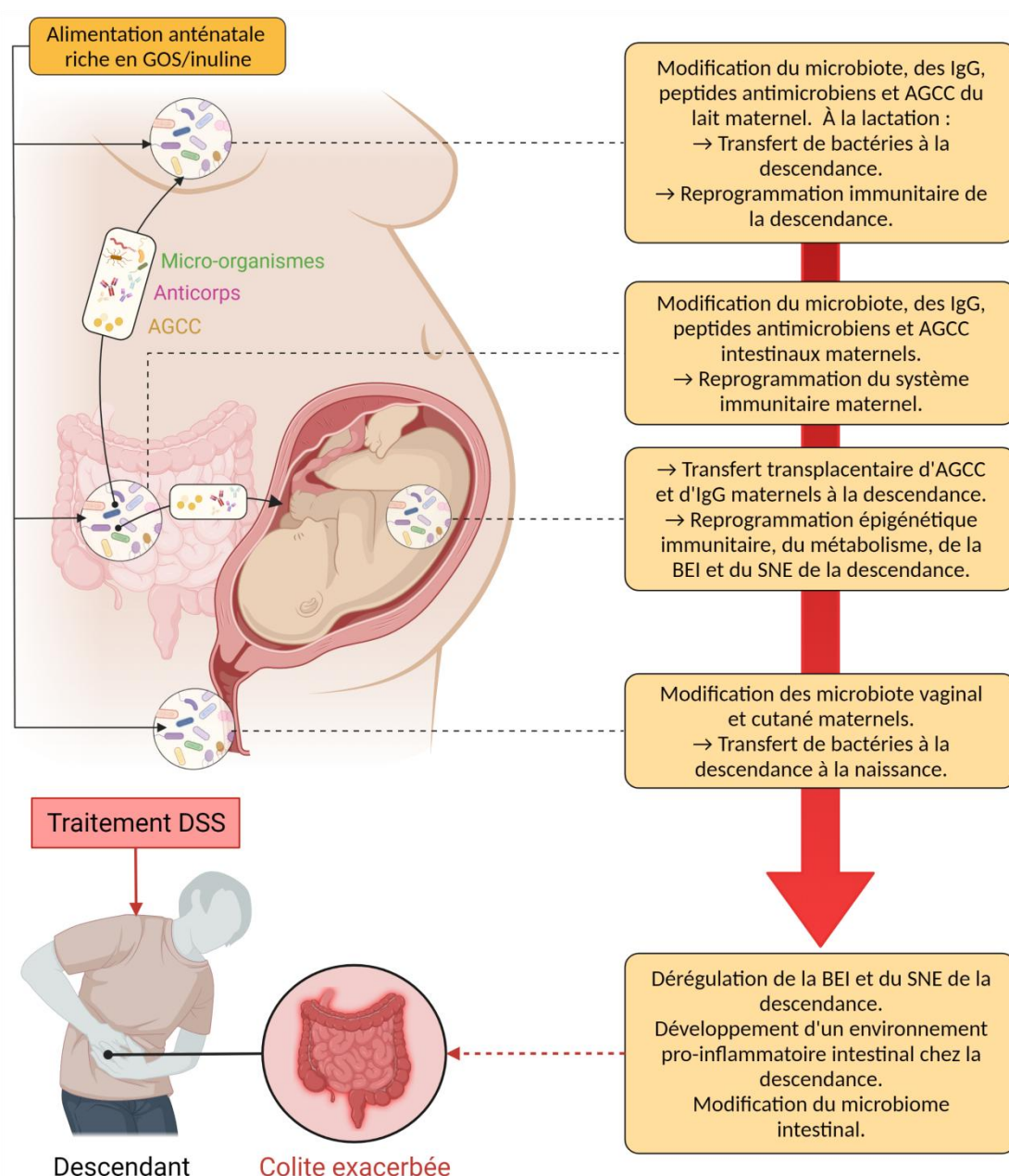


Figure 55. Bilan schématisé chez l'Humain des hypothèses mécanistiques sous-jacentes à la susceptibilité accrue à la colite chronique chez la descendance issue de souris mères supplémentées en GOS/inuline. (Créé avec BioRender.com)

4. Aux limites de l'étude

A. Choix de la modulation du microbiote

Le design du protocole expérimental est une étape clé de l'étude. Le choix de la méthode d'induction de colite et des prébiotiques à administrer représentent en ce sens deux paramètres centraux dans notre protocole. L'inuline et les galacto-oligosaccharides sont des prébiotiques dont la littérature est abondante et dont l'utilisation au ratio 10 et 90% respectivement dans les formulations infantiles est courante depuis plus de 5 ans en Europe [209]. La prise de GOS/inuline chez le jeune enfant a un effet bifidogène, renforce son immunité contre le développement d'une dermatite atopique ou de diarrhées, et améliore ses fonctions digestives [209]. De plus, leur administration

anténatale chez la souris a été démontrée comme protectrice contre le développement d'une allergie alimentaire chez la descendance [211]. Les effets bénéfiques des GOS/inuline à la période périnatale font donc des GOS/inuline un candidat idéal pour notre étude sur les MICI. L'utilisation préventive des prébiotiques pose en soi encore question par la présence d'effets secondaires et la rareté des études disponibles dans la littérature. Les prébiotiques augmentent la production d'AGCC comme le butyrate et l'acétate, qui à haute dose ont des effets délétères pour la muqueuse intestinale chez les jeunes rats [225]. Certains patients MICI faisant partie d'essais cliniques sur des prébiotiques donnés en prévention secondaire ont abandonné les essais à cause d'une aggravation des symptômes dont des douleurs abdominales et des flatulences (cf. revue de l'introduction). Notre revue incluse dans la partie introduction fait l'état des lieux des recherches concernant la modulation du microbiote dans la prise en charge des MICI. Plusieurs stratégies sont possibles, allant de la supplémentation directe d'acide gras n-3, de bactéries probiotiques combinées ou non à des prébiotiques, de postbiotiques à la transplantation de microbiote fécal. D'autres nouvelles stratégies non détaillées dans notre revue étudient entre autres la potentielle utilisation de bactériophages ciblant des bactéries spécifiques [226]. Malgré des résultats prometteurs, le nombre d'études homogènes disponibles, en particulier concernant l'administration préventive, est faible. De ce fait, la rareté des données ne permet pas de conclure sur les effets préventifs des modulateurs du microbiote et souligne la nécessité de les inclure dans de futures études. L'intérêt subsiste cependant à utiliser des modulateurs du microbiote en complément de traitements traditionnels.

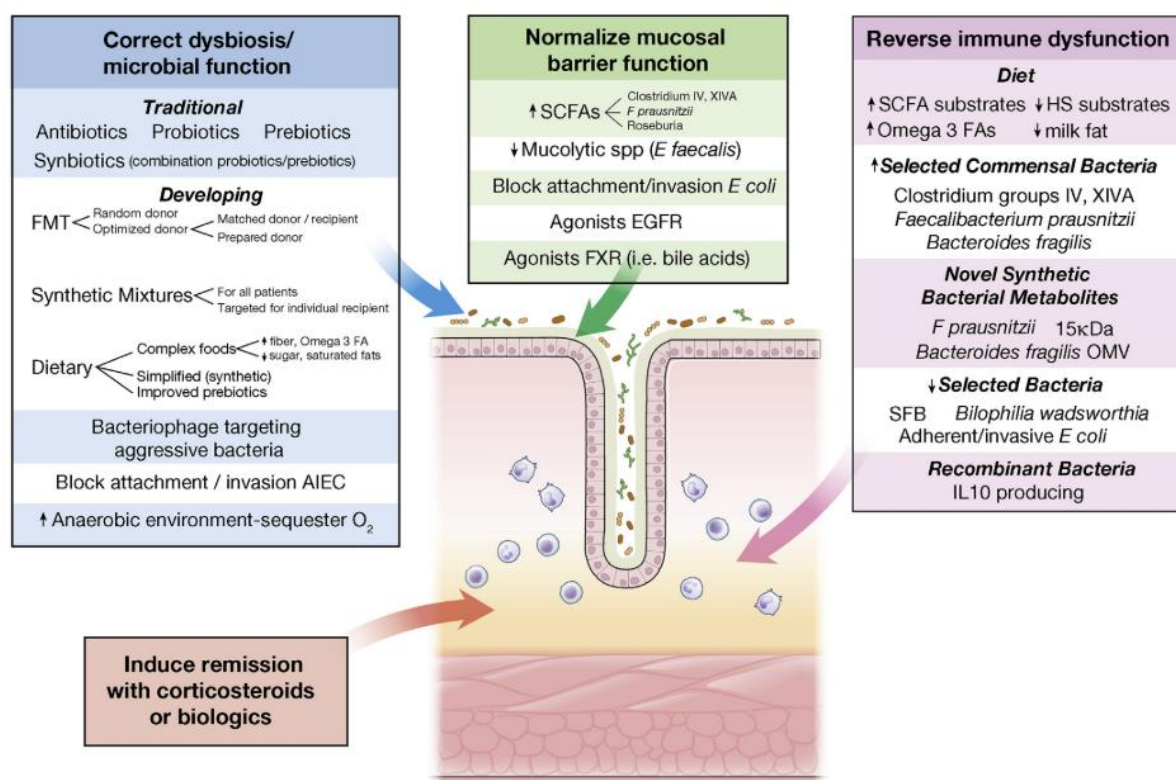


Figure 56. Traitement des MICI ciblant le microbiote intestinal [226]

