

THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE DE NANTES
COMUE UNIVERSITE BRETAGNE LOIRE

ECOLE DOCTORALE N° 605

Biologie Santé

Spécialités : « *Microbiologie et Neurosciences* »

Par

Anne-Lise POCHERON

Rôle du microbiote intestinal néonatal dans la programmation du comportement alimentaire chez le rat

Thèse présentée et soutenue à Nantes, le 18 décembre 2019
Unité de recherche : UMR 1280 PhAN, INRA, Université de Nantes

Rapporteurs avant soutenance :

Christine LETERRIER Directrice de Recherche, INRA, Tours
Odile VILTART Maître de Conférences des Universités, Université de Lille

Composition du Jury :

Président :	Dominique DARMAUN	Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Université de Nantes
Examineur :	Laurent NAUDON	Chargé de Recherche, INRA, Jouy-en-Josas
Dir. de thèse :	Patricia PARNET	Directrice de Recherche, INRA, Nantes
Co-dir. de thèse :	Gwenola LE DREAN	Chargée de Recherche, INRA, Nantes

« *Anything that can go wrong, will go wrong* »

Murphy's law, 1952

« *Calme, en avant, et droit* »

Général A. L'Hotte, 1825-1904

Remerciements

Je souhaite remercier vivement les rapporteurs et l'examineur de cette thèse : Christine Leterrier, Odile Viltart, et Laurent Naudon pour avoir bien voulu évaluer le travail que j'ai réalisé durant ces quatre années de doctorat, et y apporter des remarques très pertinentes et un point de vue extérieur, en particulier au moment de ma soutenance, malgré les conditions défavorables dans lesquelles elle s'est déroulée. Merci à vous. Je regrette de ne pas avoir pu discuter plus longtemps avec vous après ma soutenance.

Je remercie bien sûr Patricia Parnet, Gwenola Le Dréan et Catherine Michel pour m'avoir donné l'opportunité de travailler sur un sujet mettant en lien le microbiote intestinal et le comportement / fonctionnement neuronal de son hôte, malgré mon cursus de Microbiologiste.

Merci en particulier à Patricia et Gwenola pour m'avoir donné la possibilité d'aller à Toulouse me former à l'analyse des données de séquençage 16S puis à MétaGénoPoliS où j'ai pu avoir quelques bases en métagénomique, R et création/manipulation d'une grande base de données. Merci également de m'avoir permis de faire de l'enseignement (une révélation pour moi), et pour votre aide dans les expérimentations animales quand j'en ai eu besoin.

Un énorme merci aux techniciens du laboratoire qui ont participé à ce projet : Martine, Blandine, Céline, Anthony, Isabelle et Agnès pour le grand travail d'analyse réalisé et leur investissement dans ce projet de grande ampleur, malgré une organisation parfois hésitante. Enorme merci à vous tous pour votre soutien, à tous les niveaux.

« La recherche avance ... »

Mes remerciements vont également de façon particulière à Emmanuelle, Florian, Sébastien, Benoît, et l'ensemble des personnes d'IBS et de MétaGénoPolis pour leur accueil si chaleureux, leur aide et le temps passé à m'apprendre quelques bases de métagénomique, R et de manipulation de bases de données et les visites des différentes plateformes. Grâce à vous j'ai pu, pendant ces trop courtes semaines, découvrir la vie dans un labo diamétralement différent. Merci à vous. Cela m'a fait grand bien.

Pour ceux que ces remerciements intéresseront, sachez que je n'ai pas oublié l'ensemble de toutes les personnes de mon entourage (conjoint, amis, famille, jeunes (et moins jeunes) du labo, Corinne) qui ont cru en moi, m'ont prêté une (voire deux) épaule(s) secourable(s), soutenu inconditionnellement et coûte que coûte durant ces quatre années très difficiles pour moi. Nul besoin de détails sur cette page, les vrais remerciements sont ailleurs.

Un merci particulier pour Norman qui a réalisé, parfois jusqu'à l'aube, la plupart des figures originales présentées dans ce manuscrit, ainsi que lors de ma soutenance orale. Et pour tout le reste.

SOMMAIRE

Liste des figures	1
Liste des tableaux.....	3
Liste des abréviations	4

Avant-propos.....	8
--------------------------	----------

Chapitre 1. Le comportement alimentaire.....	16
---	-----------

A) La régulation du comportement alimentaire chez l'adulte	16
---	-----------

1. La régulation homéostatique.....	17
1.1. L'hypothalamus et ses noyaux : centre intégrateur de l'homéostasie énergétique.....	17
1.2. Le tronc cérébral et ses noyaux : centre intégrateur des signaux centraux et périphériques	26
2. La régulation hédonique.....	29
2.1. L'aire latérale de l'hypothalamus	29
2.2. Le système mésocorticolimbique	31

B) Mise en place du comportement alimentaire	34
---	-----------

1. Ontogenèse des structures et circuits homéostatiques et hédoniques.....	35
1.1. La régulation réflexe par le tronc cérébral	35
1.2. La régulation homéostatique.....	38
1.3. La régulation hédonique.....	40
2. Facteurs pré- et postnataux influençant le neurodéveloppement	42
2.1. Les facteurs hormonaux	42
2.2. L'alimentation et le statut métabolique maternels.....	46
2.3. Les périodes critiques d'influence	48

Chapitre 2. Microbiote intestinal du descendant : mise en place et facteurs influçant sa composition	54
---	-----------

A) Mise en place du microbiote intestinal du descendant	55
--	-----------

1. Naît-on stérile ?	55
2. Etablissement du microbiote intestinal et de ses capacités métaboliques	55
2.1. Mise en place du microbiote intestinal humain.....	56
2.2. Mise en place du microbiote intestinal du rat.....	57

B) Facteurs influçant la composition du microbiote intestinal du descendant	59
--	-----------

1. Les microbiotes maternels	59
1.1. Le microbiote intestinal	59
1.2. Le microbiote vaginal.....	62

1.3. Le microbiote associé au lait maternel.....	65
2. Importance des microbiotes maternels vaginal et associé au lait dans la mise en place du microbiote intestinal du descendant	69
2.1. Importance du microbiote vaginal dans la mise en place du microbiote intestinal du descendant.	69
2.2. Importance du lait maternel dans la mise en place du microbiote intestinal du descendant.	70
3. Facteurs intrinsèques influençant la composition des microbiotes maternels	72
3.1. Influence des hormones sexuelles.....	72
3.2. Influence de l'indice de masse corporelle et du gain de poids.	74
4. Facteurs nutritionnels influençant la composition des microbiotes maternels ou du microbiote intestinal du descendant	74
4.1. Influence du régime alimentaire maternel.	75
4.2. Influence des antibiotiques	76
4.3. Influence des bactéries dites « probiotiques »	77
4.4. Influence des agents dits « prébiotiques »	80

Chapitre 3 : Interactions microbiote-hôte 87

A) Influence du microbiote intestinal sur la physiologie de l'hôte	87
1. Diversité du microbiote intestinal, marqueur de la santé de l'hôte.....	87
2. Influence du microbiote sur le métabolisme de l'hôte	88
2.1. Microbiote intestinal et apport d'énergie à l'hôte.....	88
2.2. Microbiote intestinal et homéostasie glucidique	88
2.3. Microbiote intestinal et homéostasie lipidique.....	89
3. Influence du microbiote intestinal sur les fonctions gastro-intestinales.....	90
3.1. Microbiote, développement et survie de l'épithélium intestinal	90
3.2. Microbiote et fonction de barrière	92
3.3. Microbiote et fonction endocrine.....	93
4. Production de métabolites bactériens et implications pour l'hôte	96
4.1. Production d'acides gras à chaîne courte.....	96
4.2 Production de neurotransmetteurs.....	104
4.3 Production d'acides biliaires secondaires.....	106
5. Influence du microbiote intestinal sur le système immunitaire	107
5.1. Microbiote et système immunitaire intestinal.....	108
5.2. Microbiote et système immunitaire général.....	96
6. Influence de l'hôte sur la composition du microbiote intestinal	114
6.1. Influence du système immunitaire sur le microbiote intestinal.....	96
6.2. Influence de la génétique que le microbiote intestinal.....	115

B) Influence du microbiote intestinal sur le comportement et le fonctionnement neuronal de l'hôte	118
1. Le microbiote intestinal influence le comportement de l'hôte	118
1.1. Comportement social	118
1.2. Anxiété, stress et locomotion	119
1.3. Cognition et apprentissage	1211
1.4. Comportement alimentaire	1222
2. Le microbiote intestinal influence la structure et le fonctionnement cérébral de l'hôte	125
2.1. Le microbiote influe sur le fonctionnement de l'hypothalamus	125
2.2. Le microbiote influe sur le fonctionnement de l'hippocampe	126
2.3. Le microbiote influe sur le fonctionnement de l'amygdale	127
2.4. Le microbiote influe sur le fonctionnement du tronc cérébral	12727
2.5. Le microbiote influe sur le fonctionnement d'autres populations cellulaires cérébrales	12828

Stratégie..... 133

Chapitre 4. Neonatal consumption of oligosaccharides greatly increases L-cell density without significant consequence for adult eating behaviour 142

1. Introduction	143
2. Materials and Methods	144
3. Results	148
4. Discussion	159
5. Conclusions	163

Chapitre 5. Maternal microbiota transfer programs offspring eating behaviour 178

1. Introduction	179
2. Material and methods	181
3. Results	192
4. Discussion	198
5. Conclusion	204

Discussion générale..... 248

Références bibliographiques 272

Valorisation Scientifique..... 327

Liste des figures

Chapitre 1 : Le comportement alimentaire

- Figure 1.** Schéma d'une coupe transversale d'hypothalamus de rat présentant l'emplacement anatomique des différents noyaux.....17
- Figure 2.** Rôle des neurones ARC^{AgRP/POMC} dans la régulation homéostatique de la prise alimentaire chez le rat.....19
- Figure 3.** Représentation des projections axonales des neurones orexigènes ARC^{AgRP/NPY} et anorexigènes ARC^{POMC/CART} dans les différents noyaux hypothalamiques.....22
- Figure 4.** Le tronc cérébral est un relais permettant la communication bidirectionnelle entre les organes périphériques et le cerveau.....25
- Figure 5.** Interconnexions des différentes zones cérébrales composant le circuit mésocorticolimbique régulant la prise alimentaire.....30
- Figure 6.** Lignage des différentes populations cellulaires cérébrales à partir des cellules progénitrices.....34
- Figure 7.** Stades du neurodéveloppement correspondant à l'apparition des neurones, des astrocytes puis des oligodendrocytes.....34
- Figure 8.** Développement progressif de l'intégration des signaux nutritionnels (gras et sucre) en provenance de la sphère orale par le tronc cérébral.....36
- Figure 9.** Développement progressif de l'intégration des signaux viscéraux par les structures cérébrales *via* le tronc cérébral chez le rongeur.....36
- Figure 10.** Développement des projections axonales du noyau arqué aux autres zones cérébrales impliquées dans la régulation de la prise alimentaire chez le rongeur.....37
- Figure 11.** Développement des projections axonales entre les zones cérébrales composant le circuit hédonique du rongeur.....41
- Figure 12.** Représentation schématique des différentes voies par lesquelles la mère peut influencer le neurodéveloppement de sa descendance.....50

Chapitre 2 : Microbiote intestinal du descendant

- Figure 13.** Différents microbiotes humains avec l'abondance moyenne des phyla dominants qui les composent.....54
- Figure 14.** Profil d'établissement du microbiote intestinal au cours des premiers jours de vie d'un enfant né à terme par voie basse et allaité.....56
- Figure 15.** Vue schématique du développement du microbiote intestinal de l'enfant durant les 3 premières années de vie.....58
- Figure 16.** Genres bactériens les plus identifiés dans les différentes parties du tube digestif.....60
- Figure 17.** Paysage écologique des microbiotes intestinaux humains présentant leur densité en fonction de leur composition en genres bactériens et illustrant les trois entérotypes avec leur genre dominant respectif.....62
- Figure 18.** Variabilité temporelle et inter-individuelle du microbiote vaginal chez la femme.....64
- Figure 19.** Evolution schématique potentielle de la densité de bactéries dans la glande mammaire d'une femme au cours de la lactation.....67

Figure 20. Origine intestinale putative des bactéries associées au lait maternel.....	68
Figure 21. Abondance relative des différents phyla identifiés dans le microbiote intestinal néonatal selon l'âge et l'alimentation reçue.....	71
Figure 22. Alpha-diversité (richesse en taxa) du microbiote vaginal avant et après l'accouchement par voie basse.....	73
Figure 23. Prébiotiques candidats ou reconnus comme tels par l'Association Scientifique Internationale pour les Probiotiques et Prébiotiques (ISAPP).....	80

Chapitre 3 : Interactions microbiote-hôte

Figure 24. Distribution des individus ayant un microbiote pauvre ou riche en gènes selon leur indice de masse corporelle.....	87
Figure 25. Le mucus et son rôle de barrière.....	92
Figure 26. Les cellules épithéliales intestinales sont jointes entre elles par des jonctions serrées, adhérentes ou par des desmosomes	93
Figure 27. Voies d'activation des cellules entéroendocrines par le microbiote intestinal.....	95
Figure 28. Représentation schématique de la synthèse des différents AGCC à partir des fibres alimentaires non digestibles par l'hôte, et des genres bactériens privilégiant chaque voie de synthèse.....	98
Figure 29. Effets pléiotropes des AGCC sur la physiologie de l'hôte.....	99
Figure 30. Le contrôle de la biomasse bactérienne de la lumière intestinale par le système immunitaire de l'hôte, implique la sécrétion d'IgA et d'IgA spécifiques produites par des lymphocytes éduqués dans les plaques de Peyer par les cellules dendritiques, ainsi que la sécrétion de PAMs par les cellules de Paneth).....	109
Figure 31. Dialogue entre microbiote intestinal et système immunitaire de l'hôte).....	110
Figure 32. Production de PAMs par les cellules épithéliales intestinales et les cellules de Paneth suite à la reconnaissance de composés bactériens par les récepteurs TLR (Toll-like receptor) ou NLR (NOD-like receptor).....	110
Figure 33. Voies mécanistiques par lesquelles la dynamique de la population intestinale d' <i>Escherichia coli</i> module le comportement alimentaire de l'hôte.....	122
Figure 34. Résumé des anomalies cérébrales identifiées chez les rongeurs axéniques et donc imputées au microbiote intestinal.....	125
Figure 35. Facteurs modulant la composition du microbiote intestinal et les effets bénéfiques et délétères de cette composition sur l'hôte.....	130
Figure 36. Représentation schématique de l'axe intestin-cerveau et des nombreuses voies qui le compose.....	131

Liste des tableaux

Chapitre 2 : Microbiote intestinal du descendant

Tableau 1. Comparaison de la composition du microbiote vaginal de la femme, de la souris et de la rate non gestantes.....	63
Tableau 2. Estimation du nombre d'espèces / taxa bactériens dans le lait maternel par différentes techniques.....	67
Tableau 3. Caractérisation de la composition du microbiote associé au lait de souris.....	67
Tableau 4. Différences de composition du microbiote intestinal du descendant selon son mode de naissance.....	69