B. Choix du modèle animal de MICI

Le modèle DSS est l'un des modèles d'induction chimique de colite les plus utilisés avec l'acide 2,4,6-trinitrobenzènesulfonique (TNBS). D'autres modèles de colite sont disponibles : des modèles génétiques (IL10^{-/-}, MUC2^{-/-}, TLR5^{-/-}, T-bet^{-/-}RAG^{-/-} etc.), par bio-intervention (ie. administration

d'anticorps monoclonaux α IL10R ou de lymphocytes T CD4⁺CD45RBhi) ou par modulation du microbiote (infection au *Citrobacter rodentium*, conditions SPF) [1,6,44,79,106,156]. Chacun de ces modèles possède ses caractéristiques propres, comme une cinétique d'induction de la colite et une réponse immunitaire engendrée spécifiques. Par exemple, le DSS et le TNBS sont deux colitogènes chimiques mais dont le mécanisme immunitaire diffère. La colite induite par DSS s'appuie en majorité sur des mécanismes immunitaires innés en endommageant directement les CEI, tandis que la colite au TNBS repose sur l'action des lymphocytes T et la prise en charge de protéines sous forme d'haptènes [227,228]. Le modèle de souris KO pour l'IL-10 est quant à lui un modèle connu de MC où les souris développent une colite spontanée modérée et reproductible, dont le profil immunitaire est majoritairement Th1 [229,230]. Une modulation du microbiote par infection au *C. rodentium*, un pathogène entérique murin, permet par ailleurs d'induire une colite dominée par une réponse immunitaire Th1/Th17 [231]. De même, la souche de souris et le sexe de l'animal sont deux paramètres dont dépendent la sévérité de la colite induite [212]. Notre protocole a été testé uniquement sur des souris BALB/cJrj mâles. La souche BALB/c est préconisée pour l'induction d'une colite car la littérature est abondante à son sujet [212]. Concernant le sexe des animaux, une étude a démontré que le changement de microbiote inhérent au développement d'une MICI diffère selon le sexe des souris [232]. Des disparités en termes de symptômes cliniques ont été identifiées chez les patients MICI, avec notamment une fréquence plus importante de symptômes extra-digestifs chez les femmes [16]. L'effet sexe pourrait apporter un élément de réponse à la différence basale de modulation des AGCC observés chez les souris issus de mères supplémentées en GOS/inuline : les souris femelles présentent une augmentation des concentrations coliques de butyrate et propionate tandis que nos souris mâles ne présentent pas de changements des concentrations caecales d'AGCC [211].

Le DSS est un polysaccharide sulfaté hydrosoluble négativement chargé et toxique pour l'épithélium colique en engendrant son érosion [212]. La colite chronique murine induite par le DSS se caractérise par tout d'abord une rupture de la BEI et une diminution de la couche de mucus [96]. Elle s'accompagne d'une augmentation de médiateurs pro-inflammatoires dont TNF- α résultant à un profil immunitaire Th2 [96]. Des altérations de la composition bactérienne intestinale et du métabolisme des phospholipides sont observées sous DSS [96]. Ces aspects retrouvés sous traitement DSS reflètent des symptômes rencontrés par les patients MICI, en particulier atteints d'une RCH [96]. Toutefois, contrairement à la pathologie humaine, l'induction de colite par DSS peut être indépendante de l'action des lymphocytes T et B [212]. L'induction par DSS est l'un des modèles de colite les plus utilisés, de par sa simplicité d'application, sa reproductibilité et son caractère inductible permettant par exemple leur utilisation chez des animaux génétiquement modifiés [212]. En plus de ces atouts, nous avons choisi ce modèle de colite car la sévérité de la maladie est modulable selon la dose et la fréquence d'administration du DSS. En effet, un ajustement de la sévérité de la maladie à un niveau intermédiaire était nécessaire pour pouvoir mettre en évidence des améliorations ou des aggravations de la pathologie. Mais comme tout modèle, l'induction de colite par DSS s'accompagne toutefois de limitations à prendre en compte. Une grande hétérogénéité de protocoles d'induction de colite chronique par DSS est disponible dans la littérature, certains protocoles préconisant 4 cycles de DSS de 7 jours suivis d'une période de repos de 7 à 10 jours [212]. Le protocole cité induit vraisemblablement un remodelage tissulaire plus important que celui généré dans notre protocole. Par ailleurs, la colite générée par DSS dépend fortement du fabricant, du lot de fabrication, de la durée et de la concentration d'administration. De plus, il est nécessaire d'être vigilant dans l'administration du DSS. Il est préconisé de préparer extemporanément la solution de DSS et de la

renouveler tous les 2 jours, ce qui souligne une instabilité temporelle de la solution (dans notre protocole, le renouvellement était journalier) [212]. Ainsi, les résultats obtenus dans le cadre de notre étude sont à replacer dans un contexte expérimental spécifique. Malgré des disparités entre les séries expérimentales, l'ensemble des résultats obtenus permettent d'observer statistiquement les effets d'une colite induite par DSS, ce qui témoigne d'une robustesse de notre protocole.

C. Système biologiques impactés dans les MICI

Nos résultats confirment une induction de colite chronique chez les animaux, avec une perte de poids caractéristique de la colite et une augmentation du marqueur global d'inflammation Lcn-2. Un changement de composition du microbiote au niveau du côlon distal des souris est également avéré avec une diminution de souches *Roseburia* retrouvée également chez les patients MICI, qui s'accompagne d'une modulation de la concentration en AGCC caecaux [73]. De manière surprenante, contrairement aux patients MICI qui présentent une diminution de la concentration intestinale de propionate, notre protocole montre une augmentation de celle-ci [111]. De même, le DSS seul ne permet pas d'observer une variation de la concentration de médiateurs lipidiques dans le côlon distal. Le traitement DSS a induit toutefois une modulation de l'expression de gènes privilégiant une réponse immunitaire pro-inflammatoire en favorisant les voies de signalisation TNF et IL-17.

En revanche, le DSS couplée à la supplémentation anténatale en prébiotiques induit une diminution de la concentration caecale de butyrate, cette diminution étant également retrouvée dans l'intestin des patients MICI [73]. L'enrichissement anténatal en GOS/inuline permet également d'observer sous traitement DSS une modulation du métabolisme intestinal, avec des changements de concentrations lipidiques dont l'augmentation de protectine DX (PDX) qui inhibe la cyclooxygénase (COX) [233]. L'inhibition de COX peut être délétère pour les patients MICI, ce qui interroge sur les effets potentiels de PDX [234]. Enfin, de potentiels gènes relatifs à la prise anténatale de prébiotiques sous DSS sont reliés à la BEI, au système immunitaire, et au SNE, exerçant potentiellement un effet délétère.

Outre de potentiels gènes en lien avec le SNE, nos données ne nous permettent pas la caractérisation du SNE. Son importance est avérée dans les MICI, de ce fait des analyses complémentaires sont nécessaires à entreprendre. Le profil de la réponse immunitaire de la colite induite nécessite également d'être caractérisé. Dans notre modèle, la fréquence des lymphocytes T et B n'est pas affectée de manière basale par la prise anténatale en GOS/inuline. Il serait en conséquence intéressant d'étudier non pas la quantité, mais l'identité (sous-types) des cellules immunes présentes au sein de l'intestin des souris, à la fois d'un point de vue basal mais surtout en contexte de colite chronique. La détermination du jour d'arrêt du protocole joue en ce sens un rôle décisif. En effet, notre projet a défini une fin de protocole à J18, ce qui correspond à 2 jours après la fin du troisième cycle DSS. Même si la dynamique de réponse immunitaire n'est pas connue, nous pouvons supposer que l'effet aigu d'inflammation induit par le DSS a laissé place à J18 à des processus résolutifs. Cette temporalité complexifie l'interprétation des résultats de notre projet et souligne la nécessité de mener des analyses longitudinales caractérisant notre modèle.

5. Les perspectives

Notre projet de recherche est ambitieux et plusieurs axes d'étude en son sein nécessitent d'être approfondis par la conduite de nouveaux protocoles expérimentaux et séries expérimentales afin de compléter nos observations par la détermination des mécanismes sous-jacents la susceptibilité

accrue à la colite et la transmission de cet effet. Notre étude amène également de nouvelles pistes d'investigation à exploiter, toujours dans le but d'étendre les connaissances et les potentielles applications concernant la modulation anténatale du microbiote dans la prise en charge et la prévention des MICI.

De manière à vérifier et à renforcer notre hypothèse d'un effet délétère d'une supplémentation maternelle en GOS/inuline sur le développement d'une colite chronique, il serait pertinent de réitérer le protocole sur la descendance femelle, afin de voir si un effet du sexe de l'animal est observé. Le protocole lui-même d'induction de colite chronique pourrait être changé pour un modèle génétique déficient en IL-10 qui modélise la MC sachant que le modèle DSS est décrit comme modèle de RCH [227,235]. Ce modèle de MICI nous permettrait d'aborder plus en détails l'aspect immunitaire des MICI. À ce sujet, la caractérisation du profil immunitaire dans notre protocole expérimental pourrait être effectuée par cytométrie en flux (FACS) des cellules immunes isolées extemporanément des ganglions mésentériques, des différents segments intestinaux au niveau de la lamina propria et les lymphocytes intra-épithéliaux (IEL) (jéjunum, iléon, côlon proximal et distal). Une description des populations immunes innées pourrait être menée. Plusieurs combinaisons de marqueurs permettent par exemple de distinguer les sous-types de macrophages : les macrophages M1 sont entre autres $CD38^{+}Egr2^{-}$ tandis que les M2 sont $CD38^{+}Egr2^{+}$ [236]. D'autres cellules immunes innées pourraient être décrites, comme les cellules dendritiques, les ILC et les NK. De même, une caractérisation de l'immunité adaptative pourrait être menée. Une étude chez l'Humain utilise un large panel de marqueurs pour distinguer les sous-types mémoires ou effecteurs des lymphocytes T [237]. Dans notre protocole, les différents sous-types de lymphocytes murins peuvent être différenciés par FACS via des marqueurs comme $CD3^{+}CD4^{+}CD25^{+}Foxp3^{+}$ et $CD3^{+}CD8^{+}Foxp3^{+}$ pour les Treg, $CD3^{+}CD4^{+}IFN-\gamma^{+}$ pour les Th1, $CD3^{+}CD4^{+}IL-4^{+}$ pour les Th2 et $CD4^{+}ROR-\gamma^{+}$ pour les Th17 [211,238,239]. Pour les lymphocytes B, plusieurs combinaisons de marqueurs permettent leur identification globale ($B220^{+}CD3^{-}$) ou spécifique comme pour les Breg ($CD19^{+}CD5^{+}CD1d^{hi}$, $CD9^{+}$ et $CD25^{+}$) par exemple [211,238,240]. Grâce à cette caractérisation, des éléments de réponse seraient apportés concernant l'orientation de la réponse immunitaire donnée par l'enrichissement anténatal en prébiotiques.

Toujours dans le but d'approfondir notre caractérisation des mécanismes de susceptibilité accrue à la colite induite par la prise anténatale de prébiotiques GOS/inuline, le profil épigénétique des segments intestinaux, voire spécifiquement de leurs CEI, pourrait être établi notamment par l'utilisation de panel de détection de méthylation d'ADN pangénomique comme le Infinium Mouse Methylation BeadChip (Illumina) ou par l'analyse transcriptomique puis PCR de l'expression colique des enzymes HDAC et HAT [241]. Nous pourrions également analyser par PCR les gènes candidats identifiés dans l'analyse transcriptomique, afin de confirmer ou non leur contribution aux effets d'un enrichissement anténatal en prébiotiques sur le développement d'une colite chronique. Ces gènes sont impliqués dans les systèmes biologiques d'intérêt des MICI que sont le système immunitaire, le SNE et la BEI, ce qui contribuerait à caractériser ces systèmes et confirmer si par exemple la voie de signalisation TNF- α est impliquée dans les effets des prébiotiques maternels.

En plus de l'intestin, il serait intéressant de pouvoir examiner le concept plus général d'atteinte des barrières dans les MICI, c'est-à-dire de ne pas se limiter à l'épithélium digestif. En effet, les atteintes extra-digestives sont courantes dans les MICI et regroupent par exemple des atteintes de la barrière cutanée et de la barrière hémato-encéphalique [242–244]. Il a été entre autres démontré dans la littérature une augmentation transitoire de la perméabilité du cerveau suite à une induction de colite chez le rat [242]. Afin de déterminer les potentielles atteintes extra-digestives engendrées

par supplémentation maternelle en prébiotiques chez la descendance traitée au DSS, nous avons débuté avec l'aide d'un collaborateur, mais non achevé, une analyse de la peau des oreilles de souris par IHC avec les mêmes marqueurs de cellules de l'immunité innée et adaptative (macrophages et lymphocytes T) utilisés pour l'identification intestinale. Concernant le cerveau, une étude de son profil transcriptomique pourrait être exécutée pour différentes régions comme l'hypothalamus, l'hippocampe, l'amygdale et le cortex préfrontal, ce qui permettrait de déterminer de potentiels changements d'expression de gènes reliés au comportement social comme *Arc*, *Btg2* ou *H2-k1*, ou de l'hyper-anxiété avec *Fosb* par exemple [85].

En complément de cette caractérisation plus exhaustive des effets d'une supplémentation anténatale en prébiotiques sur le développement d'une colite, une investigation de l'origine de ces effets pourrait être menée avec comme piste principale l'empreinte maternelle sur la descendance. En ce sens, nous disposons des selles des souris mères collectées au moment du sevrage. Il serait intéressant de les analyser avec la même méthode et plateforme de séquençage que ceux utilisés pour l'analyse des descendants. Ainsi nous pourrions comparer nos résultats à ceux obtenus dans l'étude de Selle *et al.*, où pour rappel la prise de GOS/inuline anténatale a induit une modulation du microbiote intestinal maternel jusqu'au 10^{ème} jour de lactation [211]. Il est à noter que la méthode de séquençage 16S utilisée ne permet pas une caractérisation complète des souches bactériennes. L'utilisation d'un séquençage shotgun se révèle plus informatif avec la possibilité de caractériser la fonctionnalité du microbiote intestinal, et serait donc plus intéressant à appliquer sur nos données actuelles en plus de futures études [84]. De plus, l'usage de nouveaux outils bio-informatiques est intéressant à considérer pour envisager notre étude d'un point de vue intégratif systémique, par l'association des différentes couches de données omiques générées (lipidome, transcriptome, microbiome) [245]. Cette association permettrait de générer de nouvelles hypothèses quant à la régulation des prébiotiques anténatales sur le développement d'une colite, et d'appuyer des pistes de réflexions déjà abordées à l'échelle individuelle de chaque couche omique.

De fait, de nouveaux protocoles expérimentaux permettraient de mener l'étude de manière longitudinale, et donc de rendre compte de la dynamique de l'influence des prébiotiques sur la maturation des systèmes biologiques de la progéniture et de son microbiote. Des prélèvements de tous les segments intestinaux et de sérum pourraient être effectués à différents temps : chez le 1/ fœtus, 2/ le nouveau-né, 3/ la souris au sevrage (3 semaines), 4/ début de l'étude à 8-10 semaines de vie, 5/ pendant l'étude. De manière similaire, des prélèvements chez les souris mères pourraient être effectués lors de la gestation, la lactation et le sevrage. Il serait pertinent de prélever pour chacun des échantillons, à la fois le microbiote luminal et adhérent. L'équipe Inserm TENS possède en interne un protocole d'isolation des CEI qui pourraient servir de base pour l'étude du microbiote adhérent. Ces prélèvements aux différents temps chez les descendants et les souris mères permettraient tout d'abord d'identifier une potentielle régionalité de la modulation du microbiote par des prébiotiques donnés en anténatal selon deux axes, rostro-caudal et du plus externe au plus proche du lumen. Ils permettraient aussi d'effectuer la caractérisation des profils lipidique, transcriptomique, immunitaire de l'intégralité de l'intestin, en se basant sur la majorité des techniques décrites dans notre étude (plateforme MetaToul, analyse 3' SRP, FACS, séquençage shotgun). Un suivi temporel de l'inflammation et de ce fait du développement d'une colite pourrait être mené, par dosage de Lcn-2 ou des cytokines pro-inflammatoires par ELISA multiplex du sérum [246]. Une étude par Hamabata *et al.* en 2018 souligne l'intérêt du suivi longitudinal, en démontrant un changement de profil lipidique selon l'évolution de la colite (inflammation aiguë ou phase de rémission) [247].

Enfin, un autre axe d'étude serait de tester la supplémentation anténatale en GOS/inuline lors de la gestation et la lactation, ce qui permettrait de connaître l'impact de la lactation dans la mise en place des effets des GOS/inuline dans l'induction d'une colite chronique chez la descendance.

La modulation du microbiote intestinal dans les MICI est une piste explorée de manière exhaustive dans les traitements, par le biais de régimes alimentaires spécifiques. L'originalité de nos travaux réside en l'aspect préventif de la modulation, qui a lieu lors de la gestation, et de son aspect indirect du fait d'une modulation à la mère et d'une MICI étudiée chez sa descendance. Notre étude s'est intéressée plus particulièrement à l'utilisation de prébiotiques GOS/inuline comme stratégie de modulation du microbiome, et pour lesquels des effets sur le long terme sur tous les systèmes biologiques de la descendance murine ont été identifiés. Toutefois, la question se pose de savoir si cette pérennité des effets chez la souris peut être retranscrite chez l'Humain, où une résilience du microbiote est avérée. De plus, les mécanismes d'action (liens de causalité) des effets engendrés sont difficiles à définir de par la nature indirecte de la modulation. L'amplitude des modifications induites par les prébiotiques est beaucoup plus réduite que celle observée avec le DSS, et amène à repenser le type de modulation du microbiote à utiliser. À ce jour, la combinaison des prébiotiques à des probiotiques est un moyen pour potentialiser les effets et constitue une alternative intéressante à la prise seule de prébiotiques. D'autres modulations sont en cours d'étude mais les recherches (et donc données) ne sont qu'à leurs prémices.

Conclusion

Pour conclure, mon projet de thèse a mis en évidence de manière surprenante un effet délétère à long terme de l'enrichissement maternel en GOS/inuline lors de la gestation sur le développement d'une colite chronique chez la descendance. Cette sensibilité accrue à la colite chronique s'accompagne de changements au niveau des systèmes biologiques de la descendance, que ce soit au niveau de l'hôte ou du microbiote intestinal. Ces résultats méritent toutefois d'être approfondis afin de décrire avec précision les mécanismes sous-jacents. L'importance de la fenêtre temporelle d'enrichissement en prébiotiques est soulignée, tout comme la nécessité de nuancer les propriétés des prébiotiques selon la maladie chronique considérée. Nos travaux amènent donc de nouvelles pistes de réflexion dont l'aspect développemental de la pathogenèse des MICI, ainsi que de nouvelles informations concernant les conséquences possibles d'une intervention nutritionnelle préventive dans le cadre de maladies chroniques.