Chapitre 3 : Interactions microbiote-hôte

Tableau 5a. Impacts de l'acétate sur le métabolisme, le système nerveux entérique et le système nerveux central de l'hôte.....	101
Tableau 5b. Impacts du propionate sur le métabolisme, le système nerveux entérique et le système nerveux central de l'hôte.....	102
Tableau 5c. Impacts du butyrate sur le métabolisme, le système nerveux entérique et le système nerveux central de l'hôte.....	103
Tableau 6. Genres bactériens produisant des neurotransmetteurs.....	104
Tableau 7. Principales anomalies du système immunitaire décrites chez la souris axénique par rapport aux souris conventionnelles.....	107
Tableau 8. Exemple de variations des comportements d'anxiété et d'exploration des animaux axéniques comparés aux conventionnels.....	120
Tableau 9. Items relatifs au comportement alimentaire modulés par le microbiote intestinal.....	124

Liste des abréviations

ACTH :

adrenocorticotropin hormone

AGCC : acides gras à chaîne courte

AGCC-R : acides gras à chaîne courte ramifiée

AgRP : *agouti related peptide*

ARC : noyau arqué

BDNF : *brain-derived neurotrophic factor*

CART : *cocaine -amphetamine related peptide*

CCK : cholécystokinine

CEE : cellule entéro-endocrine

CGRP : *calcitonin gene related peptide*

CPF : cortex préfrontal

DOHaD : *developmental origins of health and diseases*

DMN : noyau dorso-médian

DMV : noyau dorso-moteur du nerf vague

FOS : fructo-oligosaccharides

GABA : *gamma-aminobutyric acid*

GLP-1 : *glucagon like peptide -1*

GOS : galacto-oligosaccharides

HED : *high energy diet*

HFD : *high fat diet*

HSD : *high sucrose diet*

IgG/A : immunoglobuline G/A

KO : *knock-out*

LHA : aire latérale de l'hypothalamus

LPS : lipopolysaccharide

MCH : *melanin concentrating hormone*

MCR : *melanocortin receptor*

(m)CST : *(murine) community state type*

MSH : *melanocyte stimulating hormone*

NAc : noyau accumbens

NLR : *NOD-like receptor*

NOD : *nucleotide oligomerization domain receptors*

NPCs : cellules neurales progénitrices

NPY : neuropeptide Y

NTS : noyau du tractus solitaire

PAMs : peptides antimicrobiens

POMC : proopiomélocortine

PVN : noyau paraventriculaire

PBN : noyau parabrachial

PYY : peptide YY

qPCR : *quantitative polymerisation chain reaction*

TLR : *toll-like receptor*

UCP-1 : *uncoupling protein 1*

UFC : unité formant colonie

VMN : noyau ventro-médian

VTA : aire tegmentale ventrale

Avant-propos

Avant-propos

La prévalence des troubles du comportement alimentaire est en constante augmentation. Le nombre de patients diagnostiqués dans le monde est passé de 3,5% dans les années 2000 à environ 8% en 2018 (Galmiche et al., 2019). Ces troubles sont donc un problème de santé publique, notamment du fait de leur association à des complications tant psychologiques que sociales altérant systématiquement la qualité de vie des patients (Pasold et al., 2014; Crowell et al., 2015). Toutefois, le diagnostic, la prise en charge et l'efficacité de certains traitements sont encore insuffisants (Costa and Melnik, 2016; Thompson and Park, 2016; Muzi et al., 2019). C'est pourquoi la prévention des troubles du comportement alimentaire suscite un intérêt croissant et nécessite la connaissance de leur étiologie et de leurs facteurs de risques, dont certains sont déjà connus (Galmiche et al., 2019).

Le genre de l'individu est un facteur de risque important, de même que l'âge (Galmiche et al., 2019). En effet, la prévalence des troubles du comportement alimentaire est plus élevée chez les femmes ainsi qu'à l'adolescence, qui est une période de modulation hormonale et de plasticité cérébrale importante (Kanwal, 2016; Galmiche et al., 2019). La prévalence de ces troubles est également influencée par l'origine géographique des individus, liée à des facteurs intrinsèques à l'hôte tels que la génétique ou le microbiote dont la composition est influencée par des facteurs environnementaux comme le régime alimentaire, ou des facteurs éducationnels tels que les habitudes alimentaires (Galmiche et al., 2019). Il est intéressant de noter que la composition de ce microbiote est influencée par l'ensemble des facteurs ci-dessus (Marteau and Doré, 2017).

Le microbiote intestinal a été identifié dans de multiples travaux comme jouant un rôle clé dans la régulation de la physiologie générale de l'hôte (Marteau and Doré, 2017), ainsi que de son fonctionnement cérébral (Mohajeri et al., 2018; Sudo, 2019b) et de ses comportements (Johnson and Foster, 2018; Ignatova, 2019). Son association avec les troubles du comportement alimentaire est supposée, bien que les liens de causalité restent flous (Glenny et al., 2017; Lam et al., 2017; van de Wouw et al., 2017).

Ainsi, selon le concept de la DOHaD (*Developmental Origins of Health and Disease*), une modulation de la composition du microbiote intestinal en période néonatale, fenêtre temporelle critique de neurodéveloppement et de l'établissement du microbiote, pourrait permettre d'apporter des réponses sur le rôle de ce microbiote dans la programmation du comportement alimentaire.

Dans ce contexte et au cours de mon doctorat, deux études ont été réalisées en parallèle.

- La première consiste à caractériser l'impact d'une **supplémentation néonatale en oligosides prébiotiques**, connus pour moduler la prise alimentaire chez l'adulte, sur la **programmation du comportement alimentaire** dans un modèle de rat. Ce travail a été financé par **Olygose**, une entreprise privée développant des agents prébiotiques et a fait l'objet d'une publication dans le journal *Nutrients* en 2019.

- Le projet **MAMMIPROOFFI** (*MA*ternal *MI*crobiota *PRO*grams *OFF*spring *FO*od *I*ntake) consiste à démontrer, dans un modèle de rat :

- l'impact d'un **transfert de microbiotes maternels** associés à des phénotypes métaboliques différents sur le **neurodéveloppement** et le **comportement alimentaire** des descendants

- d'identifier les **espèces bactériennes** ou gènes bactériens associé(e)s aux possibles modulations observées chez les descendants

- de prouver le **rôle causatif** de ces espèces bactériennes dans l'altération du neurodéveloppement et/ou du comportement alimentaire des descendants

Ce projet est financé par **l'ANR** (n°ANR-16-CE14-0003-01) et réalisé au sein de **l'UMR 1280 PhAN** (Physiopathologies des Adaptations Nutritionnelles) associant l'INRA et l'Université de Nantes, en collaboration avec :

- **MétaGénoPolis** à Jouy-en-Josas (Paris), plateforme de métagénomique quantitative et fonctionnelle, incluse dans le programme d'Investissement d'Avenir. Ce partenaire a réalisé le séquençage métagénomique et l'analyse de la composition du microbiote intestinal des rats ayant reçu les bactéries des microbiotes maternels.

- et **l'Institut Micalis** à Jouy-en-Josas, UMR 1319 associant l'INRA et AgroParisTech. Ce partenaire a caractérisé certains aspects du neurodéveloppement comme l'apoptose et la prolifération cellulaire à un stade précoce du développement de rats ayant reçu les bactéries des microbiotes maternels.

Dans ce projet, mon travail de thèse a consisté à :

- Obtenir des bactéries issues des microbiotes maternels après la caractérisation de ceux-ci par le séquençage de l'ADNr 16S

- Transférer ces bactéries à des rats dès leur naissance

- Caractériser l'impact de ces transferts sur le comportement alimentaire de ces rats à l'âge adulte.

Une partie de ce travail, présentée dans ce mémoire, est en cours de soumission au journal *Frontiers in Microbiology* et fera partie d'un dossier spécial sur «L'établissement du microbiote dans le contexte de la DOHaD : Conséquence à long terme et gestion possible».

Ce mémoire de thèse est structuré en cinq chapitres. Les trois premiers constituent un état de l'art concernant le comportement alimentaire, le microbiote intestinal et ses interactions avec l'hôte. Les deux derniers chapitres correspondent aux résultats expérimentaux obtenus pour chacune des deux stratégies de modulation du microbiote intestinal néonatal.

Le premier chapitre introduit le comportement alimentaire. Une première partie traite de sa régulation à l'âge adulte par les circuits homéostatique et hédoniques. La seconde partie est dédiée à la mise en place de ce comportement alimentaire au cours du développement, ainsi qu'à certains facteurs d'influence pré- et postnataux.

Le second chapitre traite du microbiote intestinal du descendant, notamment de sa mise en place de ce microbiote et des multiples facteurs influençant sa composition, tels que des facteurs maternels et nutritionnels.

Le troisième chapitre décrit les interactions du microbiote intestinal avec l'hôte, notamment sa physiologie générale. Une seconde partie traite plus particulièrement de l'influence du microbiote intestinal sur le fonctionnement du système nerveux central et sur le comportement.

Le quatrième chapitre présente les résultats expérimentaux obtenus dans le cadre de la première étude utilisant des d'oligosides prébiotiques en période néonatale pour moduler la composition du microbiote intestinal de rats.

Le cinquième et dernier chapitre présente les résultats expérimentaux obtenus dans le cadre du projet MAMIPROOFI utilisant un transfert dès la naissance de bactéries maternelles pour moduler la composition du microbiote intestinal de rats.

Les principaux résultats obtenus lors de ces deux travaux sont ensuite discutés au vu des connaissances scientifiques actuelles. Les perspectives concernant l'approfondissement des connaissances sur le rôle du microbiote intestinal dans la programmation du comportement alimentaire sont également exposées.

Une dernière partie présente les différentes valorisations de ce travail de thèse en termes d'articles scientifiques, ainsi que de communications orales ou posters réalisés lors de congrès.

ETAT DE L'ART

Chapitre 1

**Le comportement
alimentaire**

Chapitre 1. Le comportement alimentaire

La prise alimentaire est un processus biologique complexe débutant par l'intégration de signaux internes révélateurs d'un déficit énergétique, suivi de processus moteurs et cognitifs permettant la recherche, le choix, puis l'ingestion de nourriture. Le repas cesse lorsque les signaux de satiété apparaissent et que les réserves de nutriments sont à nouveau satisfaisantes. L'ensemble est régulé à court et long termes par des signaux centraux et périphériques, de nature peptidique, nerveuse, hormonale, ou encore par les nutriments eux-mêmes. Au cours de la journée l'alternance de phase de prise alimentaire et de jeûne permet l'équilibre entre les apports et les dépenses énergétiques et donc le maintien constant de la balance énergétique de l'individu. Bien que l'équilibre de cette balance chez les mammifères soit très performant lorsqu'il s'agit de corriger un déficit énergétique, il l'est beaucoup moins en cas de surplus d'énergie, en lien avec la pandémie d'obésité et ses comorbidités (Liu et Kanoski, 2018).

Le comportement alimentaire inclut non seulement la prise alimentaire mais également les notions de choix, de motivation, de pratiques et de régimes alimentaires, ainsi que d'émotion et d'apprentissage. Sont également inclus les problèmes qui lui sont liés comme l'obésité ou les troubles du comportement alimentaire (boulimie, hyperphagie, *binge-eating*, anorexie nerveuse, orthorexie, phobie, pica, ...) (LaCaille et al., 2013).

A) La régulation du comportement alimentaire chez l'adulte

La régulation du comportement alimentaire implique deux grands systèmes neuronaux selon les structures neuronales impliquées et les fonctions comportementales qu'elles régulent : la régulation homéostatique et la régulation non-homéostatique ou hédonique (Berthoud, 2006; Liu et Kanoski, 2018). Les circuits homéostatiques répondent au statut énergétique de l'individu et regroupent deux structures clés : l'hypothalamus et le tronc cérébral, chacun divisé en plusieurs noyaux. Le circuit non-homéostatique, encore appelé circuit hédonique, ou circuit de la récompense, est quant à lui associé à diverses fonctions telles que l'apprentissage, la mémoire et la prise de décision, ainsi que la mise en place de processus cognitifs complexes basés sur des expériences précédentes et l'aspect hédonique des aliments. Il est composé de 2 voies dopaminergiques regroupant différentes structures : le cortex, l'hippocampe, l'aire tegmentale ventrale (VTA) et le noyau accumbens (NAc) et l'aire latérale de l'hypothalamus (LHA) (Liu et Kanoski, 2018). Ces aires cérébrales jouent un rôle principal dans la régulation du comportement alimentaire mais également dans d'autres composantes moins spécifiques intervenant

dans ce comportement. Par exemple, un animal ayant faim, verra sa vigilance, sa locomotion et sa réponse aux stimuli alimentaires augmentées, améliorant ses chances de trouver de la nourriture (Saper et Lowell, 2014). Nous nous focaliserons ci-dessous plus particulièrement sur les fonctions intégrant les signaux d'appétit, de satiété et de motivation à obtenir de la nourriture.

1. La régulation homéostatique

1.1. L'hypothalamus et ses noyaux : centre intégrateur de l'homéostasie énergétique

L'hypothalamus a un rôle essentiellement intégratif. Il reçoit et analyse un ensemble complexe de signaux nécessaires à la régulation de fonctions physiologiques de base comme la thermorégulation, l'alternance veille-sommeil, la reproduction et la lactation, la réponse au stress et l'alimentation. Le traitement de ces signaux induit des réponses autonomes, endocrines et comportementales permettant le maintien des paramètres internes idéaux de l'individu : l'homéostasie. Son rôle dans la régulation de la prise alimentaire et des dépenses énergétiques est connu depuis les années 1940 avec la publication de nombreux travaux utilisant l'ablation ou la lésion de sites hypothalamiques spécifiques pour en déterminer les fonctions. Ainsi, le noyau arqué (ARC), le noyau ventro-médian (VMN) et le noyau para-ventriculaire (PVN) régulent négativement la prise alimentaire et le gain de poids, contrairement à l'aire latérale de l'hypothalamus (LHA) et au noyau dorso-médian (DMN) qui les régulent positivement (Anand et Brobeck, 1951; Bellinger et Bernardis, 2002; Brobeck, 1946; Hetherington et Ranson, 1983; Leibowitz et al., 1981) (fig.1).

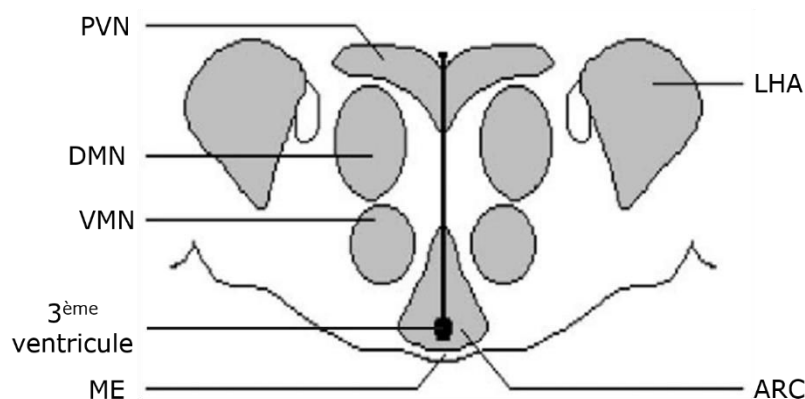


Figure 1. Schéma d'une coupe transversale d'hypothalamus de rat présentant l'emplacement anatomique des différents noyaux. PVN : noyau para-ventriculaire, DMN : noyau dorso-médian, VMN : noyau ventro-médian, ME : éminence médiane, ARC : noyau arqué, LHA : aire latérale de l'hypothalamus. Issue de Williams et al. (2001).