Références

- 1 Zhu J, Xu Y, Zhao J, *et al.* IL-33 Protects Mice against DSS-Induced Chronic Colitis by Increasing Both Regulatory B Cell and Regulatory T Cell Responses as Well as Decreasing Th17 Cell Response. *J Immunol Res* 2018;2018:1–12.
- 2 Malik TA. Inflammatory Bowel Disease. Historical Perspective, Epidemiology, and Risk Factors. *Surg Clin North Am* 2015;95:1105–22.
- 3 Hindryckx P, Baert F, Hart A, *et al.* Clinical trials in ulcerative colitis: A Historical Perspective. *J Crohn's Colitis* 2015;9:580–8.
- 4 Gajendran M, Loganathan P, Catinella AP, *et al.* A comprehensive review and update on Crohn's disease. *Disease-a-Month* 2018;64:20–57.
- 5 Darb Emamie A, Rajabpour M, Ghanavati R, *et al.* The effects of probiotics, prebiotics and synbiotics on the reduction of IBD complications, a periodic review during 2009–2020. *J Appl Microbiol* 2020;:1–16.
- 6 Flynn S, Eisenstein S. Inflammatory Bowel Disease Presentation and Diagnosis. *Surg Clin North Am* 2019;99:1051–62.
- 7 Tyler CJ, Guzman M, Lundborg LR, *et al.* Inherent Immune Cell Variation within Colonic Segments Presents Challenges for Clinical Trial Design. *J Crohn's Colitis* 2020;14:1364–77.
- 8 Gajendran M, Loganathan P, Jimenez G, *et al.* A comprehensive review and update on ulcerative colitis,. *Disease-a-Month* 2019;65:100851.
- 9 Neurath MF. Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2014;14:329–42.
- 10 Seyedian SS, Nokhostin F, Malamir MD. A review of the diagnosis, prevention, and treatment methods of inflammatory bowel disease. *J Med Life* 2019;12:113–22.
- 11 Greuter T, Vavricka SR. Extraintestinal manifestations in inflammatory bowel disease—epidemiology, genetics, and pathogenesis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2019;13:307–17.
- 12 Garber A, Regueiro M. Extraintestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: Epidemiology, Etiopathogenesis, and Management. *Curr Gastroenterol Rep* 2019;21:31.
- 13 Neurath MF. Targeting immune cell circuits and trafficking in inflammatory bowel disease. *Nat Immunol* 2019;20:970–9.
- 14 Casellas F, Borrueal N, Torrejón A, *et al.* Oral oligofructose-enriched inulin supplementation in acute ulcerative colitis is well tolerated and associated with lowered faecal calprotectin. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;25:1061–7.
- 15 Pabla BS, Schwartz DA. Assessing Severity of Disease in Patients with Ulcerative Colitis. *Gastroenterol Clin North Am* 2020;49:671–88.
- 16 Burisch J, Jess T, Martinato M, *et al.* The burden of inflammatory bowel disease in Europe. *J Crohn's Colitis* 2013;7:322–37.
- 17 Kaplan GG. The global burden of IBD: From 2015 to 2025. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2015;12:720–7.
- 18 Kappelman MD, Rifas-Shiman SL, Kleinman K, *et al.* The Prevalence and Geographic Distribution of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis in the United States. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:1424–9.
- 19 Greuter T, Manser C, Pittet V, *et al.* Gender Differences in Inflammatory Bowel Disease. *Digestion* 2020;101:98–104.

- 20 Volpato E, Bosio C, Previtali E, *et al.* The evolution of IBD perceived engagement and care needs across the life-cycle: a scoping review. *BMC Gastroenterol* 2021;21:1–17.
- 21 Byron C, Cornally N, Burton A, *et al.* Challenges of living with and managing inflammatory bowel disease: A meta-synthesis of patients' experiences. *J Clin Nurs* 2020;29:305–19.
- 22 Weaver E, Szigethy E. Managing Pain and Psychosocial Care in IBD: a Primer for the Practicing Gastroenterologist. *Curr Gastroenterol Rep* 2020;22.
- 23 Park KT, Ehrlich OG, Allen JI, *et al.* The Cost of Inflammatory Bowel Disease: An Initiative from the Crohn's & Colitis Foundation. *Inflamm Bowel Dis* 2020;26:1–10.
- 24 Windsor JW, Kaplan GG. Evolving Epidemiology of IBD. *Curr Gastroenterol Rep* 2019;21.
- 25 Van Der Valk ME, Mangen MJJ, Leenders M, *et al.* Healthcare costs of inflammatory bowel disease have shifted from hospitalisation and surgery towards anti-TNF α therapy: Results from the COIN study. *Gut* 2014;63:72–9.
- 26 Greenwood-Van Meerveld B, Johnson AC, Grundy D. Gastrointestinal Physiology and Function. In: *Handbook of Experimental Pharmacology*. 2017. 1–16.
- 27 Adak A, Khan MR. An insight into gut microbiota and its functionalities. *Cell Mol Life Sci* 2019;76:473–93.
- 28 Geerlings SY, Kostopoulos I, de Vos WM, *et al.* Akkermansia muciniphila in the human gastrointestinal tract: When, where, and how? *Microorganisms* 2018;6:1–26.
- 29 Sabra R, Billa N. Gastrointestinal Delivery of APIs from Chitosan Nanoparticles. In: *Chitin and Chitosan - Physicochemical Properties and Industrial Applications [Working Title]*. IntechOpen 2020.
- 30 Jacobson A, Yang D, Vella M, *et al.* The intestinal neuro-immune axis: crosstalk between neurons, immune cells, and microbes. *Mucosal Immunol* 2021;14:555–65.
- 31 Gentile ME, King IL. Blood and guts: The intestinal vasculature during health and helminth infection. *PLOS Pathog* 2018;14:e1007045.
- 32 Bernier-Latmani J, Petrova T V. Intestinal lymphatic vasculature: structure, mechanisms and functions. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;14:510–26.
- 33 Kulkarni S, Ganz J, Bayrer J, *et al.* Advances in Enteric Neurobiology: The “Brain” in the Gut in Health and Disease. *J Neurosci* 2018;38:9346 LP – 9354.
- 34 Chelakkot C, Ghim J, Ryu SH. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. *Exp Mol Med* 2018;50.
- 35 Allaire JM, Crowley SM, Law HT, *et al.* The Intestinal Epithelium: Central Coordinator of Mucosal Immunity. *Trends Immunol* 2018;39:677–96.
- 36 Poggi A, Benelli R, Venè R, *et al.* Human gut-associated natural killer cells in health and disease. *Front Immunol* 2019;10:1–18.
- 37 Kurashima Y, Kiyono H. Mucosal ecological network of epithelium and immune cells for gut homeostasis and tissue healing. *Annu Rev Immunol* 2017;35:119–47.
- 38 Gonçalves P, Araújo JR, Di Santo JP. A cross-talk between microbiota-derived short-chain fatty acids and the host mucosal immune system regulates intestinal homeostasis and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2018;24:558–72.
- 39 Desai MS, Seekatz AM, Koropatkin NM, *et al.* A Dietary Fiber-Deprived Gut Microbiota Degrades the Colonic Mucus Barrier and Enhances Pathogen Susceptibility. *Cell* 2016;167:1339-1353.e21.

- 40 Ramos GP, Papadakis KA. Mechanisms of Disease: Inflammatory Bowel Diseases. *Mayo Clin Proc* 2019;94:155–65.
- 41 Gribble FM, Reimann F. Enteroendocrine Cells: Chemosensors in the Intestinal Epithelium. *Annu Rev Physiol* 2016;78:277–99.
- 42 Haber AL, Biton M, Rogel N, *et al.* A single-cell survey of the small intestinal epithelium. *Nature* 2017;551:333–9.
- 43 Aguanno D, Coquant G, Postal BG, *et al.* The intestinal quorum sensing 3-oxo-C12:2 Acyl homoserine lactone limits cytokine-induced tight junction disruption. *Tissue Barriers* 2020;00.
- 44 Odenwald MA, Turner JR. The intestinal epithelial barrier: A therapeutic target? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;14:9–21.
- 45 Salim SY, Söderholm JD. Importance of disrupted intestinal barrier in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2011;17:362–81.
- 46 Grosheva I, Zheng D, Levy M, *et al.* High-Throughput Screen Identifies Host and Microbiota Regulators of Intestinal Barrier Function. *Gastroenterology* 2020;159:1807–23.
- 47 Blander JM. A new approach for inflammatory bowel disease therapy. *Nat Med* 2019;25:545–6.
- 48 Galipeau HJ, Verdu EF. The complex task of measuring intestinal permeability in basic and clinical science. *Neurogastroenterol Motil* 2016;28:957–65.
- 49 Salvo-Romero E, Alonso-Cotoner C, Pardo-Camacho C, *et al.* The intestinal barrier function and its involvement in digestive disease. *Rev Esp Enfermedades Dig* 2015;107:686–96.
- 50 Schoultz I, Keita Å V. The Intestinal Barrier and Current Techniques for the Assessment of Gut Permeability. *Cells* 2020;9:1–30.
- 51 Barbara G, Barbaro MR, Fuschi D, *et al.* Inflammatory and Microbiota-Related Regulation of the Intestinal Epithelial Barrier. *Front Nutr* 2021;8:1–24.
- 52 Wong RCB, Pera MF, Pébay A. Role of Gap Junctions in Embryonic and Somatic Stem Cells. *Stem Cell Rev* 2008;4:283–92.
- 53 Farré R, Fiorani M, Rahiman SA, *et al.* Intestinal permeability, inflammation and the role of nutrients. *Nutrients* 2020;12:1–18.
- 54 Guttman JA, Finlay BB. Tight junctions as targets of infectious agents. *Biochim Biophys Acta - Biomembr* 2009;1788:832–41.
- 55 Slifer ZM, Blikslager AT. The integral role of tight junction proteins in the repair of injured intestinal epithelium. *Int J Mol Sci* 2020;21.
- 56 Martini E, Krug SM, Siegmund B, *et al.* Mend Your Fences: The Epithelial Barrier and its Relationship With Mucosal Immunity in Inflammatory Bowel Disease. *Cmgh* 2017;4:33–46.
- 57 Van Itallie CM, Anderson JM. Phosphorylation of tight junction transmembrane proteins: Many sites, much to do. *Tissue Barriers* 2018;6:1–13.
- 58 Steed E, Rodrigues NTL, Balda MS, *et al.* Identification of MarvelD3 as a tight junction-associated transmembrane protein of the occludin family. *BMC Cell Biol* 2009;10:1–14.
- 59 Piontek J, Krug SM, Protze J, *et al.* Molecular architecture and assembly of the tight junction backbone. *Biochim Biophys Acta - Biomembr* 2020;1862:183279.
- 60 Grondin JA, Kwon YH, Far PM, *et al.* Mucins in Intestinal Mucosal Defense and Inflammation: Learning From Clinical and Experimental Studies. *Front Immunol* 2020;11.