L'interaction entre ces différentes zones cérébrales permet la régulation de l'appétit à court-terme, de l'ordre de quelques minutes pour l'exécution d'un repas, mais également à long-terme (plusieurs jours) pour le maintien de l'homéostasie énergétique. L'hypothalamus intègre directement les signaux hormonaux tels que la ghréline, orexigène, sécrétée par la paroi stomacale en situation de jeûne, ainsi que la leptine produite par le tissu adipeux blanc et les hormones pancréatiques insuline, amyline et glucagon, anorexigènes (Barsh and Schwartz, 2002; Abraham and Lam, 2016). Les neurones qui le composent sont également sensibles aux nutriments tels que le glucose, les lipides, ou encore les acides aminés renseignant sur le statut énergétique de l'individu (pour revues voir Bady et al., 2006; Migrenne et al., 2011; Tsurugizawa et al., 2014).

Le noyau arqué et le système à mélanocortine. L'ARC joue un rôle prédominant dans la régulation de la prise alimentaire (Seeley et Woods, 2003). Situé dans la partie médio-basale de l'hypothalamus, il est en contact étroit avec l'éminence médiane et ses capillaires semi-perméables, localisés dans une zone où la barrière hémato-encéphalique est incomplète. Il intègre donc directement des signaux périphériques véhiculés par le sang renseignant sur le statut énergétique de l'individu (Rodríguez et al., 2010), avant de relayer ces informations aux autres noyaux. Ces signaux peuvent être de nature hormonale (leptine, insuline, amyline, ghréline) ou nutritionnelle (glucose, acides gras, acides aminés, protéines) (Schwartz et al., 2000).

Deux populations distinctes et antagonistes de neurones ont été identifiées dans l'ARC : les neurones orexigéniques $ARC^{AgRP/NPY}$, endémiques et co-exprimant les neuropeptides NPY (*neuropeptide Y*) et AgRP (*Agouti-related peptide*), et les neurones anorexigéniques $ARC^{POMC/CART}$ co-exprimant POMC (*pro-opiomelanocortin*) et CART (*cocaine- et amphetamine-regulated transcript*) dans sa partie latérale (Ross et Desai, 2014). Ces deux populations de neurones, leurs interactions sur leurs cibles *via* les neuropeptides qu'ils libèrent et leurs récepteurs forment le système mélanocortinergique qui joue un rôle important dans la régulation de l'homéostasie énergétique (Cone, 2006) (fig.2). L'ARNm du pré-propeptide POMC est clivé en différents produits dérivés : l' α -, β et γ -MSH (*melanocyte stimulating hormone*) dont seule l' α -MSH est présente chez les rongeurs, l'ACTH (*adrenocorticotropin hormone*) impliquée dans la régulation du stress, et la β -endorphine. Les différents peptides MSH se fixent sur leurs récepteurs MCRs (*melanocortin receptors*), au nombre de cinq isoformes, parmi lesquelles les formes MC3R et MC4R jouent un rôle prépondérant dans la régulation de la prise alimentaire (Fan et al., 1997). Outre le cerveau, ces récepteurs sont également présents dans l'ensemble des organes de l'organisme. Les expérimentations basées sur la délétion de l'un ou des deux récepteurs induisent non seulement une altération de la prise alimentaire, mais également des altérations de diverses fonctions physiologiques comme la thermogenèse, le maintien

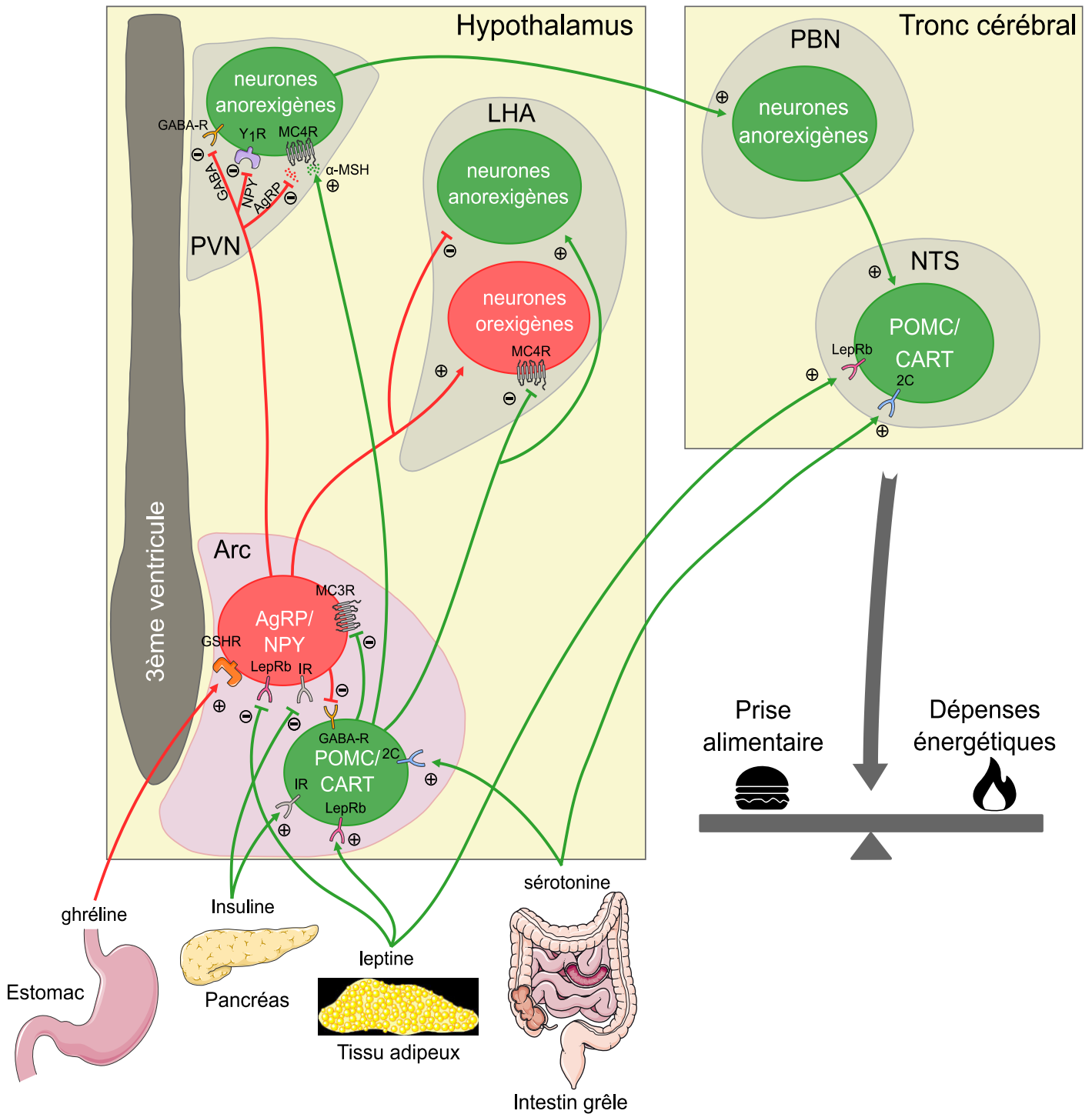


Figure 2. Rôle des neurones ARC^{AgRP/POMC} dans la régulation homéostatique de la prise alimentaire chez le rat. D'après Authesserre et al. (2009) et Gross et al. (2009). Les neurones ARC^{AgRP/NPY} inhibent le PVN, certaines populations neuronales anorexigènes de la LHA ainsi que les neurones ARC^{POMC/CART}, déclenchant l'ingestion de nourriture. Les neurones ARC^{POMC/CART} inhibent les neurones ARC^{AgRP/NPY} et activent les zones anorexigènes (PVN et LHA). Les noyaux de l'hypothalamus transmettent des signaux au tronc cérébral (PBN et NTS) qu'il transmet aux organes périphériques. Il existe également un flux d'informations inverse dans lequel le tronc cérébral intègre des signaux périphériques qu'il fait remonter à l'ARC, détaillé dans la partie 1.2. de ce chapitre.

LHA : aire latérale de l'hypothalamus ; ARC : noyau arqué ; PBN : noyau parabrachial ; NTS : noyau du tractus solitaire ; GABA-R : récepteur au neurotransmetteur GABA ; Y1R : récepteur au NPY ; MC4R : récepteur à l' α -MSH ; α -MSH : alpha-melanocyte stimulating hormone ; LepRb : récepteur de type b à la leptine ; 2C : récepteur de type 2C à la sérotonine ; GHS-R : récepteur de la ghréline ; IR : récepteur à l'insuline

de la glycémie, la répartition des nutriments, le métabolisme lipidique ou encore les fonctions cardiovasculaires (pour revue voir (Chagnon et al., 1997; Renquist et al., 2011; Girardet and Butler, 2014; Panaro et al., 2014; You et al., 2016)).

Les neurones $ARC^{AgRP/NPY}$ stimulent la prise alimentaire lorsqu'ils sont activés par la ghréline qui se fixe sur ses récepteurs neuronaux GHS-R (*growth hormone secretagogue receptor*) (pour revue voir Sakata et Sakai, 2010). A l'inverse, ces neurones sont directement inhibés par l'augmentation des concentrations en hormones et peptides périphériques anorexigènes, comme la leptine, l'insuline et l'amyline (pour revues voir Barsh et Schwartz, 2002; Lutz, 2010) (fig.2). Lorsque les neurones $ARC^{AgRP/NPY}$ sont activés, ils libèrent le neurotransmetteur GABA (acide gamma-aminobutyrique) (Kelly et Grossman, 1979) et les neuromodulateurs AgRP (Ollmann et al., 1997) et NPY (Clark et al., 1984), connus pour augmenter rapidement la prise alimentaire lorsqu'ils sont injectés dans le cerveau et induire une obésité (Clark et al., 1984; Flier, 2006; Kelly et Grossman, 1979; Ollmann et al., 1997). Cet effet sur le comportement alimentaire est proportionnel à la quantité de neurones $ARC^{AgRP/NPY}$ activés et à la fréquence de leur excitation (Aponte et al., 2011). Outre la survenue rapide de l'hyperphagie, l'activation des neurones $ARC^{AgRP/NPY}$ induit également une diminution des dépenses énergétiques et facilite le stockage des lipides (Krashes et al., 2011). Lorsqu'ils sont inhibés, la prise alimentaire est réduite même en situation de déficit énergétique ou de jeûne physiologique (Aponte et al., 2011; Krashes et al., 2011). L'ablation complète et sélective de ces neurones chez le rongeur adulte entraîne une aphasie pouvant aller jusqu'à la mort de l'animal (Luquet, 2005). Ces neurones sont donc des éléments clés de la régulation de la prise alimentaire. Des études récentes indiquent que le signal AgRP possède une valence négative. En effet, l'activation ciblée de ces neurones lorsque les souris sont en présence d'une odeur ou d'un lieu particulier induit un apprentissage d'évitement de ces stimuli. Le signal AgRP pourrait alors favoriser la prise alimentaire en motivant l'animal à supprimer ce signal (Betley et al., 2015; pour revue voir Sternson et Eiselt, 2017).

La régulation de la prise alimentaire suite à l'activation des neurones $ARC^{AgRP/NPY}$ s'effectue selon deux circuits différents. Le premier est extra-ARC et concerne le relargage de NPY et GABA dans les espaces synaptiques des neurones du PVN. Le second est intra-ARC et correspond à l'inhibition des neurones $ARC^{POMC/CART}$ par le relargage de GABA (Cowley et al., 2001; Atasoy et al., 2012) (fig.2). Concernant le premier circuit, le relargage de NPY et GABA dans le PVN doit être simultanément pour être effectif et induire une brusque hyperphagie. En effet, l'hyperphagie n'est plus observable après l'utilisation d'un antagoniste du récepteur à NPY (NPY-1R) ou du récepteur au GABA ($GABA_A$ -R) dans le PVN (van den Top et al., 2004; Atasoy et al., 2012). Cet effet sur la prise alimentaire est rapide

et ne perdure que sur quelques heures (Krashes et al., 2011), participant à la régulation à court-terme de la prise alimentaire. Cette inhibition très efficace des neurones du PVN par le NPY et le GABA est nécessaire et suffisante pour médier le changement de comportement chez l'individu. En effet, lorsqu'on active les neurones $ARC^{AgRP/NPY}$ mais aussi les récepteurs MCRs du PVN qu'ils inhibent, il n'y a plus d'altération de la prise alimentaire (Atasoy et al., 2012). Qian et son équipe ont démontré par des KO génétiques $AgRP^{-/-}$, $NPY^{-/-}$ et $AgRP^{-/-}NPY^{-/-}$ qu'aucun de ces modèles ne présentait d'altération de la prise alimentaire ou de la prise de poids, indiquant l'existence de circuits compensateurs, notamment dans l'aire latérale de l'hypothalamus (LHA) qui produit de la MCH (*melanin concentrating hormone*) (Qian et al., 2002), un neuropeptide orexigène majeur (Saper et al., 2002) (fig.2). Contrairement aux neurones $ARC^{AgRP/NPY}$ qui transmettent un signal de valence négative, les neurones du PVN transmettraient un signal de valence positive (pour revue voir Sternson et Eiselt, 2017).

Le deuxième circuit de régulation de la prise alimentaire par les neurones $ARC^{AgRP/NPY}$ est intra-ARC et correspond à l'inhibition des neurones $ARC^{POMC/CART}$ par le relargage de GABA (Cowley et al., 2001; Atasoy et al., 2012) (fig.2). Il s'agit d'une régulation à long-terme de l'homéostasie énergétique puisque la modulation de l'activation des neurones $ARC^{POMC/CART}$ n'a pas d'effet sur le pic rapide d'hyperphagie induit par l'activation des neurones $ARC^{AgRP/NPY}$ (Krashes et al., 2013; Zhan et al., 2013). L'activation de ces neurones $ARC^{POMC/CART}$ notamment par la leptine (Cowley et al., 2001) et l'insuline (Shin et al., 2017) induit la suppression de la prise alimentaire, la perte de poids et l'augmentation des dépenses énergétiques (Berglund et al., 2012; Zhan et al., 2013). Cette réponse comportementale provient de la libération de l' α -MSH par les neurones $ARC^{POMC/CART}$ puis de sa fixation à ses récepteurs MC3Rs et MC4Rs présents sur des neurones situés à de nombreux endroits du système nerveux central, dont les neurones $ARC^{AgRP/NPY}$ et $ARC^{POMC/CART}$, les neurones du PVN, de la LHA (fig.3) et du noyau du tractus solitaire (NTS) dans le tronc cérébral (Bronstein et al., 1992; Girardet et Butler, 2014). Dans l'ARC, l'activation des récepteurs MC3/4Rs doit être chronique pour engendrer une diminution de la prise alimentaire (Zhan et al., 2013), confirmant le rôle de ce circuit dans la régulation homéostatique à long terme de la prise alimentaire. En plus de l'inhibition des neurones $ARC^{POMC/CART}$ par les neurones $ARC^{AgRP/NPY}$, le neuropeptide AgRP est un antagoniste des récepteurs MC3Rs et MC4Rs, bloquant les signaux transmis par l' α -MSH. Cependant, Aponte et son équipe ont démontré par des modèles de délétion génétique que l'inhibition de ces récepteurs par AgRP n'était pas nécessaire pour l'induction d'une hyperphagie par les neurones AgRP (Aponte et al., 2011), indiquant une redondance avec le NPY et le GABA.