- 61 Neurath MF. New targets for mucosal healing and therapy in inflammatory bowel diseases. *Mucosal Immunol* 2014;7:6–19.
- 62 Korytowski A, Abuillan W, Amadei F, *et al.* Accumulation of phosphatidylcholine on gut mucosal surface is not dominated by electrostatic interactions. *Biochim Biophys Acta - Biomembr* 2017;1859:959–65.
- 63 Cerutti A, Rescigno M. The Biology of Intestinal Immunoglobulin A Responses. *Immunity* 2008;28:740–50.
- 64 Zhu C, Chen Z, Jiang Z. Expression, distribution and role of aquaporin water channels in human and animal stomach and intestines. *Int J Mol Sci* 2016;17.
- 65 Doherty GJ, McMahon HT. Mechanisms of endocytosis. *Annu Rev Biochem* 2009;78:857–902.
- 66 Edelblum KL, Turner JR. Chapter 12 - Epithelial Cells: Structure, Transport, and Barrier Function. In: Mestecky J, Strober W, Russell MW, *et al.*, eds. . Boston: : Academic Press 2015. 187–210.
- 67 Odenwald MA, Turner JR. Intestinal Permeability Defects: Is It Time to Treat? *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013;11:1075–83.
- 68 Sanders ME, Merenstein DJ, Reid G, *et al.* Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* Published Online First: 2019.
- 69 Knoch B, Barnett MPG, Roy NC, *et al.* Study of the effects of dietary polyunsaturated fatty acids: Molecular mechanisms involved in intestinal inflammation. *Grasas y Aceites* 2009;60.
- 70 Patankar J V., Becker C. Cell death in the gut epithelium and implications for chronic inflammation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2020;17:543–56.
- 71 De Souza HSP, Fiocchi C. Immunopathogenesis of IBD: Current state of the art. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2016;13:13–27.
- 72 Roselli M, Finamore A. Use of Synbiotics for Ulcerative Colitis Treatment. *Curr Clin Pharmacol* 2019;15:174–82.
- 73 Zuo T, Ng SC. The Gut Microbiota in the Pathogenesis and Therapeutics of Inflammatory bowel disease. *Front Microbiol* 2018;9:1–13.
- 74 Nishida A, Inoue R, Inatomi O, *et al.* Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Clin J Gastroenterol* 2018;11:1–10.
- 75 Richard ML, Sokol H. The gut mycobiota: insights into analysis, environmental interactions and role in gastrointestinal diseases. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2019;16:331–45.
- 76 Shkoporov AN, Hill C. Bacteriophages of the Human Gut: The “Known Unknown” of the Microbiome. *Cell Host Microbe* 2019;25:195–209.
- 77 Matijašić M, Meštrović T, Čipčić Paljetak H, *et al.* Gut Microbiota beyond Bacteria—Mycobiome, Virome, Archaeome, and Eukaryotic Parasites in IBD. *Int J Mol Sci* 2020;21:2668.
- 78 Rowan-Nash AD, Korry BJ, Mylonakis E, *et al.* Cross-Domain and Viral Interactions in the Microbiome. *Microbiol Mol Biol Rev* 2019;83.
- 79 Ni J, Wu GD, Albenberg L, *et al.* Gut microbiota and IBD: Causation or correlation? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;14:573–84.
- 80 Yue B, Yu ZL, Lv C, *et al.* Regulation of the intestinal microbiota: An emerging therapeutic strategy for inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2020;26:4378–93.
- 81 Ananthakrishnan AN, Bernstein CN, Iliopoulos D, *et al.* Environmental triggers in IBD: A

- review of progress and evidence. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2018;15:39–49.
- 82 Hugon P, Lagier J-C, Colson P, *et al.* Repertoire of human gut microbes. *Microb Pathog* 2017;106:103–12.
- 83 Oka A, Sartor RB. Microbial-Based and Microbial-Targeted Therapies for Inflammatory Bowel Diseases. *Dig. Dis. Sci.* 2020;65:757–88.
- 84 Fraher MH, O'Toole PW, Quigley EMM. Techniques used to characterize the gut microbiota: A guide for the clinician. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012;9:312–22.
- 85 Rincel M, Aubert P, Chevalier J, *et al.* Multi-hit early life adversity affects gut microbiota, brain and behavior in a sex-dependent manner. *Brain Behav Immun* 2019;80:179–92.
- 86 Ehrlich SD. MetaHIT: The European Union Project on Metagenomics of the Human Intestinal Tract. In: *Metagenomics of the Human Body*. New York, NY: : Springer New York 2011. 307–16.
- 87 Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, *et al.* The Human Microbiome Project. *Nature* 2007;449:804–10.
- 88 Robles-Alonso V, Guarner F. From Basic to Applied Research. *J Clin Gastroenterol* 2014;48:S3–4.
- 89 Qin J, Li R, Raes J, *et al.* A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010;464:59–65.
- 90 Dusko Ehrlich S. Metagenomics of the intestinal microbiota: potential applications. *Gastroentérologie Clin Biol* 2010;34:S23–8.
- 91 Lloyd-Price J, Arze C, Ananthakrishnan AN, *et al.* Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel diseases. *Nature* 2019;569:655–62.
- 92 Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012;486:207–14.
- 93 Lopetuso LR, Scaldaferri F, Petito V, *et al.* Commensal Clostridia: Leading players in the maintenance of gut homeostasis. *Gut Pathog* 2013;5:1–8.
- 94 Zheng L, Wen XL. Gut microbiota and inflammatory bowel disease: The current status and perspectives. *World J Clin Cases* 2021;9:321–33.
- 95 Miquel S, Martín R, Rossi O, *et al.* Faecalibacterium prausnitzii and human intestinal health. *Curr Opin Microbiol* 2013;16:255–61.
- 96 Eichele DD, Kharbanda KK. Dextran sodium sulfate colitis murine model: An indispensable tool for advancing our understanding of inflammatory bowel diseases pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2017;23:6016–29.
- 97 Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, *et al.* Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci* 2008;105:16731–6.
- 98 Breyner NM, Michon C, de Sousa CS, *et al.* Microbial Anti-Inflammatory Molecule (MAM) from Faecalibacterium prausnitzii Shows a Protective Effect on DNBS and DSS-Induced Colitis Model in Mice through Inhibition of NF-κB Pathway. *Front Microbiol* 2017;8.
- 99 Martín R, Chain F, Miquel S, *et al.* The Commensal Bacterium Faecalibacterium prausnitzii Is Protective in DNBS-induced Chronic Moderate and Severe Colitis Models. *Inflamm Bowel Dis* 2014;20:417–30.
- 100 Quévrain E, Maubert MA, Michon C, *et al.* Identification of an anti-inflammatory protein from

- Faecalibacterium prausnitzii , a commensal bacterium deficient in Crohn's disease. *Gut* 2016;65:415–25.
- 101 Lenoir M, Martín R, Torres-Maravilla E, *et al.* Butyrate mediates anti-inflammatory effects of Faecalibacterium prausnitzii in intestinal epithelial cells through Dact3. *Gut Microbes* 2020;12:1826748.
- 102 Alameddine J, Godefroy E, Papargyris L, *et al.* Faecalibacterium prausnitzii Skews Human DC to Prime IL10-Producing T Cells Through TLR2/6/JNK Signaling and IL-10, IL-27, CD39, and IDO-1 Induction. *Front Immunol* 2019;10.
- 103 Miyamoto J, Igarashi M, Watanabe K, *et al.* Gut microbiota confers host resistance to obesity by metabolizing dietary polyunsaturated fatty acids. *Nat Commun* 2019;10:1–5.
- 104 Foong JPP, Hung LY, Poon S, *et al.* Early life interaction between the microbiota and the enteric nervous system. *Am J Physiol Liver Physiol* 2020;319:G541–8.
- 105 Wu M, Li P, An Y, *et al.* Phloretin ameliorates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice by regulating the gut microbiota. *Pharmacol Res* 2019;150:104489.
- 106 Cherbut C, Michel C, Lecanu G. The prebiotic characteristics of fructooligosaccharides are necessary for reduction of TNBS-induced colitis in rats. *J Nutr* 2003;133:21–7.
- 107 Serban DE. Microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis and therapy: Is it all about diet? *Nutr Clin Pract* 2015;30:760–79.
- 108 Lee M, Chang EB. Inflammatory Bowel Diseases (IBD) and the Microbiome—Searching the Crime Scene for Clues. *Gastroenterology* 2021;160:524–37.
- 109 Brosseau C, Selle A, Duval A, *et al.* Prebiotic Supplementation During Pregnancy Modifies the Gut Microbiota and Increases Metabolites in Amniotic Fluid, Driving a Tolerogenic Environment In Utero. *Front Immunol* 2021;12:1–16.
- 110 Arrieta MC, Stiemsma LT, Amenyogbe N, *et al.* The intestinal microbiome in early life: Health and disease. *Front Immunol* 2014;5:1–18.
- 111 Healey GR, Celiberto LS, Lee SM, *et al.* Fiber and prebiotic interventions in pediatric inflammatory bowel disease: What role does the gut microbiome play? *Nutrients* 2020;12:1–23.
- 112 Vich Vila A, Imhann F, Collij V, *et al.* Gut microbiota composition and functional changes in inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome. *Sci Transl Med* 2018;10:eaap8914.
- 113 Stolzer I, Kaden-Volynets V, Ruder B, *et al.* Environmental Microbial Factors Determine the Pattern of Inflammatory Lesions in a Murine Model of Crohn's Disease-Like Inflammation. *Inflamm Bowel Dis* 2020;26:66–79.
- 114 Larsen JM. The immune response to Prevotella bacteria in chronic inflammatory disease. *Immunology* 2017;151:363–74.
- 115 Rizzatti G, Lopetuso LR, Gibiino G, *et al.* Proteobacteria: A Common Factor in Human Diseases. *Biomed Res Int* 2017;2017:1–7.
- 116 Shin NR, Whon TW, Bae JW. Proteobacteria: Microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends Biotechnol* 2015;33:496–503.
- 117 Camilo V, Sugiyama T, Touati E. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter* 2017;22:1–6.
- 118 Luissint A-C, Parkos CA, Nusrat A. Inflammation and the Intestinal Barrier: Leukocyte–

- Epithelial Cell Interactions, Cell Junction Remodeling, and Mucosal Repair. *Gastroenterology* 2016;151:616–32.
- 119 Binda C, Lopetuso LR, Rizzatti G, *et al.* Actinobacteria: A relevant minority for the maintenance of gut homeostasis. *Dig Liver Dis* 2018;50:421–8.
- 120 Zhang Q, Xiao X, Zheng J, *et al.* Influence of Maternal Inulin-Type Prebiotic Intervention on Glucose Metabolism and Gut Microbiota in the Offspring of C57BL Mice. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2019;10:1–14.
- 121 Turrone F, Duranti S, Milani C, *et al.* Bifidobacterium bifidum: A key member of the early human gut microbiota. *Microorganisms* 2019;7:1–13.
- 122 Azad MAK, Sarker M, Li T, *et al.* Probiotic Species in the Modulation of Gut Microbiota: An Overview. *Biomed Res Int* 2018;2018.
- 123 Turrone F, Özcan E, Milani C, *et al.* Glycan cross-feeding activities between bifidobacteria under in vitro conditions. *Front Microbiol* 2015;6.
- 124 Ewaschuk JB, Diaz H, Meddings L, *et al.* Secreted bioactive factors from Bifidobacterium infantis enhance epithelial cell barrier function. *Am J Physiol Liver Physiol* 2008;295:G1025–34.
- 125 Kovatcheva-Datchary P, Shoaie S, Lee S, *et al.* Simplified Intestinal Microbiota to Study Microbe-Diet-Host Interactions in a Mouse Model. *Cell Rep* 2019;26:3772-3783.e6.
- 126 Rodriguez-Caro H, Williams SA. Strategies to reduce non-communicable diseases in the offspring: Negative and positive in utero programming. *J. Dev. Orig. Health Dis.* 2018;9:642–52.
- 127 Aagaard K, Ma J, Antony KM, *et al.* The Placenta Harbors a Unique Microbiome. *Sci Transl Med* 2014;6.
- 128 Collado MC, Rautava S, Aakko J, *et al.* Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Sci Rep* 2016;6:23129.
- 129 Younge N, McCann JR, Ballard J, *et al.* Fetal exposure to the maternal microbiota in humans and mice. *JCI Insight* 2019;4.
- 130 Leiby JS, McCormick K, Sherrill-Mix S, *et al.* Lack of detection of a human placenta microbiome in samples from preterm and term deliveries. *Microbiome* 2018;6:196.
- 131 Takiishi T, Fenero CIM, Câmara NOS. Intestinal barrier and gut microbiota: Shaping our immune responses throughout life. *Tissue Barriers* 2017;5:1–12.
- 132 Coquant G, Grill J-P, Seksik P. Impact of N-Acyl-Homoserine Lactones, Quorum Sensing Molecules, on Gut Immunity. *Front Immunol* 2020;11.
- 133 Guo XY, Liu XJ, Hao JY. Gut microbiota in ulcerative colitis: insights on pathogenesis and treatment. *J Dig Dis* 2020;21:147–59.
- 134 Fu J, Bonder MJ, Cenit MC, *et al.* The Gut Microbiome Contributes to a Substantial Proportion of the Variation in Blood Lipids. *Circ Res* 2015;117:817–24.
- 135 Martinot E, Sèdes L, Baptissart M, *et al.* Bile acids and their receptors. *Mol Aspects Med* 2017;56:2–9.
- 136 Heinken A, Ravcheev DA, Baldini F, *et al.* Systematic assessment of secondary bile acid metabolism in gut microbes reveals distinct metabolic capabilities in inflammatory bowel disease. *Microbiome* 2019;7:1–18.
- 137 Venegas DP, De La Fuente MK, Landskron G, *et al.* Short chain fatty acids (SCFAs)mediated

- gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases. *Front Immunol* 2019;10.
- 138 Brosseau C, Selle A, Palmer DJ, *et al.* Prebiotics: mechanisms and preventive effects in allergy. *Nutrients* 2019;11:1–26.
 - 139 Cai Y, Liu W, Lin Y, *et al.* Compound polysaccharides ameliorate experimental colitis by modulating gut microbiota composition and function. *J Gastroenterol Hepatol* 2019;34:1554–62.
 - 140 Kimura I, Miyamoto J, Ohue-Kitano R, *et al.* Maternal gut microbiota in pregnancy influences offspring metabolic phenotype in mice. *Science (80-)* 2020;367.
 - 141 Wilson B, Whelan K. Prebiotic inulin-type fructans and galacto-oligosaccharides: definition, specificity, function, and application in gastrointestinal disorders. *J Gastroenterol Hepatol* 2017;32:64–8.
 - 142 Cohen LJ, Cho JH, Gevers D, *et al.* Genetic Factors and the Intestinal Microbiome Guide Development of Microbe-Based Therapies for Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology* 2019;156:2174–89.
 - 143 De Vadder F, Grasset E, Holm LM, *et al.* Gut microbiota regulates maturation of the adult enteric nervous system via enteric serotonin networks. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2018;115:6458–63.
 - 144 Kabouridis PS, Lasrado R, McCallum S, *et al.* Microbiota Controls the Homeostasis of Glial Cells in the Gut Lamina Propria. *Neuron* 2015;85:289–95.
 - 145 Niesler B, Kuerten S, Demir IE, *et al.* Disorders of the enteric nervous system — a holistic view. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2021;18:393–410.
 - 146 Neunlist M, Van Landeghem L, Mahé MM, *et al.* The digestive neuronal–glial–epithelial unit: a new actor in gut health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013;10:90–100.
 - 147 Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, *et al.* The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn’s disease. *Cell Host Microbe* 2014;15:382–92.
 - 148 Britton GJ, Contijoch EJ, Mogno I, *et al.* Microbiotas from Humans with Inflammatory Bowel Disease Alter the Balance of Gut Th17 and RORγt+ Regulatory T Cells and Exacerbate Colitis in Mice. *Immunity* 2019;50:212–224.e4.
 - 149 Norman JM, Handley SA, Baldridge MT, *et al.* Disease-specific alterations in the enteric virome in inflammatory bowel disease. *Cell* 2015;160:447–60.
 - 150 Sokol H, Seksik P, Furet JP, *et al.* Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15:1183–9.
 - 151 Mentella MC, Scaldaferri F, Pizzoferrato M, *et al.* Nutrition, IBD and Gut Microbiota: A Review. *Nutrients* 2020;12:1–20.
 - 152 Hall AB, Yassour M, Sauk J, *et al.* A novel *Ruminococcus gnavus* clade enriched in inflammatory bowel disease patients. *Genome Med* 2017;9:1–12.
 - 153 Iljazovic A, Roy U, Gálvez EJC, *et al.* Perturbation of the gut microbiome by *Prevotella* spp. enhances host susceptibility to mucosal inflammation. *Mucosal Immunol* 2021;14:113–24.
 - 154 Martín R, Miquel S, Chain F, *et al.* *Faecalibacterium prausnitzii* prevents physiological damages in a chronic low-grade inflammation murine model. *BMC Microbiol* 2015;15:67.
 - 155 Morgan XC, Tickle TL, Sokol H, *et al.* Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment. *Genome Biol* 2012;13:R79.

- 156 Singh V, Yeoh BS, Walker RE, *et al.* Microbiota fermentation-NLRP3 axis shapes the impact of dietary fibres on intestinal inflammation. *Gut* 2019;68:1–12.
- 157 Murch S. Gastrointestinal Mucosal Immunology and Mechanisms of Inflammation. In: Wyllie R, Hyams JS, Kay MBT-PG and LD (Sixth E, eds. *Pediatric Gastrointestinal and Liver Disease*. Philadelphia: : Elsevier 2021. 40-52.e3.
- 158 Garrett WS, Gordon JI, Glimcher LH. Homeostasis and Inflammation in the Intestine. *Cell* 2010;140:859–70.
- 159 Mowat AM, Agace WW. Regional specialization within the intestinal immune system. *Nat Rev Immunol* 2014;14:667–85.
- 160 Geremia A, Biancheri P, Allan P, *et al.* Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *Autoimmun Rev* 2014;13:3–10.
- 161 Wallace KL, Zheng LB, Kanazawa Y, *et al.* Immunopathology of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2014;20:6–21.
- 162 Fournier BM, Parkos CA. The role of neutrophils during intestinal inflammation. *Mucosal Immunol* 2012;5:354–66.
- 163 Zhang D, Frenette PS. Cross talk between neutrophils and the microbiota. *Blood* 2019;133:2168–77.
- 164 Lindsay JO, Whelan K, Stagg AJ, *et al.* Clinical, microbiological, and immunological effects of fructo-oligosaccharide in patients with Crohn’s disease. *Gut* 2006;55:348–55.
- 165 Sun H, Sun C, Xiao W, *et al.* Tissue-resident lymphocytes: from adaptive to innate immunity. *Cell Mol Immunol* 2019;16:205–15.
- 166 Mantovani A, Biswas SK, Galdiero MR, *et al.* Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. *J Pathol* 2013;229:176–85.
- 167 Tam VC. Lipidomic profiling of bioactive lipids by mass spectrometry during microbial infections. *Semin Immunol* 2013;25:240–8.
- 168 Zhu Y, Zhang L, Lu Q, *et al.* Identification of different macrophage subpopulations with distinct activities in a mouse model of oxygen-induced retinopathy. *Int J Mol Med* 2017;40:281–92.
- 169 Varricchi G, Galdiero MR, Loffredo S, *et al.* Are Mast Cells MASTers in Cancer? *Front Immunol* 2017;8.
- 170 Kamali AN, Noorbakhsh SM, Hamedifar H, *et al.* A role for Th1-like Th17 cells in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune disorders. *Mol Immunol* 2019;105:107–15.
- 171 Essakalli M, Brick C, Bennani N, *et al.* Le lymphocyte TH17 dernier-né de la famille des lymphocytes T CD4+. *Pathol Biol* 2010;58:437–43.
- 172 P. K. Th1/Th2 balance: The hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Altern Med Rev* 2003;8:223–46.
- 173 Spellberg B, Edwards JE. Type 1/Type 2 Immunity in Infectious Diseases. *Clin Infect Dis* 2001;32:76–102.
- 174 Leppkes M, Neurath MF. Cytokines in inflammatory bowel diseases – Update 2020. *Pharmacol Res* 2020;158:104835.
- 175 Tindemans I, Joosse ME, Samsom JN. Dissecting the Heterogeneity in T-Cell Mediated Inflammation in IBD. *Cells* 2020;9:110.
- 176 Jørgensen N, Persson G, Hviid TVF. The Tolerogenic Function of Regulatory T Cells in