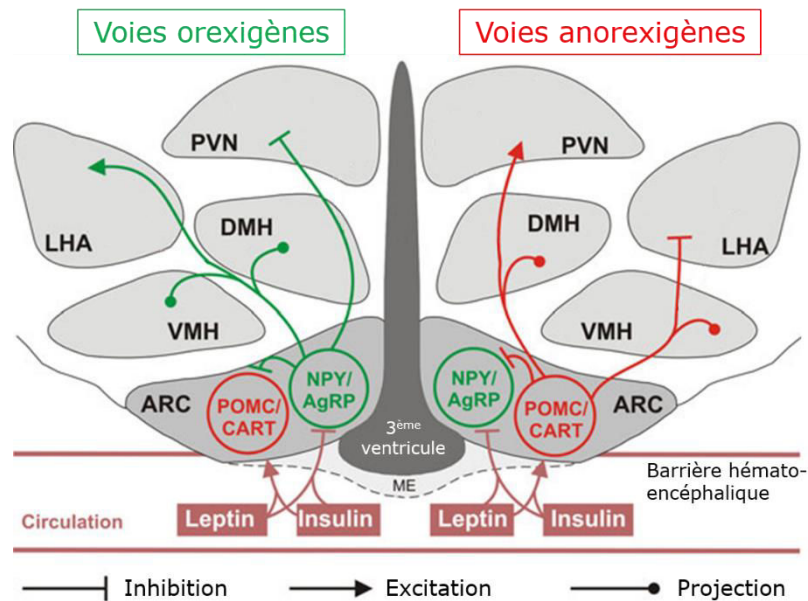


Figure 3. Représentation des projections axonales des neurones orexigènes $ARC^{AgRP/NPY}$ et anorexigènes $ARC^{POMC/CART}$ dans les différents noyaux hypothalamiques. D'après Prior et al. (2010). PVN : noyau paraventriculaire ; LHA : aire latérale de l'hypothalamus ; DMH : noyau dorsomédian ; VMH : noyau ventromédian ; ARC : noyau arqué ; ME : éminence médiane ; POMC : proopiomelanocortine ; CART : cocaïne- et amphetamine-regulated transcript ; NPY : neuropeptide Y ; AgRP : agouti-related peptide.

Il existerait deux sous-populations de neurones $ARC^{POMC/CART}$, l'une exprimant le récepteur à la leptine LepR, l'autre celui à la sérotonine (2C ou 5-HT2CRs) (Sohn et al., 2011). Selon cette équipe, l'effet anorexigénique serait induit par la fixation de la sérotonine sur les neurones à POMC, tandis que la fixation de la leptine serait associée à l'augmentation des dépenses énergétiques. Suite à la fixation de la leptine, la libération d' α -MSH par les neurones $ARC^{POMC/CART}$ active les neurones du PVN, directement par leurs récepteurs MC3/4s ou indirectement *via* le noyau ventro-médian (VMN). Cette activation bloque le signal orexigène qu'ils reçoivent des neurones $ARC^{AgRP/NPY}$. Ce signal est ensuite transmis aux neurones sympathiques de la moelle épinière (Sohn, 2015) et induit une augmentation des dépenses énergétiques (hausse de la température corporelle et de la consommation d'oxygène) (Skibicka et Grill, 2009). La délétion des récepteurs LepRb spécifiquement dans les neurones à POMC n'augmente pas la prise alimentaire et leur réactivation dans un modèle LepRb-KO spécifiquement dans les neurones à POMC n'inhibe pas l'hyperphagie des souris (Sohn, 2015). Ces deux populations de neurones à POMC (sensibles à la sérotonine ou à la leptine) sont également retrouvées dans le tronc cérébral où elles participent également à la régulation de la prise alimentaire.

Au-delà de cet effet orexigène (direct ou indirect), les neurones $ARC^{AgRP/NPY}$ augmentent également de façon très importante la motivation à accomplir une tâche pour de la nourriture en agissant préférentiellement sur la LHA (Krashes et al., 2011; Atasoy et al., 2012). L'activité des neurones $ARC^{AgRP/NPY}$ et $ARC^{POMC/CART}$ est également modulée par

des informations relatives à la palatabilité des aliments (Chen et al., 2015). De plus, l'activité des neurones ARC^{AgRP/NPY} diminue rapidement non seulement en réponse à un repas, mais aussi suite à la présence de signaux associés par conditionnement à la nourriture (Betley et al., 2015). Les neurones ARC^{AgRP/NPY} ne contrôleraient donc pas directement l'ingestion de nourriture, mais faciliteraient les processus de recherche et d'obtention d'aliments, ou bien auraient un rôle double, à la fois homéostatique et non-homéostatique (Liu et Kanoski, 2018).

Le noyau ventro-médian (VMN). Le rôle du VMN dans la régulation de la prise alimentaire a été identifié d'après le travail d'Hetherington et de Ranson (Hetherington et Ranson, 1983) dans lequel une lésion bilatérale de cette zone induit une hyperphagie et une obésité, associées à une dérégulation du métabolisme lipidique et une diminution de l'activité durant la période active (Brobeck, 1946). Par la suite, l'implication du VMN a été caractérisée dans la régulation de la glycémie et de la balance énergétique, *via* ses connexions neuronales avec le système nerveux sympathique régulant notamment la libération d'insuline par le pancréas, plutôt que par une régulation directe du comportement alimentaire (pour revue voir King, 2006). En effet, 25 à 45% des neurones le composant répondent aux concentrations circulantes de glucose (King, 2006) et la majorité des neurones répondant au glucose sont présents dans le VMN (Ono, 2019). L'injection de leptine dans le VMN de rats nourris *ad libitum* provoque une augmentation du stockage du glucose dans les muscles squelettiques, le tissu adipeux brun et le cœur (Toda et al., 2009), potentialisée par l'insuline et supprimée par l'ablation des innervations sympathiques (Haque et al., 1999).

Le rôle de la leptine dans la régulation de la thermogenèse, et donc des dépenses énergétiques, est dépendant de ces neurones sensibles au glucose. Les souris génétiquement déficientes pour le gène codant le transport de glucose GLUT2 au niveau neuronal sont intolérantes au froid (Mounien et al., 2010). Cette délétion dans le VMN rend les souris hyperphagiques (Bady et al., 2006) et altère l'expression du gène UCP-1 (*uncoupling protein-1*) dans le tissu adipeux brun, diminuant la production de chaleur, et altère également la sensibilité des neurones de l'ARC à la leptine. Le glucose régulerait donc la thermorégulation et la sensibilité des neurones de l'ARC à la leptine. Cette régulation s'effectue par les neurones sensibles au glucose dans le VMN, bien qu'il en existe également dans la LHA, et le tronc cérébral (Mounien et al., 2010).

Les récepteurs MCRs sont également impliqués dans la régulation de la glycémie par le VMN, puisque le blocage de ceux-ci par l'injection d'un antagoniste supprime l'augmentation de stockage du glucose dans les tissus périphériques normalement attendue après une injection de leptine (Toda et al., 2009). Le signal médié par les MCRs diminue l'expression du BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*), neurotransmetteur

anorexigène fortement synthétisé dans le VMN (Xu et al., 2003a). Ce neurotransmetteur, premièrement étudié pour son rôle dans le développement du système nerveux, joue un rôle dans la régulation de la prise alimentaire, ainsi que dans celle des dépenses énergétiques en augmentant la locomotion (Kernie et al., 2000).

Le noyau dorso-médian. Une lésion du DMN induit une réduction de la prise alimentaire et hydrique associée à une perte de poids. Longtemps considéré comme un simple relais des informations en provenance de l'ARC, ce noyau aurait également un rôle direct dans le contrôle de la prise alimentaire via ses neurones sensibles à la glycémie (Bellinger et Bernardis, 2002; Zhu et al., 2007). Dans le modèle de rats obèses Zucker^(fa/fa) génétiquement déficients pour le récepteur à la leptine, l'activation du DMN favorise l'activité physique et diminue la prise alimentaire et le poids des animaux (Zhang et al., 2018).

L'aire latérale de l'hypothalamus. La LHA est à la croisée des circuits homéostatiques et hédoniques, en faisant une des zones hypothalamiques les plus connectées et un centre prédominant dans la régulation de la prise alimentaire. Elle contient à la fois des neurones orexigènes libérant les neuropeptides MCH ou orexine, et des neurones anorexigènes libérant du CART ou de la neurotensine. Ces deux populations neuronales libèrent également les neurotransmetteurs excitateur (glutamate) et inhibiteur (GABA). Ils reçoivent des projections des neurones ARC^{AgRP/NPY} qui inhibent les neurones anorexigènes et activent ceux orexigènes, ainsi que des projections ARC^{POMC/CART} induisant des signaux opposés. La stimulation des neurones inhibiteurs de ce noyau libère du GABA et favorise la prise alimentaire et est gratifiant, tandis que sa lésion ou la stimulation des neurones excitateurs libère du glutamate, réduit la prise alimentaire et induit des comportements d'aversion (pour revue voir Sternson et Eiselt, 2017). Cependant, la stimulation de cette zone influence d'autres comportements que celui alimentaire, comme la prédation, le mordillement ou la reproduction. Plus que l'alimentation, la LH joue un rôle dans le renforcement positif des comportements et influence le niveau de récompense des aliments (Sternson et Eiselt, 2017).

L'hypothalamus, et en particulier le noyau arqué, joue un rôle central dans la régulation homéostatique de la prise alimentaire. Il intègre des signaux hormonaux, peptidiques et moléculaires en provenance de la périphérie et des autres zones cérébrales, le renseignant sur le statut métabolique. Selon l'excès ou le déficit en nutriments, les neurones de l'hypothalamus participent au maintien de l'homéostasie énergétique en favorisant ou inhibant la prise alimentaire et les dépenses énergétiques de l'individu.

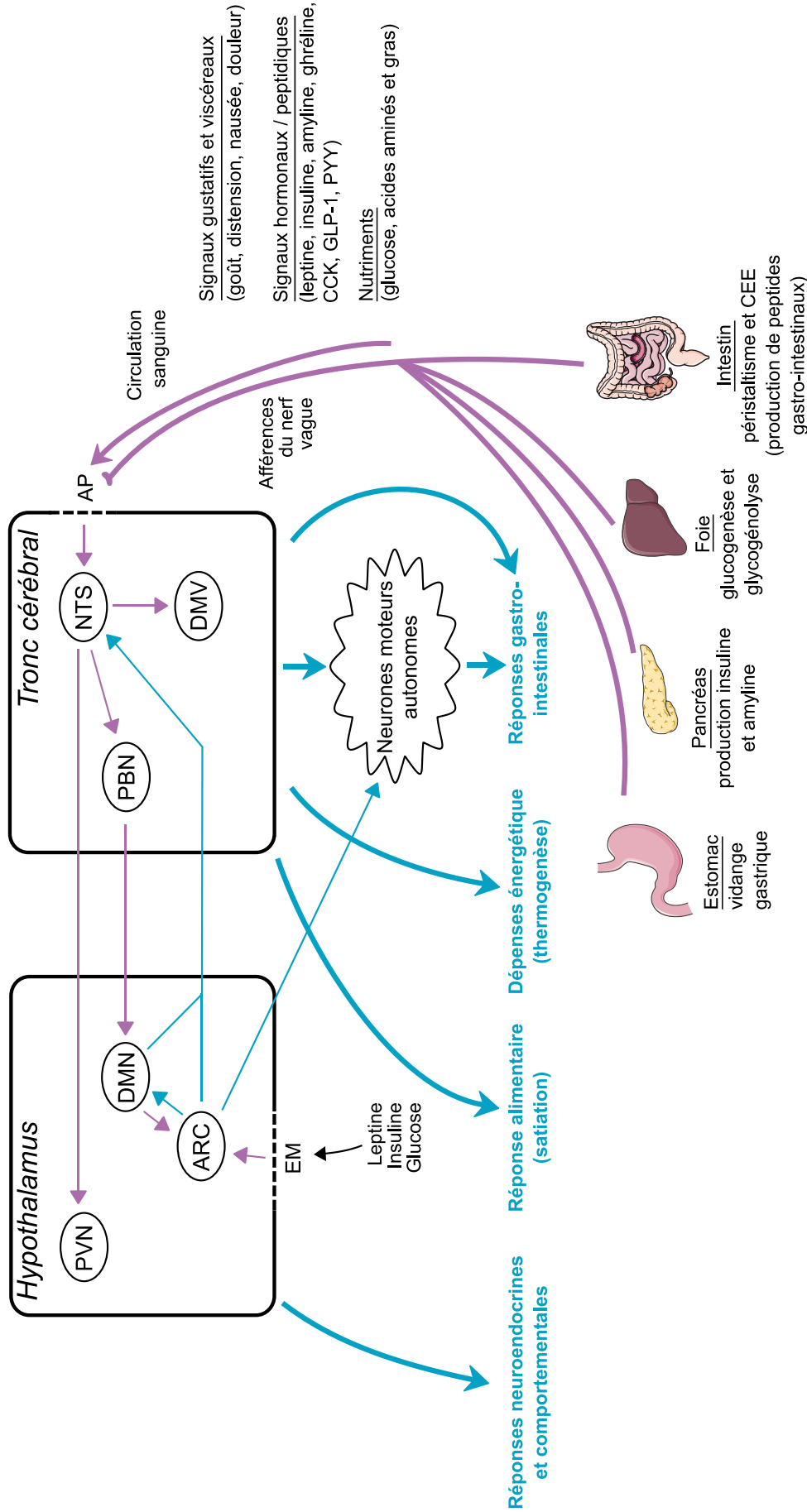


Figure 4. Le tronc cérébral est un relais permettant la communication bidirectionnelle entre les organes périphériques et le cerveau. Il intègre des signaux nerveux, hormonaux, peptidiques, ainsi que relatifs à la présence de nutriments (flèches violettes). Il transmet ces signaux aux structures cérébrales régulant la prise alimentaire comme l'hypothalamus. Celui-ci y répond par des signaux neuroendocrines en direction d'autres zones cérébrales, dont le tronc cérébral (flèches bleues). L'ensemble de ce processus cérébral participe à la régulation du comportement alimentaire et des dépenses énergétiques, permettant le maintien de l'homéostasie. PVN : noyau paraventriculaire ; DMN : noyau dorsomédian ; ARC : noyau arqué ; PBN : noyau parabrachial ; NTS : noyau du tractus solitaire ; DMV : noyau moteur dorsal du nerf vague ; CCK : cholecystokinine ; GLP-1 : glucagon-like peptide1 ; PYY : peptide YY ; EM : éminence médiane ; AP : area postrema ; CEE : cellules entéro-endocrines

1.2. Le tronc cérébral et ses noyaux : centre intégrateur des signaux centraux et périphériques

Le tronc cérébral, notamment le noyau parabrachial (PBN), le noyau du tractus solitaire (NTS) et le noyau moteur dorsal du nerf vague (DMV), jouent un rôle important dans le traitement et l'intégration des signaux associés à la prise alimentaire et à la balance énergétique, particulièrement en ce qui concerne la durée des repas et la thermogénèse (Liu et Kanoski, 2018) (fig.4). L'induction d'un arrêt de prise alimentaire chez des rats décérébrés indique que le tronc cérébral induit le rassasiement par voie réflexe (Grill and Norgren, 1978).

Le NTS et le DMV. De la même façon que l'ARC est proche d'une zone d'échanges facilités avec le sang, le NTS jouxte l'area postrema, une seconde zone de perméabilité accrue de la barrière hématoencéphalique. Ce noyau est également étroitement connecté avec les afférences du nerf vague. Ensemble, la voie endocrine et la voie nerveuse font du NTS le premier site neuroanatomique à recevoir directement des informations de diverses natures en provenance de la périphérie renseignant sur le statut énergétique de l'organisme (Schwartz, 2006). Les signaux provenant de la circulation sanguine sont par exemple la présence de nutriments comme le glucose (Verberne et al., 2014), les acides aminés (Tsurugizawa et al., 2014), ou les acides gras (Migrenne et al., 2011), ou de neurotransmetteurs synthétisés en périphérie (sérotonine, histamine, ...) ou encore des hormones (leptine, amyline) (Lutz, 2010). Concernant les signaux nerveux viscéraux, l'activation des mécanorécepteurs dans la paroi stomacale lors de la distension gastrique par exemple, active directement les neurones afférents du nerf vague. Ce signal nerveux viscéral induit la libération de glutamate dans le NTS. Cette distension provoque également la libération de sérotonine par les cellules entérochromaffines du tube digestif, activant le NTS, directement ou indirectement *via* la stimulation des neurones du nerf vague (Grill et Hayes, 2012). De façon similaire à l'ARC, une sous-population des neurones NTS^{POMC/CART} exprime le récepteur 2C à la sérotonine (5HT_{2C}) (Xu et al., 2008). L'activation de ces récepteurs, uniquement dans cette zone cérébrale, suffit à réduire la prise alimentaire à court terme (3 à 5 heures) (D'Agostino et al., 2018). Dans le sens efférent, du cerveau au reste de l'organisme, les neurones prémoteurs du DMV participent à la régulation de la fragmentation des nutriments, de leur stockage et de leur mobilisation en modulant la vidange gastrique et leur absorption (Grill et Hayes, 2012).

En cas de déficit énergétique, le NTS est activé par la ghréline et la faible glycémie, et permet la mise en place de la prise alimentaire en communiquant avec l'hypothalamus, notamment via la synthèse de NPY (Li et Ritter, 2004) ou de noradrénaline (Date et al., 2006). Après un repas, l'insuline, la leptine et les peptides sécrétés par les cellules entéro-

endocrines de l'intestin grêle (PYY, GLP-1, CCK), activent les afférences vagues et transmettent un signal de satiété au NTS (pour revue voir Chaudhri et al., 2006; Sobrino Crespo et al., 2014). L'effet anorexigène de l'amyline quant à lui, a une action directe sur les neurones de l'area postrema sans passer par le nerf vague. Le signal de l'area postrema est ensuite transmis aux neurones du NTS (Lutz, 2010). En retour, les neurones du tronc cérébral sensibles à la glycémie participent à la sécrétion d'insuline (Ahrén, 2000), la production de glucose hépatique, la prise alimentaire et les dépenses énergétiques (pour revue voir Grill et Hayes, 2012).

Le NTS et le DMV sont les deux structures les plus riches en MC3/4Rs dans le système nerveux central (Kishi et al., 2003). Lorsque ces structures sont activées par la fixation de l' α -MSH en provenance des neurones ARC^{POMC/CART} ou NTS^{POMC/CART}, elles inhibent la prise alimentaire (Zheng et al., 2010). Pour observer cette inhibition, une activation brève des MC3Rs des neurones NTS^{POMC/CART} suffit, tandis qu'il faut une activation chronique des neurones ARC^{POMC/CART} par ces récepteurs (Zhan et al., 2013). Dans le tronc cérébral, l'activation de l'area postrema par la leptine en elle-même ne semblerait pas directement jouer de rôle dans la régulation de la prise alimentaire (Kanoski et al., 2012). Cette hormone participerait à la transmission du signal de satiété *via* l'activation des neurones exprimant LepBr dans le NTS (Kanoski et al., 2012) et dans les ganglions du nerf vague (Buyse et al., 2001; Burdyga et al., 2002), en potentialisant l'effet des peptides gastro-intestinaux, notamment de la CCK (Morton et al., 2005; Hayes et al., 2010; Kanoski et al., 2012) ou du GLP-1 (Zhao et al., 2012). En effet, l'altération de ce signal leptinémique supprime le signal de fin de repas donné par la CCK, conduisant à une obésité associée à une augmentation de la durée/taille des repas mais pas de leur fréquence (Grill et Hayes, 2012).

En plus de réduire la prise alimentaire, l'activation indirecte des MC4Rs du NTS et du DMV par la leptine et l'amyline, active les neurones sympathiques de ces deux zones et augmente la thermogénèse, donc les dépenses énergétiques (Williams et al., 2000; Skibicka et Grill, 2009; Lutz, 2012; Fernandes-Santos et al., 2013).

Le noyau parabrachial du tronc cérébral. Le PBN est le relais du NTS pour les informations gustatives et viscérales. Comme la LHA, il fait partie à la fois du circuit homéostatique et du circuit hédonique. L'activation des neurones du PBN est associée à des sensations viscérales négatives telles que la nausée, des informations orosensorielles, la stimulation des hormones régulant la mise en place de la satiété et à la distension de l'estomac ou des signaux de douleur (pour revue voir Sternson et Eiselt, 2017). Dans le PBN, l'activation des neurones libérant le neuropeptide CGRP (*calcitonin gene related peptide*) réduit drastiquement la prise alimentaire (Carter et al., 2013) et induit un

phénomène d'aversion gustative à un aliment palatable (Carter et al., 2015). Leur inhibition augmente la longueur des repas sans augmenter la quantité totale quotidienne consommée par l'animal (Campos et al., 2016b). Les repas sont donc moins nombreux, mais la quantité de nourriture ingérée par repas est plus importante, indiquant le rôle de ces neurones PBN^{CGRP} dans la transmission du signal de satiété (Sternson et Eisel, 2017). Anatomiquement, le PBN reçoit des projections neuronales du NTS et projette à son tour des axones dans de nombreuses zones cérébrales comme l'hypothalamus (ARC, PVN) ou l'amygdale (Sternson et Eisel, 2017). Cette dernière est principalement connue pour être associée à des réponses émotionnelles négatives (peur, anxiété) (LeDoux, 2012), mais aussi pour jouer un rôle dans la prise alimentaire, bien que les circuits en cause restent à déterminer (Robinson et al., 2014). Cette connexion entre PBN^{CGRP} et amygdale permet la médiation des signaux de satiété, et s'oppose à la stimulation de la prise alimentaire par la LHA (Sternson et Eisel, 2017).

Le tronc cérébral joue un rôle important dans la régulation de la prise alimentaire, en particulier à court terme par l'arrêt du repas dans le processus de rassasiement. Il intègre des signaux périphériques de natures peptidique, hormonale et nerveuse. Sa participation à la régulation de la prise alimentaire se fait soit de façon réflexe en réponse à ces signaux, soit en les relayant au niveau central puis en transmettant en retour la réponse centrale pour réguler l'homéostasie au niveau périphérique. Le tronc cérébral participe ainsi à la régulation de la glycémie, du stockage des nutriments ou encore de la thermogénèse par les afférences du nerf vague et/ou *via* les neurones du système nerveux autonome.

2. La régulation hédonique

Le circuit cérébral hédonique, également appelé circuit non-homéostatique ou circuit de la récompense, joue un rôle très important dans la régulation de la prise alimentaire en participant aux processus d'apprentissage, de mémoire et de prise de décision, et à la mise en place de processus cognitifs complexes basés sur des expériences précédentes et l'aspect hédonique des aliments (pour revues voir Russo et Nestler, 2013; Haber, 2017; Volkow et al., 2017; Liu et Kanoski, 2018). Ce circuit englobe de très nombreuses zones cérébrales telles que la LHA, et les structures du système mésocorticolimbique dont l'aire tegmentale ventrale (VTA) et le noyau accumbens (NAc) dans le striatum, le noyau paraventriculaire (PVT) du thalamus, le cortex préfrontal (CPF), l'hippocampe, le PBN ou encore l'amygdale (fig.5).

2.1. L'aire latérale de l'hypothalamus

La LHA est associée aux comportements addictifs, au renforcement positif ainsi qu'à l'évaluation du degré de récompense lié à la nourriture (Sternson et Eisel, 2017), notamment *via* la modulation des phénomènes d'aversion ou de préférence en réponse à des stimuli gustatifs (Roth et al., 1973; Touzani et Sclafani, 2001, 2002). Lorsque cette zone est stimulée par des électrodes, on observe une prise alimentaire vorace (Delgado et Anand, 1952), tandis qu'une lésion de cette même zone réduit la prise alimentaire (Anand et Brobeck, 1951). Contrairement aux neurones $ARC^{AgRP/NPY}$ dont la stimulation induit de façon systématique et spécifique une réponse alimentaire, l'excitation des neurones dans la LHA peut induire d'autres comportements que la prise alimentaire, comme boire (Greer, 1955; Mogenson et Stevenson, 1967), attaquer (Woodworth, 1971) ou se reproduire (Vaughan et Fisher, 1962). Par son rôle dans le renforcement positif, l'augmentation de la stimulation de cette zone induit l'augmentation de l'intensité avec laquelle les comportements sont exprimés (Sternson et Eisel, 2017; Wise, 1969, 1974). L'activation des neurones de la LHA active la libération de dopamine et de GABA par la VTA (Hernandez et Hoebel, 1988). Cette connexion LHA-VTA est associée au conditionnement et au déclenchement des mouvements faciaux permettant le léchage, la mastication, la déglutition (Sternson et Eisel, 2017). Elle jouerait également un rôle dans la diminution de la valeur de récompense d'un aliment lorsque l'animal est rassasié et que ses réserves énergétiques sont optimales. Par sa localisation dans l'hypothalamus, la LHA est régulée par les signaux périphériques arrivant au niveau central, tout en intégrant ceux provenant du circuit hédonique (Sternson et Eisel, 2017).

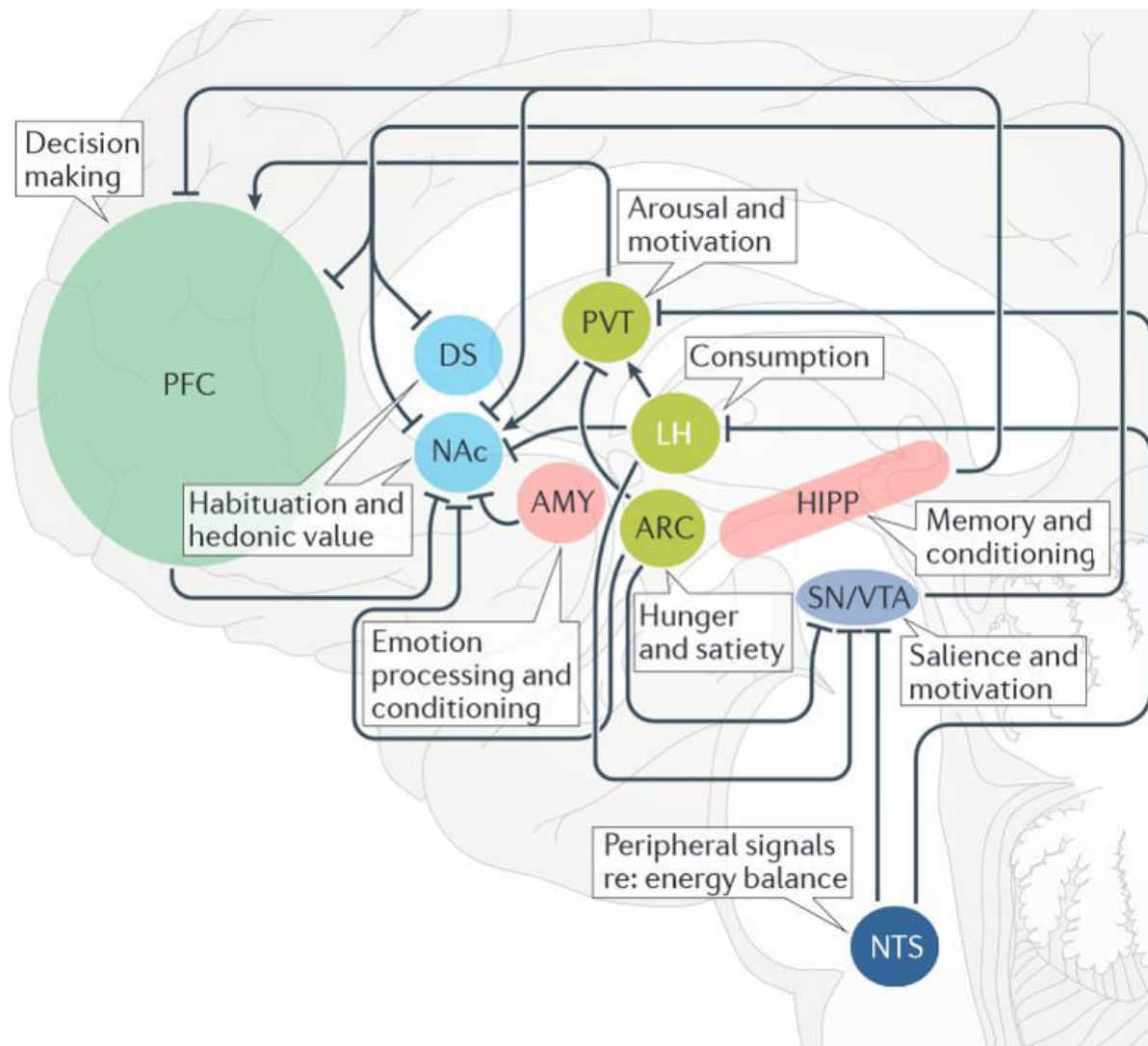


Figure 5. Interconnexions des différentes zones cérébrales composant le circuit mésocorticolimbique régulant la prise alimentaire. PFC : cortex préfrontal ; DS : striatum dorsal ; NAc : noyau accumbens (striatum ventral) ; AMY : amygdale ; PVT : noyau paraventriculaire du thalamus ; LH : aire latérale de l'hypothalamus ; ARC : noyau arqué ; HIPP : hippocampe ; SN/VTA : substance noire / aire tegmentale ventrale ; NTS : noyau du tractus solitaire (tronc cérébral). Issu de Volkow et al. (2017)

2.2. Le système mésocorticolimbique

Ce circuit neuronal implique de nombreuses structures, dont l'aire tegmentale ventrale (VTA), le noyau accumbens (NAc) et le cortex préfrontal (CPF).