- Pregnancy and Cancer. *Front Immunol* 2019;10.
- 177 Schiavon V, Duchez S, Branchtein M, *et al.* Microenvironment tailors nTreg structure and function. *Proc Natl Acad Sci* 2019;116:6298–307.
- 178 Gagliani N, Huber S, Flavell RA. The Intestine: where amazing things happen. *Cell Res* 2012;22:277–9.
- 179 Cook L, Stahl M, Han X, *et al.* Suppressive and Gut-Reparative Functions of Human Type 1 T Regulatory Cells. *Gastroenterology* 2019;157:1584–98.
- 180 Tao X, Xu A. Basic Knowledge of Immunology. In: Xu ABT-AI, ed. *Amphioxus Immunity*. Elsevier 2016. 15–42.
- 181 Zou Y-R, Grimaldi C, Diamond B. B Cells. In: Firestein GS, Budd RC, Gabriel SE, *et al.*, eds. *Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology*. Elsevier 2017. 207-230.e3.
- 182 Cruse JM, Lewis RE, Wang HBT-IG, editors. B Cells, Immunoglobulin Genes, and Immunoglobulin Structure. In: *Immunology Guidebook*. San Diego: : Elsevier 2004. 277–309.
- 183 Baba Y, Saito Y, Kotetsu Y. Heterogeneous subsets of B-lineage regulatory cells (Breg cells). *Int Immunol* 2019;32:155–62.
- 184 Dhawan S, de Palma G, Willemze RA, *et al.* Acetylcholine-producing T cells in the intestine regulate antimicrobial peptide expression and microbial diversity. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol* 2016;311:G920–33.
- 185 Malin SG, Shavva VS, Tarnawski L, *et al.* Functions of acetylcholine-producing lymphocytes in immunobiology. *Curr Opin Neurobiol* 2020;62:115–21.
- 186 Warhurst AC, Hopkins SJ, Warhurst G. Interferon γ induces differential upregulation of α and β chemokine secretion in colonic epithelial cell lines. *Gut* 1998;42:208–13.
- 187 Hassan A, Ibrahim A, Mbodji K, *et al.* An α -linolenic acid-rich formula reduces oxidative stress and inflammation by regulating NF- κ B in rats with TNBS-induced colitis. *J Nutr* 2010;140:1714–21.
- 188 Vyas SP, Goswami R. A Decade of Th9 Cells: Role of Th9 Cells in Inflammatory Bowel Disease. *Front Immunol* 2018;9.
- 189 Brinkman DJ, ten Hove AS, Vervoordeldonk MJ, *et al.* Neuroimmune Interactions in the Gut and Their Significance for Intestinal Immunity. *Cells* 2019;8:670.
- 190 Fung C, Vanden Berghe P. Functional circuits and signal processing in the enteric nervous system. *Cell Mol Life Sci* 2020;77:4505–22.
- 191 Heanue TA, Pachnis V. Enteric nervous system development and Hirschsprung's disease: advances in genetic and stem cell studies. *Nat Rev Neurosci* 2007;8:466–79.
- 192 Meir M, Flemming S, Burkard N, *et al.* Glial cell line-derived neurotrophic factor promotes barrier maturation and wound healing in intestinal epithelial cells in vitro. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol* 2015;309:G613–24.
- 193 Jarret A, Jackson R, Duizer C, *et al.* Enteric Nervous System-Derived IL-18 Orchestrates Mucosal Barrier Immunity. *Cell* 2020;180:50-63.e12.
- 194 Pochard C, Coquenlorge S, Jaulin J, *et al.* Defects in 15-HETE Production and Control of Epithelial Permeability by Human Enteric Glial Cells from Patients with Crohn's Disease. *Gastroenterology* 2016;150:168–80.
- 195 Willemze RA, Brinkman DJ, Welting O, *et al.* Acetylcholine-producing T cells augment innate immune-driven colitis but are redundant in T cell-driven colitis. *Am J Physiol Liver Physiol*

- 2019;317:G557–68.
- 196 Holland AM, Bon-Frauches AC, Keszthelyi D, *et al.* The enteric nervous system in gastrointestinal disease etiology. *Cell Mol Life Sci* 2021;78:4713–33.
- 197 Capoccia E, Cirillo C, Gigli S, *et al.* Enteric glia: A new player in inflammatory bowel diseases. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2015;28:443–51.
- 198 Geirnaert A. *Probiotic potency of butyrate-producing bacteria for modulating the microbiome and epithelial barrier in inflammatory bowel disease.* 2015.
- 199 Imhann F, Vich Vila A, Bonder MJ, *et al.* Interplay of host genetics and gut microbiota underlying the onset and clinical presentation of inflammatory bowel disease. *Gut* 2018;67:108–19.
- 200 Kellermayer R. Epigenetics and the developmental origins of inflammatory bowel diseases. *Can J Gastroenterol* 2012;26:909–15.
- 201 Harris RA, Shah R, Hollister EB, *et al.* Colonic Mucosal Epigenome and Microbiome Development in Children and Adolescents. 2016;2016.
- 202 Lewis JD, Abreu MT. Diet as a Trigger or Therapy for Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology* 2017;152:398-414.e6.
- 203 Sasson AN, Ananthakrishnan AN, Raman M. Diet in Treatment of Inflammatory Bowel Diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2021;19:425-435.e3.
- 204 Owczarek D, Rodacki T, Domagała-Rodacka R, *et al.* Diet and nutritional factors in inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2016;22:895–905.
- 205 Schaible TD, Harris RA, Dowd SE, *et al.* Maternal methyl-donor supplementation induces prolonged murine offspring colitis susceptibility in association with mucosal epigenetic and microbiomic changes. *Hum Mol Genet* 2011;20:1687–96.
- 206 Kellermayer R, Zilbauer M. The Gut Microbiome and the Triple Environmental Hit Concept of Inflammatory Bowel Disease Pathogenesis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2020;71:589–95.
- 207 Malathi K, Nandini R, Kr D, *et al.* Journal of Hepatology and A Randomized Open Label Study to Evaluate the Efficacy and Tolerability of Synbiotic in the Treatment of Ulcerative Colitis. *J Hepatol Gastrointest Disord* 2019;5:1–4.
- 208 Zundler S, Schillinger D, Fischer A, *et al.* Blockade of $\alpha\beta 7$ integrin suppresses accumulation of CD8 + and Th9 lymphocytes from patients with IBD in the inflamed gut in vivo. *Gut* 2017;66:1936–48.
- 209 Veereman G. Pediatric applications of inulin and oligofructose. *J Nutr* 2007;137:2585–9.
- 210 Bouchaud G, Castan L, Chesné J, *et al.* Maternal exposure to GOS/inulin mixture prevents food allergies and promotes tolerance in offspring in mice. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol* 2016;71:68–76.
- 211 Selle A, Brosseau C, Dijk W, *et al.* Prebiotic Supplementation During Gestation Induces a Tolerogenic Environment and a Protective Microbiota in Offspring Mitigating Food Allergy. *Front Immunol* 2022;12.
- 212 Chassaing B, Aitken JD, Malleshappa M, Vijay-Kumar M. Dextran Sulfate Sodium (DSS)-Induced Colitis in Mice. *Curr Protoc Immunol* Published Online First: 2014.
- 213 Ferguson J. Maternal microbial molecules affect offspring health. *Science (80-)* 2020;367:978–9.
- 214 Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, *et al.* Expert consensus document: The International

- Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;14:491–502.
- 215 Sohn K, Underwood MA. Prenatal and postnatal administration of prebiotics and probiotics. *Semin Fetal Neonatal Med* 2017;22:284–9.
- 216 Zhang Q, Xiao X, Zheng J, *et al.* Maternal Inulin Supplementation Alters Hepatic DNA Methylation Profile and Improves Glucose Metabolism in Offspring Mice. *Front Physiol* 2020;11:1–12.
- 217 Firmansyah A, Chongviriyaphan N, Dillon DHS, *et al.* Fructans in the first 1000 days of life and beyond, and for pregnancy. *Asia Pac J Clin Nutr* 2016;25:652–75.
- 218 Paul HA, Collins KH, Nicolucci AC, *et al.* Maternal prebiotic supplementation reduces fatty liver development in offspring through altered microbial and metabolomic profiles in rats. *FASEB J* 2019;33:5153–67.
- 219 Chu DM, Meyer KM, Prince AL, *et al.* Impact of maternal nutrition in pregnancy and lactation on offspring gut microbial composition and function. *Gut Microbes* 2016;7:459–70.
- 220 Pujo J, Petitfils C, Le Faouder P, *et al.* Bacteria-derived long chain fatty acid exhibits anti-inflammatory properties in colitis. *Gut* 2021;70:1088–97.
- 221 Nyangahu DD, Jaspan HB. Influence of maternal microbiota during pregnancy on infant immunity. *Clin Exp Immunol* 2019;198:47–56.
- 222 Cukrowska B, Biełła JB, Zakrzewska M, *et al.* The relationship between the infant gut microbiota and allergy. The role of Bifidobacterium breve and prebiotic oligosaccharides in the activation of anti-allergic mechanisms in early life. *Nutrients* 2020;12.
- 223 Newburg DS, Ko JS, Leone S, *et al.* Human milk oligosaccharides and synthetic galactosyloligosaccharides contain 3′-, 4-, and 6′-galactosyllactose and attenuate inflammation in human T84, NCM-460, and H4 cells and intestinal tissue ex vivo^{1,2}. *J Nutr* 2016;146:358–67.
- 224 De Agüero MG, Ganai-Vonarburg SC, Fuhrer T, *et al.* The maternal microbiota drives early postnatal innate immune development. *Science (80-)* 2016;351:1296–302.
- 225 Barrat E, Michel C, Poupeau G, *et al.* Supplementation with galactooligosaccharides and inulin increases bacterial translocation in artificially reared newborn rats. *Pediatr Res* 2008;64:34–9.
- 226 Sartor RB, Wu GD. Roles for Intestinal Bacteria, Viruses, and Fungi in Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases and Therapeutic Approaches. *Gastroenterology* 2017;152:327-339.e4.
- 227 Wunschel EJ, Schirmer B, Seifert R, *et al.* Lack of Histamine H4-Receptor Expression Aggravates TNBS-Induced Acute Colitis Symptoms in Mice. *Front Pharmacol* 2017;8.
- 228 Michalak A, Mosińska P, Fichna J. Polyunsaturated fatty acids and their derivatives: Therapeutic value for inflammatory, functional gastrointestinal disorders, and colorectal cancer. *Front Pharmacol* 2016;7:1–16.
- 229 Schultz M, Lai CC hua., Lindstroem AL is., *et al.* Aggravation of Established Colitis in Specific Pathogen-free IL-10 Knockout Mice by Restraint Stress Is Not Mediated by Increased Colonic Permeability. *J Crohns Colitis* 2015;9:754–62.
- 230 Davidson NJ, Leach MW, Fort MM, *et al.* T helper cell 1-type CD4+ T cells, but not B cells, mediate colitis in interleukin 10-deficient mice. *J Exp Med* 1996;184:241–51.
- 231 Wen B, Taibi A, Villa CR, *et al.* Effects of bifidobacterium bifidum in mice infected with

- citrobacter rodentium. *Microorganisms* 2019;7:1–11.
- 232 Son HJ, Kim N, Song C-H, *et al.* Sex-related Alterations of Gut Microbiota in the C57BL/6 Mouse Model of Inflammatory Bowel Disease. *J Cancer Prev* 2019;24:173–82.
- 233 Lagarde M, Guichardant M, Bernoud-Hubac N. Anti-inflammatory and anti-virus potential of poxytrins, especially protectin DX. *Biochimie* 2020;179:281–4.
- 234 Miao X-P, Ouyang Q, Li H-Y, *et al.* Role of selective cyclooxygenase-2 inhibitors in exacerbation of inflammatory bowel disease: A systematic review and meta-analysis. *Curr Ther Res* 2008;69:181–91.
- 235 Reißig S, Tang Y, Nikolaev A, *et al.* Elevated levels of Bcl-3 inhibits Treg development and function resulting in spontaneous colitis. *Nat Commun* 2017;8.
- 236 Jablonski KA, Amici SA, Webb LM, *et al.* Novel markers to delineate murine M1 and M2 macrophages. *PLoS One* 2015;10:5–11.
- 237 Boldt A, Borte S, Fricke S, *et al.* Eight-color immunophenotyping of T-, B-, and NK-cell subpopulations for characterization of chronic immunodeficiencies. *Cytom Part B - Clin Cytom* 2014;86:191–206.
- 238 Zheng M, Xing C, Xiao H, *et al.* Interaction of CD5 and CD72 is involved in regulatory T and B cell homeostasis. *Immunol Invest* 2014;43:705–16.
- 239 Ahmadi H, Fathi F, Karimi H, *et al.* Altered TH1, TH2, TH17 balance in assisted reproductive technology conceived mice. *J Reprod Immunol* 2020;139:103117.
- 240 Little MC, Bell L V., Cliffe LJ, *et al.* The Characterization of Intraepithelial Lymphocytes, Lamina Propria Leukocytes, and Isolated Lymphoid Follicles in the Large Intestine of Mice Infected with the Intestinal Nematode Parasite *Trichuris muris*. *J Immunol* 2005;175:6713–22.
- 241 Howell KJ, Kraiczy J, Nayak KM, *et al.* DNA Methylation and Transcription Patterns in Intestinal Epithelial Cells From Pediatric Patients With Inflammatory Bowel Diseases Differentiate Disease Subtypes and Associate With Outcome. *Gastroenterology* 2018;154:585–98.
- 242 Natah SS, Mouihate A, Pittman QJ, *et al.* Disruption of the blood-brain barrier during {TNBS} colitis. *Neurogastroenterol Motil* 2005;17:433–46.
- 243 Hathaway CA, Appleyard CB, Percy WH, *et al.* Experimental colitis increases blood-brain barrier permeability in rabbits. *Am J Physiol Liver Physiol* 1999;276:G1174–80.
- 244 Greuter T, Navarini A, Vavricka SR. Skin Manifestations of Inflammatory Bowel Disease. *Clin Rev Allergy Immunol* 2017;53:413–27.
- 245 Zoppi J, Guillaume J-F, Neunlist M, *et al.* MiBiOmics: an interactive web application for multi-omics data exploration and integration. *BMC Bioinformatics* 2021;22:6.
- 246 Shin SK, Cho JH, Kim EKEJ, *et al.* Anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of rosuvastatin by regulation of oxidative stress in a dextran sulfate sodium-induced colitis model. *World J Gastroenterol* 2017;23:4559–68.
- 247 Hamabata T, Nakamura T, Masuko S, *et al.* Production of lipid mediators across different disease stages of dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. *J Lipid Res* 2018;59:586–95.

Titre : Étude de l'impact d'une supplémentation anténatale en prébiotiques sur le développement d'une colite et des fonctions intestinales associées dans un modèle murin.

Mots clés : MICI, microbiote, prébiotiques, DOHaD

Résumé : Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) sont liées à une réponse immunitaire exacerbée, une altération de la barrière intestinale et une dysbiose. Les thérapies actuelles ciblent l'inflammation, mais des recherches étudient la modulation du microbiote comme moyen d'améliorer les MICI. Nous avons émis l'hypothèse que le renforcement du microbiote à un stade précoce de la vie pourrait être une stratégie préventive des MICI. Des descendants âgés de 8-10 semaines de mères exposées aux prébiotiques galacto-oligosaccharides/inuline (P) pendant la gestation ou nourries avec un régime standard, ont été soumis ou non à une colite induite au dextran sulfate sodium (DSS). Les fonctions, le score pathologique (DAI), la structure histologique et immune, le métabolisme, le transcriptome et le microbiote intestinaux des animaux ont été évalués.

Les souris issues de mères P présentaient un côlon plus court, une augmentation de 28 lipides et 7 bactéries dans le côlon distal. Suite au traitement DSS, ces souris présentaient un DAI plus élevé et une humidité accrue des selles. Une augmentation des lymphocytes et des macrophages a également été observée dans leur muqueuse colique. Après DSS chez ces souris issues de mères P, une diminution du contenu caecal en butyrate, une augmentation colique distale de 8 bactéries, de RvD5, 14-HDoHE, PDX et de potentiellement 155 gènes ont été observés. La prise anténatale de P conduit ainsi, sous DSS, chez la descendance, à des modifications du microbiote intestinale, des lipides, du transcriptome et à un recrutement accru de cellules immunes dans le côlon distal induisant une susceptibilité augmentée au développement d'une colite.

Title: Investigation of the impact of an antenatal enrichment in prebiotics on the development of colitis and on the associated gut functions in a mouse model.

Keywords: IBD, gut microbiota, prebiotics, DOHaD

Abstract: Inflammatory bowel diseases (IBD) are linked to an exacerbated immune response, an altered intestinal barrier and a dysbiosis. Current therapies target inflammation, but research programs are now investigating the modulation of the microbiota as a mean to ameliorate IBD. We hypothesized that strengthening the microbiota early in life could be a preventive strategy for IBD. Eight- to 10-week-old offspring of mothers exposed to galacto-oligosaccharides/inulin (P) prebiotics during gestation, or fed a standard diet, were subjected to dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis or not. The functions, disease activity index (DAI), histological and immune structure, metabolism, transcriptome and microbiota of the gut of the animals were evaluated.

Mice from P dams presented a shorter colon, an increase in 28 lipids and 7 bacteria in the distal colon. Following DSS treatment, these mice had a higher DAI and increased feces humidity. An increase in lymphocytes and macrophages was also observed in their colonic mucosa. In these offspring of prebiotics -dams treated with DSS, a decrease in caecal butyrate content, a distal colonic increase in 8 bacteria, RvD5, 14-HDoHE, PDX and potentially 155 genes were observed. Antenatal intake of P thus leads, in the offspring under DSS, to modifications of the intestinal microbiota, lipids, and transcriptome, and to an increased recruitment of immune cells in the distal colon that all together induce an increased susceptibility to the development of colitis.