L'aire tegmentale ventrale. Cette structure fait partie de la voie mésocorticolimbique dopaminergique et joue un rôle important dans les processus de récompense, la motivation, l'apprentissage, la mémoire et le mouvement (Sternson et Eisele, 2017). La VTA est une structure hétérogène qui contient principalement deux types de neurones : les neurones dopaminergiques et les neurones GABAergiques. Les neurones à dopamine projettent essentiellement sur le NAc ainsi que sur les structures limbiques et corticales (hippocampe, amygdale, cortex) et médient les réponses comportementales induites par des stimuli aversifs ou plaisants (Pignatelli et Bonci, 2015). Les neurones GABAergiques quant à eux, projettent vers le CPF et le NAc (Morales et Margolis, 2017). Quelques neurones glutamatergiques sont également présents et renforcent l'activité des neurones dopaminergiques. Les connexions dopaminergiques entre la VTA et le NAc répondent à des stimulus alimentaires gratifiants et établissent la volonté de les ingérer, autrement appelé « wanting », et la motivation pour le faire (Morales and Margolis, 2017). Cette structure est donc importante dans le traitement des signaux relatifs à la nourriture avant l'ingestion proprement dite (Schultz et al., 1997), notamment l'intérêt porté par l'individu aux indices relatifs à la présence de nourriture dans l'environnement selon son niveau de satiété. En effet, le traitement des signaux arrivant à la VTA est influencé par les taux circulants de leptine, insuline et ghréline (van der Plasse et al., 2015). La ghréline peut agir sur les neurones dopaminergiques de la VTA qui expriment le récepteur GSHR. Cette activation stimule la libération de dopamine de la VTA vers le NAc (Malik et al., 2008), ce qui augmente la prise alimentaire ou la consommation d'alcool de façon dose-dépendante, (Hernandez et Hoebel, 1988; Jerlhag et al., 2009; Kojima et al., 2013). Cette hormone est ici un signal d'anticipation du repas en réponse à des stimuli environnementaux et au rythme circadien (Hsu et al., 2016). A l'inverse, la fixation de l'insuline sur ces neurones augmentant la recapture de la dopamine, induisant chez des rats nourris *ad libitum* une diminution de l'auto-administration de saccharose (Figlewicz et al., 2006, 2008). De plus, l'inhibition des récepteurs à l'insuline dans certains neurones de la VTA (synthétisant la tyrosine hydroxylase) entraîne une hyperphagie accompagnée d'une augmentation du poids corporel et de la masse grasse chez la souris (Könner et al., 2011). La leptine joue un rôle similaire en inhibant les neurones dopaminergiques de la VTA vers la LHA (Fulton et al., 2006), ce qui diminue la prise alimentaire et la préférence pour le sucre (Sternson and Eisele, 2017; Figlewicz et al., 2008). Ainsi, un blocage à long terme des récepteurs de la leptine dans la VTA augmente l'activité locomotrice et la consommation de nourriture chez le rat (Hommel et al., 2006). Au niveau central, l'amyline

est également produite par les neurones de la LHA et libérée dans la VTA. Ce peptide diminue les préférences alimentaires pour le sucre et le gras, et de façon plus globale, diminue la consommation d'aliments palatables (Boyle et al., 2018). De façon contraire à la ghréline, cette activation des neurones de la VTA diminue la libération de dopamine dans le NAc (Mietlicki-Baase et al., 2015). Enfin, le GLP-1, dont la concentration augmente après un repas, inhibe quant à lui des neurones dopaminergiques de la VTA projetant dans le tronc cérébral et diminue la motivation à exécuter une tâche pour recevoir de la nourriture (Dickson et al., 2012; van Bloemendaal et al., 2014).

Le noyau accumbens. Le NAc est la deuxième zone cérébrale importante dans le circuit hédonique. Cette structure est impliquée dans le traitement des signaux liés à la récompense et est à l'interface des zones cérébrales modulant les émotions, la motivation et les mouvements grâce aux afférences glutamatergiques excitatrices qu'elle reçoit des structures limbiques et corticales (pour revues voir Berke et Hyman, 2000; Cassidy et Tong, 2017; Volkow et al., 2017). L'activité des neurones de cette zone diminue lors de la consommation d'un aliment palatable et leur inhibition augmente la prise alimentaire (Sternson et Eisele, 2017). La stimulation ponctuelle des neurones du NAc induit un renforcement positif et un conditionnement performant, accompagnés d'une augmentation de dopamine dans la VTA. Cependant, si cette stimulation vient à être prolongée, elle induit une aversion, et une diminution du conditionnement dans le cas des neurones (Soares-Cunha et al., 2019). Ce noyau régule les processus de « wanting » (réponse motivationnelle) et de « liking » (réponse hédonique) (Peciña et Berridge, 2005, 2013). Le NAc jouant un rôle central dans le développement et la persistance des addictions, nombre d'études ciblant ses impacts comportementaux sont basées sur l'utilisation de drogues opioïdes (cocaïne, morphine, ...). Ces molécules activent les récepteurs opioïdes au nombre de 3 : *mu*, *delta* et *kappa*. La stimulation des récepteurs *mu* et *delta* dans un endroit précis du NAc induit une augmentation de la prise alimentaire de plus de 140%, tandis que la stimulation *kappa* n'a pas d'effet sur cette réponse « wanting » (Castro et Berridge, 2014). Le NAc intègre des signaux en provenance de l'ensemble des zones du circuit hédonique, dont le cortex préfrontal, l'amygdale, l'hippocampe et la VTA (Basar et al 2010), puis régule l'activation des neurones de la VTA directement ou *via* la LHA (Russo et Nestler, 2013). Les interactions directes ou indirectes entre le NAc et la LHA sont nombreuses et importantes pour la régulation de la prise alimentaire (Stratford et Kelley, 1999; Saper et al., 2002; Cassidy and Tong, 2017; Volkow et al., 2017).

Le cortex préfrontal. Le rôle majeur du CPF est de faire le lien entre les stimuli sensoriels extérieur et le niveau de gratification qu'ils sous-tendent. Il prend part aux processus cognitifs de haut niveau, à la vigilance, aux processus moteurs ainsi qu'à la

régulation cognitive des régions du circuit hédonique et à l'inhibition des comportements compulsifs (Gluck et al., 2017). Chez les personnes obèses, l'activation du CPF est diminuée, notamment en période post-prandiale, expliquant les comportements compulsifs d'alimentation (Georgii et al., 2017; Gluck et al., 2017). Le CPF serait même considéré comme le seul point d'entrée d'informations relatives à la récompense dans le circuit hédonique (Ballard et al., 2011). L'anticipation de cette récompense activerait directement le CPF puis indirectement la VTA et le NAc. Le CPF serait sensible au GLP-1 puisque l'administration d'un agoniste à ce peptide diminue l'activité neuronale dans les zones associées à l'appétit et à la récompense à la vue d'images relatives à de la nourriture (van Bloemendaal et al., 2014).

Le circuit de la récompense joue un rôle central dans la régulation de la prise alimentaire en intégrant les composantes hédoniques et émotionnelles liées aux aliments. Il participe ainsi aux processus d'apprentissage et de mémoire des stimuli alimentaires, ainsi qu'à la prise de décision basée sur des expériences positives ou négatives relatives à ces stimuli. La LHA joue un double rôle, faisant partie à la fois du circuit hédonique et du circuit homéostatique. Ces deux grands systèmes de régulation de la prise alimentaire s'influencent donc mutuellement. Lorsque l'individu a faim, la valeur gratifiante des aliments est augmentée, tandis qu'il pourra refuser d'ingérer un aliment, même en situation de jeûne si celui-ci a un historique négatif.

B) Mise en place du comportement alimentaire

Pendant le développement embryonnaire du système nerveux central, les cellules souche neurales (NPCs) prolifèrent dans la zone ventriculaire du tube neural. Certaines de ces cellules se différencient en précurseurs gliaux radiaux, eux-mêmes se différenciant par la suite en précurseurs neuronaux, gliaux ou d'oligodendrocytes (Rowitch and Kriegstein, 2010; Allen and Lyons, 2018). Ces progéniteurs neuronaux ou gliaux issus des NPCs migrent de la lisière des ventricules vers le reste du cerveau en se différenciant en neurones, astrocytes ou oligodendrocytes (Bayer et al., 1991; McCarthy et al., 2001) (fig.6). Ces deux derniers types cellulaires constituent la macroglie et représenteraient 65% des cellules totales du cerveau chez les rongeurs, et jusqu'à 90% chez l'Homme (Pfrieger et Barres, 1995; Doetsch, 2003; Nishiyama et al., 2005). Les mêmes NPCs sont à la base des lignées neuronales et gliales. La transition de l'une à l'autre s'effectue au cours du développement lorsque l'inhibition des gènes gliaux se lève et que l'expression des gènes neuronaux est à son tour réprimée. Ainsi chez le rongeur, les neurones sont créés en premier entre le douzième jour embryonnaire (E12) et E18, puis les astrocytes apparaissent vers E18 pour atteindre leur nombre maximal après la naissance. Les oligodendrocytes sont quant à eux formés en dernier, après la naissance (Bayer et Altman, 1991 ; pour revues voir Sauvageot et Stiles, 2002; Miller et Gauthier, 2007) (fig.7).

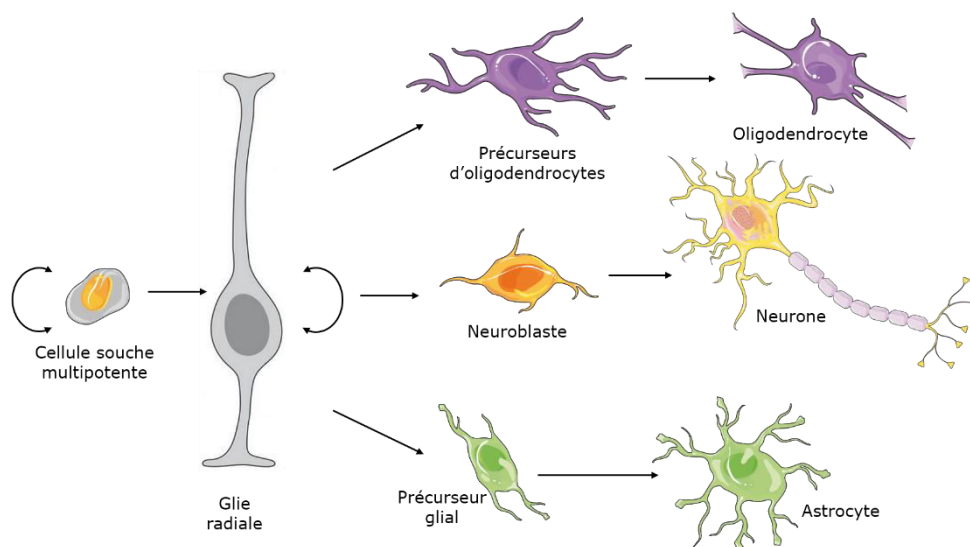


Figure 6. Lignage des différentes populations cellulaires cérébrales à partir des cellules progénitrices.

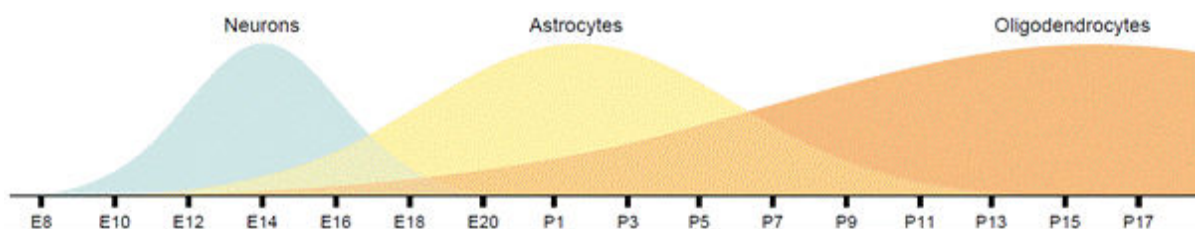


Figure 7. Stades du neurodéveloppement du rongeur correspondant à l'apparition des neurones, des astrocytes puis des oligodendrocytes. E : jour embryonnaire. P : jour postnatal. Issue de Sauvageot et Stiles (2002).

1. Ontogenèse des structures et circuits homéostatiques et hédoniques

1.1. La régulation réflexe par le tronc cérébral

Chez les rongeurs et les humains, les circuits neuronaux du NTS régulant directement la prise alimentaire de façon réflexe sont fonctionnels dès la naissance, de même que la densité et la distribution des afférences vagales sensorielles déjà matures à ce stade (Rinaman et Levitt, 1993; Rinaman et al., 1999; Zhang et Ashwell, 2001). Cependant, la fonctionnalité des autres composantes du tronc cérébral et notamment les connexions avec les autres structures centrales n'apparaissent qu'à partir de la deuxième semaine de vie (Rinaman et al., 1994). Le mécanisme neural de régulation de la prise alimentaire par le tronc cérébral est plus simple que l'intégration des signaux au niveau hypothalamique. La maturation de la communication neuronale dans le tronc cérébral est donc plus rapide que dans l'hypothalamus où les connexions, beaucoup plus complexes, nécessitent une étape d'apoptose neuronale et d'élagage synaptique (« pruning ») (Bouret et al., 2004a). Ces étapes permettent d'affiner les structures et leurs connexions, en supprimant les projections et connexions neuronales inappropriées. Il faut attendre jusqu'au stade adolescent pour que le développement graduel du contrôle indirect de la prise alimentaire par l'hypothalamus et le circuit hédonique soit complet (pour revue voir Zeltser, 2018).

A la naissance, bien que la prise de lait soit induite par la soif et non par l'apport en nutriments (Phifer et al., 1986), les stimuli orosensoriels relatifs au lait maternel (présence de gras et de sucre) sont intégrés par le NTS sans besoin d'interaction avec le reste des zones cérébrales encore immatures. La distension gastrique provoquée par l'ingestion de lait induit la sécrétion de peptides gastro-intestinaux, comme par exemple la cholécystokinine (CCK), dont la signalisation, une fois intégrés par le NTS, constitue le seul signal d'arrêt de la prise alimentaire à la naissance (Ackerman et al., 1992; Phifer et al., 1986; Terry et Johanson, 1987). Cette régulation négative réflexe de la prise alimentaire décroît après le quatorzième jour de vie postnatale (J14) chez le rat (Koehnle et Rinaman, 2007) de façon concomitante avec le développement des autres structures cérébrales régulant la prise alimentaire. En effet, la capacité de réguler la prise de lait en réponse à la quantité de sucre qu'il contient émerge progressivement entre la première et la deuxième semaine de vie, tandis que la réponse à la quantité de gras s'effectue entre la deuxième et la troisième (Ackerman et al., 1992) (fig.8). Les connexions du NTS aux structures régulant la prise alimentaire telles que le noyau parabrachial (PBN) du tronc cérébral, le PVN dans l'hypothalamus ou encore les régions limbiques (amygdale), augmentent progressivement durant les 2 premières semaines postnatales (Koehnle et Rinaman, 2007) (fig.9). A la naissance, des connexions neuronales existent entre le NTS et le PVN, mais elles ne sont pas fonctionnelles pour traiter les signaux viscéraux transmis

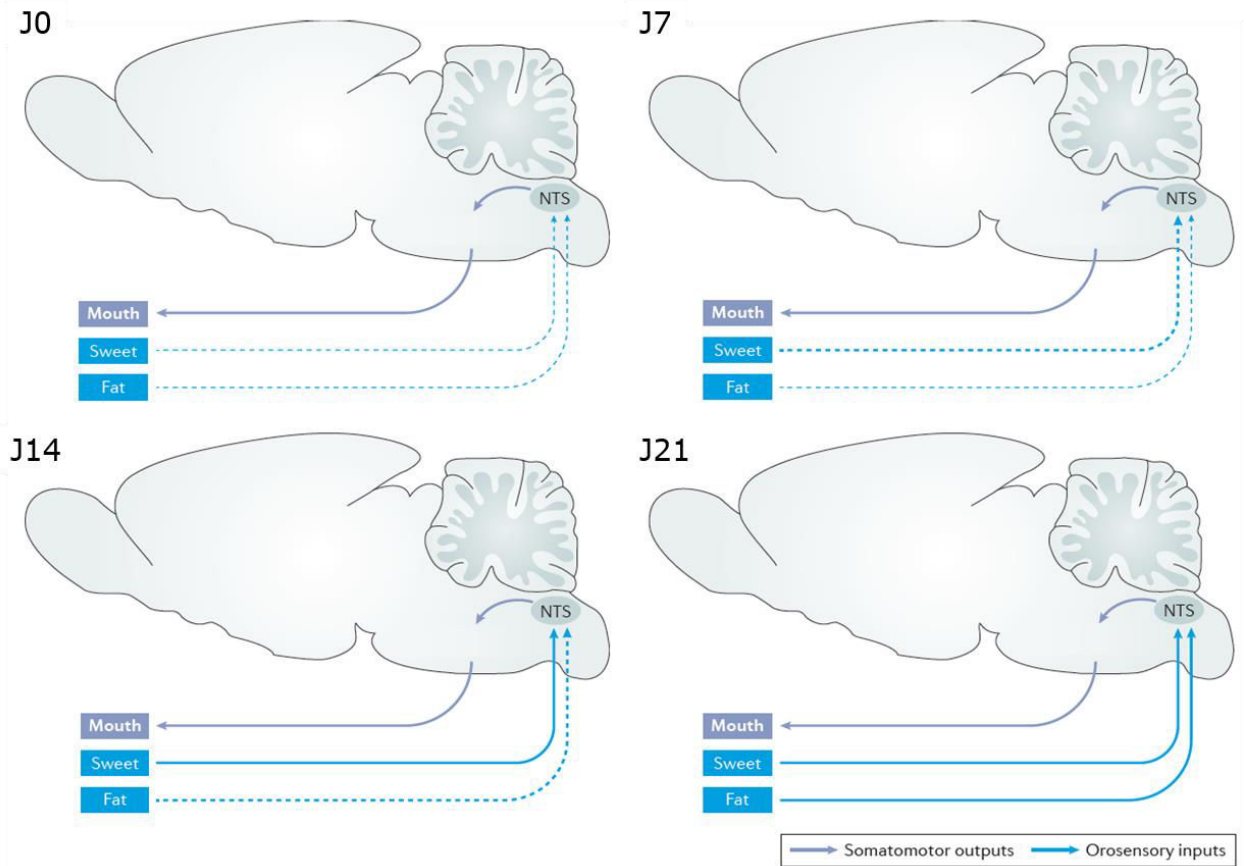


Figure 8. Développement progressif de l'intégration des signaux nutritionnels (gras et sucre) en provenance de la sphère orale par le tronc cérébral chez le rongeur. Issue de Zeltser (2018). NTS : noyau du tractus solitaire ; J7 : 7^{ème} jour postnatal

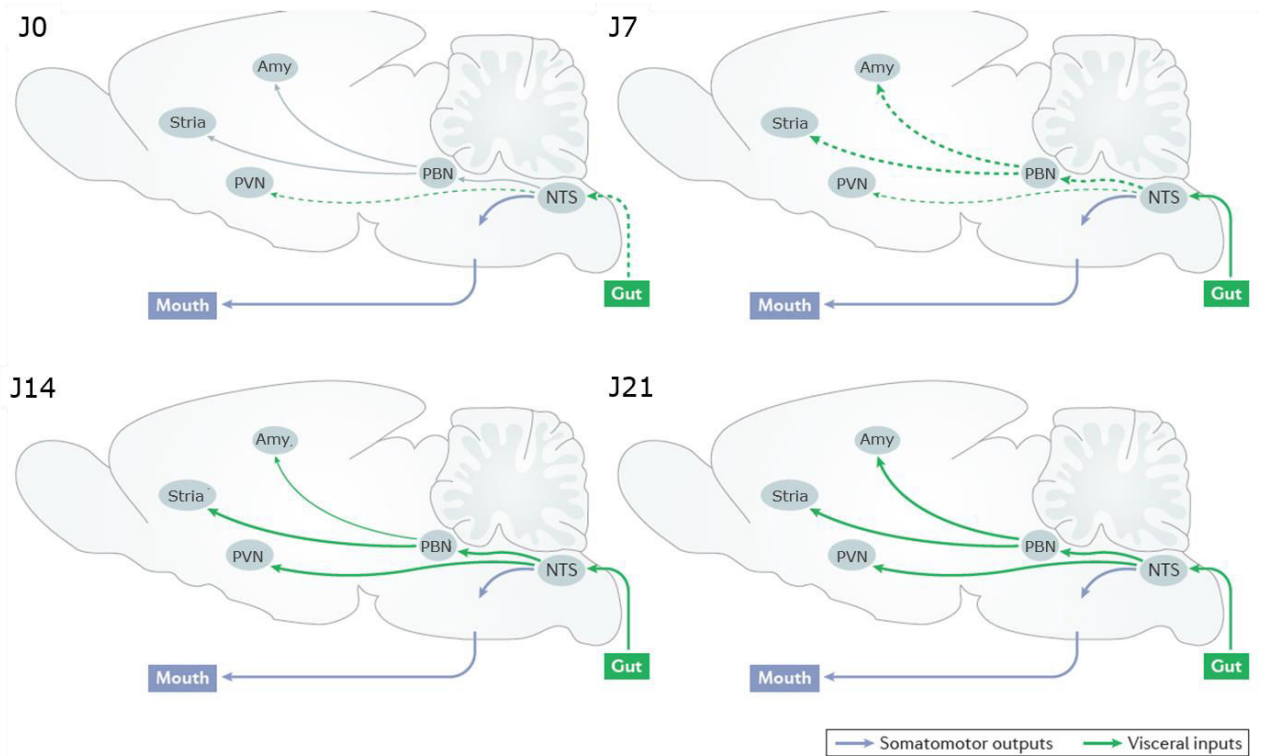


Figure 9. Développement progressif de l'intégration des signaux viscéraux par les structures cérébrales via le tronc cérébral chez le rongeur. *PBN* : noyau parabrachial ; *Amy* : amygdale ; *Stria* : striatum ; *PVN* : noyau paraventriculaire. J7 : 7^{ème} jour postnatal. Issue de Zeltser (2018).

par le NTS avant la deuxième semaine postnatale (Rinaman et al., 1994; Rinaman, 2001). Les propriétés électrophysiologiques des neurones du NTS projetant dans les autres zones cérébrales deviennent matures durant la 3^{ème} semaine (Vincent et Tell, 1999) (pour revues, voir Elson et Simerly, 2015; Rinaman, 2006), et il faut attendre 6 semaines pour que la signalisation des signaux viscéraux au PBN soit mature (Koehnle et Rinaman, 2007; Lasiter et Kachele, 1988; Phifer et al., 1986; Rinaman et al., 1994; Swithers et Hall, 1989).

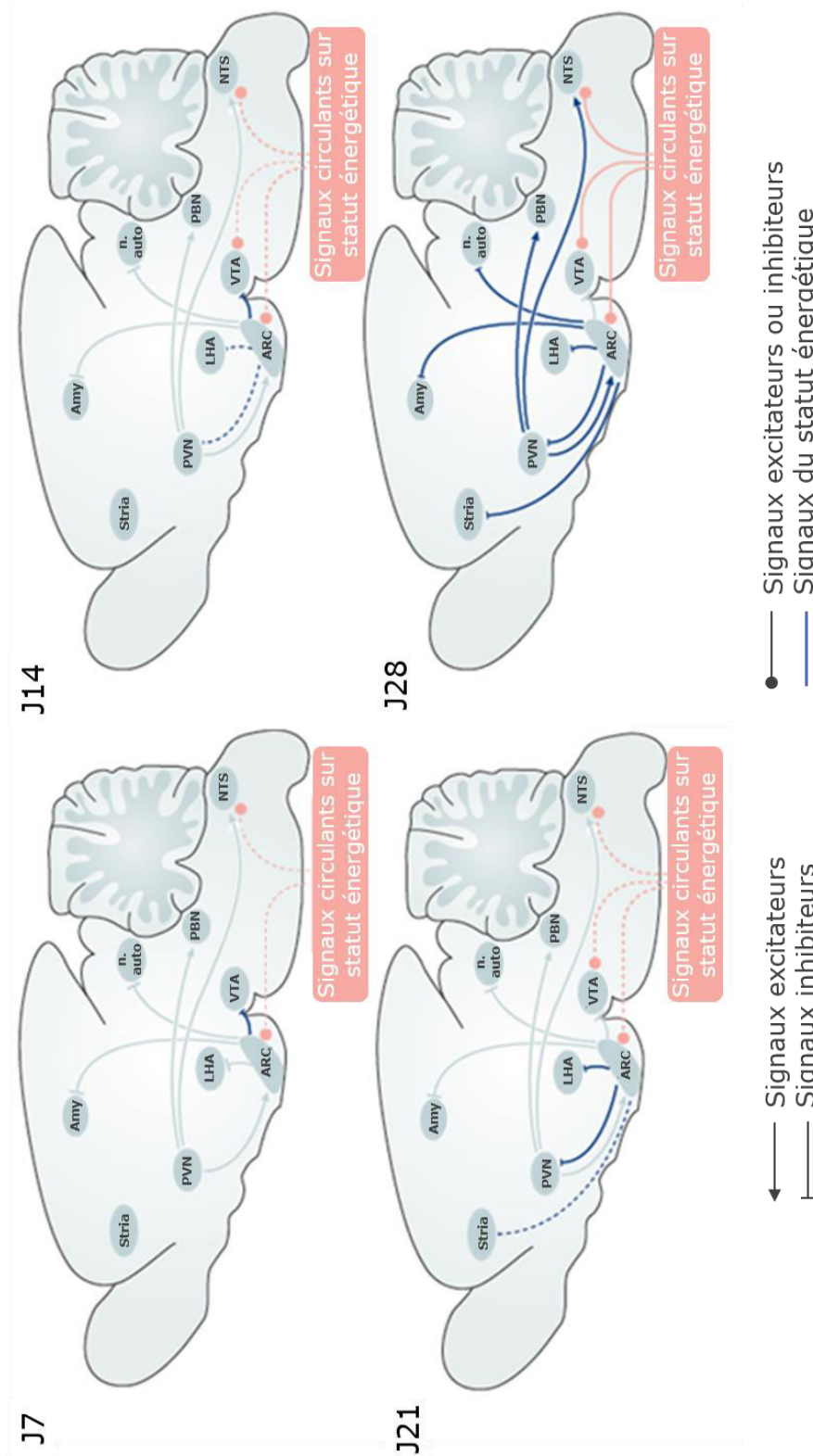


Figure 10. Développement des projections axonales du noyau arqué aux autres zones cérébrales impliquées dans la régulation de la prise alimentaire chez le rongeur. *Stria* : striatum ; *Amy* : amygdalle ; *n. auto* : neurones du système nerveux autonome ; *PVN* : noyau para-ventriculaire ; *LHA* : aire latérale de l' hypothalamus ; *ARC* : noyau arqué ; *VTA* : aire tegmentale ventrale ; *PBN* : noyau parabrachial ; *NTS* : noyau du tractus solitaire ; *J7* : 7^{ème} jour postnatal. Issue de Zeltser (2018).

1.2. La régulation homéostatique

Chez la souris, la formation de l'hypothalamus débute par la prolifération des NPCs juste après la fermeture du tube neural dès E10 (Shimada et Nakamura, 1973). Les neuroblastes ainsi créés migrent et colonisent progressivement le cerveau (Gray et Sanes, 1991). Le suivi de l'incorporation de l'isotope radioactif [3H]thymidine ou de la bromodésoxyuridine (BrdU) dans le cerveau de fœtus de rat a permis de déterminer que la majeure partie des neurones (dont ceux des noyaux hypothalamiques) naissent entre E13 et E15 (Altman et Bayer, 1986; Brischoux et al., 2001; Ifft, 1972; Ishii et Bouret, 2012).

Les connexions entre les différentes zones cérébrales impliquées dans la régulation homéostatique de la prise alimentaire sont physiquement présentes dès la deuxième moitié de la gestation, mais ne deviennent fonctionnelles et ne répondent aux signaux énergétiques de court et long termes transmis par la leptine qu'à J28 (Ahima et Hileman, 2000; Baquero et al., 2014; Mistry et al., 1999). De plus, les neurones présentent à J7-9 un fonctionnement électrophysiologique plus lent que celui des adultes (Melnick et al., 2007). Avant ce stade, la prise alimentaire est régulée par la seule demande énergétique nécessaire à la croissance et la thermogénèse (Kennedy, 1957), impliquant la boucle réflexe du NTS et le PVN (Grove et Smith, 2003). Les projections axonales du DMN et du VMN vers le PVN et la LHA sont déjà opérationnelles à J6, bien avant celles venant de l'ARC (Bouret et al., 2004a; Ishii et Bouret, 2012).

En utilisant le traceur axonal radioactif DiI, Bouret et collègues (2004a) ont mis en évidence la chronologie des projections neuronales en provenance de l'ARC dans les autres noyaux de l'hypothalamus. A partir de J6, ces projections atteignent le DMN, mais ne sont pas complètes avant J10-11 (Grove et Smith, 2003; Kagotani et al., 1989). Viennent ensuite les connexions avec le PVN débutant entre J8 et J10, voire J15-16 pour que leurs axones produisant du NPY se connectent aux neurones pré-autonomes de cette zone (Bouret et al., 2004a; Grove et Smith, 2003; Kagotani et al., 1989). Les neurones pré-autonomes du PVN sont cruciaux pour la régulation des organes périphériques par le système nerveux autonome (O'Hare et Zsombok, 2016). Par l'absence de « pruning » synaptique ou de remodelage axonal, ces projections dans le PVN sont pleinement fonctionnelles à un niveau similaire à celui de l'adulte dès J21 (Bouret et al., 2004a). Les projections neuronales de l'ARC vers la LHA ne débutent pas avant J12, et il faut attendre la fin de la période de lactation (J18) pour que l'ensemble des connexions de l'ARC soient similaires à celles observées chez un rat adulte (Bouret et al., 2004a; Ishii et Bouret, 2012). Après le sevrage (J20) les projections de l'ARC atteignent progressivement les autres zones cérébrales dont celles du tronc cérébral (Bouret et al., 2004a) (fig.10).

L'établissement progressif des connexions neuronales de l'ARC est influencé par de nombreux facteurs, notamment hormonaux tels que la leptine, la ghréline, l'insuline ou encore l'amyline et la sérotonine, détaillés dans la partie 2.1 de ce chapitre 1).

Une fois les NPCs différenciées en neurones, les cellules destinées à l'ARC synthétisent progressivement les différents neuropeptides orexigènes (NPY, AgRP) et anorexigènes (POMC, CART) qui les caractérisent une fois à l'âge adulte. La majorité de ces cellules expriment d'abord POMC dès E10-12,5 selon les zones cérébrales (McNay et al., 2006; Padilla et al., 2012), la synthèse de NPY étant bloquée par la synthèse de POMC (McNay et al., 2006; Pelling et al., 2011). Les neuropeptides NPY, GABA et AgRP sont ensuite progressivement synthétisés entre la deuxième semaine de gestation et les premières semaines de vie (Padilla et al., 2012). Les récepteurs aux neuropeptides et leurs voies de signalisation cellulaire sont exprimés par les neurones et fonctionnels avant la synthèse de ces neuropeptides (Capuano et al., 1993). Ainsi, les récepteurs au NPY sont détectables et fonctionnels dès J2 alors que la synthèse de NPY augmente progressivement à partir de E14,5 (Grove et Smith, 2003; Kagotani et al., 1989), pour atteindre un pic maximal à J15 (Cottrell et al., 2009). Les récepteurs à la leptine seraient également présents dans l'ARC dès J6 chez la souris puisque l'injection périphérique de leptine à cet âge y induit une activité c-Fos, témoin d'une activation neuronale (Bouret et al., 2004a). Leur expression dans la VTA n'apparaît que durant la deuxième semaine de lactation (J10) (Naef et al., 2014; Gjerde et al., 2016). A partir de cette date, une injection de leptine en périphérie induit un signal c-Fos dans le PVN (Bouret et al., 2004a) alors que celui-ci n'exprime pas encore les récepteurs à la leptine, indiquant une activation indirecte qui a ensuite été mise en évidence *via* les neurones de l'ARC (Caron et al., 2010). Les signaux excitateurs activent les neurones ARC^{AgRP/NPY} à partir de la deuxième moitié de la lactation. Les signaux inhibiteurs, eux, ne sont pas présents avant le sevrage (Baquero et al., 2014, 2015).

Le développement du cerveau est donc chronologiquement établi pour favoriser la prise alimentaire au détriment de son arrêt.

Les réponses électrophysiologiques des neurones et le nombre de leurs synapses évoluent selon le stade de développement du raton (Melnick et al., 2007). Dans l'ARC, très peu de synapses ont été identifiées à J5. Elles présentent en outre un phénotype immature avec peu de vésicules et une faible spécialisation pré- et postsynaptique (Walsh et Brawer, 1979). Leur maturation est un long processus. Par exemple, il faut attendre J45 pour que le nombre de synapses dans l'ARC et leur degré de maturité arrive à un niveau similaire à celui de l'adulte (Walsh et Brawer, 1979).

1.3. La régulation hédonique

Les signaux olfactifs associés au lait maternel sont perçus comme gratifiants entre J6 et J12 environ (Terry et Johanson, 1987) et dépendent de la signalisation neuronale impliquant les récepteurs opioïdes (Philopena et al., 1996), avant le développement du système de récompense dopaminergique. Les préférences conditionnées au goût (sucre et gras) persistent quant à elles après le sevrage du raton (Myers et Sclafani, 2006; Myers et al., 2005).

Chez la souris, les projections AgRP de l'ARC vers les zones corticolimbiques (CPF, NAc) apparaissent à J16 (Bouret et al., 2004a). Les connexions entre la LHA et la VTA sont établies lors de la première semaine postnatale chez le rat (Naef et al., 2014; Gjerde et al., 2016) (fig.11). Les connexions axonales des neurones dopaminergiques entre la VTA et le NAc sont formées puis remodelées en fin de gestation (Hu et al., 2004), mais ne sont fonctionnelles qu'une semaine après la naissance (Tepper et al., 1998; Antonopoulos et al., 2002). Dans le cortex sensoriel, le nombre de synapses est faible durant la première semaine de vie, suivi d'une brusque augmentation entre J10 et J15 (Micheva et Beaulieu, 1996). Après le sevrage (3-4 semaines), les synapses nouvellement formées par les neurones dopaminergique projetant de la VTA au NAc et au CPF sont élaguées et l'expression des récepteurs à la dopamine et aux opioïdes est réduite (McDowell et Kitchen, 1987; Spain et al., 1985; Tarazi et Baldessarini, 2000). Ce n'est qu'à J30 que le nombre de synapses devient similaire à celui de l'adulte, restant 16 fois plus élevé qu'aux premiers jours (De Felipe et al., 1997). A cet âge le CPF fait partie intégrante du circuit hédonique et transmet des informations externes relatives aux aliments (la vue, l'odeur, le goût) (Zeltser, 2018).

Bien que les connexions physiques entre les zones cérébrales impliquées dans le contrôle hédonique de la prise alimentaire soient déjà présentes en fin de lactation, il reste encore à développer les processus basés sur l'apprentissage et les retours post-ingestifs positifs ou négatifs renforcés par le circuit mésocorticolimbique mûrissant progressivement après le sevrage du raton (Ogawa et al., 1994).

Il est à noter que la signalisation GABAergique induit des effets opposés selon le stade de développement. Si, chez l'adulte, le GABA est le neurotransmetteur inhibiteur des neurones, il est activateur lorsqu'il se fixe sur des neurones immatures (pour revue, voir Ben-Ari et al., 2012) Ce changement fonctionnel a été identifié par électrophysiologie à J8 dans l'hippocampe de rat (Tyzio et al., 2007). Ce rôle excitateur pourrait être crucial dans les nombreux processus développementaux se déroulant à ce stade, dont la différenciation neuronale et la création des dendrites (Tyzio et al., 2007; Ben-Ari et al., 2012).

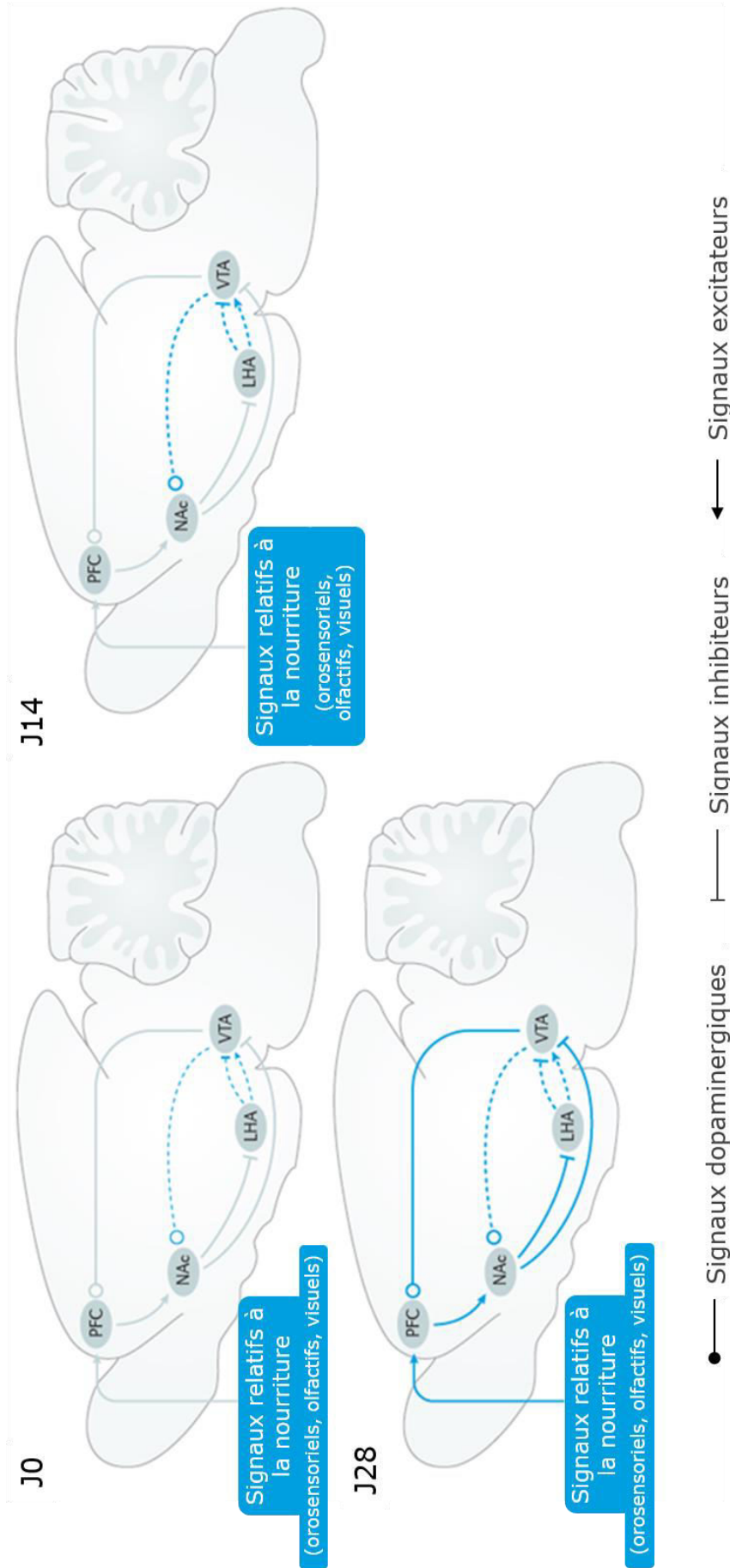


Figure 11. Développement des projections axonales entre les zones cérébrales composant le circuit hédonique du rongeur.
PFC : cortex préfrontal ; *NAc* : noyau accumbens ; *LHA* : aire latérale de l'hypothalamus ; *VTA* : aire tegmentale ventrale ; J7 : 7^{ème} jour postnatal. Issue de Zeltser (2018).

Le neurodéveloppement est un processus complexe de longue durée durant lequel les différentes structures cérébrales impliquées dans la régulation de la prise alimentaire se développent progressivement. La première structure à être fonctionnelle est le tronc cérébral qui régule de façon réflexe la prise alimentaire dès la naissance. Chez le rat, les connexions entre les circuits homéostatique et hédonique apparaissent seulement après deux semaines de vie postnatale et ne deviennent fonctionnelles qu'à la troisième semaine. Les différentes étapes qui composent le neurodéveloppement débutent dès la deuxième semaine de gestation, mais ne se terminent pas avant l'adolescence voire l'âge adulte pour certaines zones cérébrales impliquées dans la régulation homéostatique et hédonique de la prise alimentaire. Ceci indique que durant une longue période, ces zones cérébrales sont plastiques et potentiellement sensibles aux facteurs environnementaux.

2. Facteurs pré- et postnataux influençant le neurodéveloppement

2.1. Les facteurs hormonaux

La leptine fait partie des premières hormones majeures du métabolisme à apparaître durant le développement du fœtus. Tandis que chez l'adulte elle est majoritairement produite par le tissu adipeux blanc (Zhang et al., 1994), elle est synthétisée dans de nombreux tissus chez l'embryon, comme le foie et les cartilages osseux puis le cœur (Hoggard et al., 1997). Chez la souris, l'ARNm du récepteur *Lepr-b* est peu abondant dans l'hypothalamus durant la première semaine de vie mais augmente drastiquement par la suite pour atteindre un pic d'expression J8 et J12 (Ahima et al., 1998; Coupé et al., 2010; Bouret et al., 2012). Cette augmentation de l'expression du récepteur à la leptine s'accompagne d'un pic de sécrétion de la leptine elle-même, mesurée à un facteur 5 à 10 chez les femelles (Ahima et al., 1998). Il est à noter que ce pic de sécrétion de leptine chez les rongeurs n'est pas présent durant le développement postnatal de l'Homme (Valleau and Sullivan, 2014).

Les récepteurs à la leptine étant exprimés dans les vaisseaux sanguins cérébraux dès la naissance, la leptine pourrait traverser la barrière hémato-encéphalique et atteindre les neurones leptine-répondeurs dès ce stade (Pan et al 2008). Cependant, l'apport périphérique ou central de leptine à des souriceaux de phénotype sauvage ou déficients en leptine (*ob/ob*), n'impacte ni leur consommation de lait, ni leur poids, ni leur masse grasse

avant J10 (Stehling et al., 1996; Mistry et al., 1999; Ahima and Hileman, 2000), alors que la dose utilisée est connue pour moduler ces paramètres chez les adultes. Avant cet âge, la leptine ne joue donc pas son rôle dans la régulation de la balance énergétique connu chez l'adulte.

En revanche, elle est nécessaire pour le développement des circuits cérébraux régulant la prise alimentaire. Son pic de sécrétion durant la deuxième semaine de vie correspond à la période de développement des projections axoniques de l'ARC (Bouret et al., 2004a). En effet, une injection périphérique de leptine durant cette période restaure de façon permanente chez des souris *ob/ob* le réseau de projections neuronales à partir de l'ARC, connu pour être très diminué chez ces animaux (Bouret et al., 2004b). Ainsi, l'absence de réponse à la leptine avant J7-10 serait due à l'isolement de l'ARC des autres noyaux de l'hypothalamus en raison de l'immaturation des projections axoniques et des synapses. A cet âge, les récepteurs à la leptine sont déjà exprimés dans l'ARC ainsi que dans d'autres noyaux hypothalamiques et sont fonctionnels, modulant l'expression des gènes *pomc* et *npv* (Proulx et al., 2002; Caron et al., 2010; Bouret et al., 2012; Baquero et al., 2014). L'ARC est donc capable de répondre à la leptine, mais manque de projections axoniques fonctionnelles pour transmettre le signal à d'autres zones cérébrales.

Dans l'hypothalamus, la leptine favoriserait particulièrement le développement des axones de certains neurones du PVN vers le DMN du tronc cérébral (Bouyer et Simerly, 2013). Ces populations neuronales du PVN puis plus tardivement du DMN influencent les signaux nerveux sympathiques et parasympathiques impliqués dans la thermogénèse. Ceci explique que les dépenses énergétiques durant la première semaine de vie soient majoritairement dues à la thermogénèse et la croissance (Kennedy, 1957), toutes deux indispensables à la survie du jeune rongeur. Ainsi, différents travaux montrent une modulation des dépenses énergétiques en réponse à la leptine dès J7, avant la modulation du comportement alimentaire (Markewicz et al., 1993; Kortner et al., 1994; Buchberger et Schmidt, 1996; Meierfrankenfeld et al., 1996; Mistry et al., 1999; Stehling et al., 1996). Au moment du sevrage et de la transition alimentaire des rats, les circuits homéostatiques et hédoniques sont suffisamment développés pour prendre part à la régulation de la prise alimentaire. La leptinémie décroît alors à un niveau similaire à celui de l'adulte (Devaskar et al., 1997) et joue son rôle d'inhibiteur de la prise alimentaire.

La ghréline et son récepteur sont déjà détectés *in utero* chez la souris à E17 et E12 respectivement (Torsello et al., 2003; Nakahara et al., 2006) de façon concomitante à la leptine. Contrairement à l'adulte où la majeure partie de la ghréline est synthétisée par l'estomac (Kojima et al., 1999; Date et al., 2000), la ghréline embryonnaire est principalement produite par le pancréas (Chanoine et Wong, 2004). Après la naissance et de façon similaire à la leptine, une injection de ghréline à des rats nouveau-nés

n'impacte pas leur consommation de lait avant J10 (Piao et al., 2008), indiquant une possible résistance ou insensibilité à la ghréline avant cet âge, bien que les récepteurs à cette hormone soient déjà exprimés et fonctionnels dans l'ARC (Steculorum et Bouret, 2011).

La ghréline sous sa forme active (acylée) comme inactive (non acylée) joue un rôle dans la prolifération neuronale. *In vitro*, les deux formes permettent la prolifération de cellules hypothalamiques de fœtus de rat, et la forme active plus particulièrement, induit la différenciation de cellules progénitrices en cellules gliales et fait proliférer les progéniteurs neuronaux (Inoue et al., 2010). Cependant, elle bloque leur différenciation en neurones (Inoue et al., 2010). Les travaux de Steculorum et Bouret ont mis en évidence le rôle de cette hormone dans la programmation à long terme des projections axonales de l'ARC vers le PVN, notamment des fibres α -MSH et AgRP, par rapport aux souriceaux témoins. Ils ont également caractérisé à l'âge adulte des altérations métaboliques, un poids vif plus élevé et une prise alimentaire plus importante lorsque la concentration de ghréline était sur- ou sous-optimale durant la lactation (J4-J22) (Steculorum et al., 2015). Il est à noter que l'augmentation du poids vif des souris adultes ayant subi une hyperghrélinémie n'est retrouvée que chez les individus mâles (Steculorum et al., 2015), indiquant un effet du sexe sur le neurodéveloppement et les potentielles conséquences à long terme si celui-ci est perturbé.

La ghréline agit de façon contraire à la leptine non seulement à l'âge adulte, mais également dès J10. Chez les souriceaux ayant une hyperghrélinémie artificielle, l'effet neurotrophique de la leptine est 2 fois plus faible dans l'ARC, associé *in vitro* à une réduction de la pousse axonale des neurones de cette zone (Steculorum et al., 2015). Dans le modèle de souris(^{ob/ob}) déficientes en leptine, la réduction des projections des neurones de l'ARC normalement attendue dans ce modèle est standardisée à J10 par la création d'une hypoghrélinémie artificielle dès J4 (Steculorum et al., 2015).

La ghréline joue un rôle dans la prolifération neuronale en période prénatale, puis de frein du développement axonal en période postnatale avec des conséquences métaboliques potentiellement importantes à l'âge adulte, telles qu'une altération des structures et des fonctions pancréatiques et stomacales (Steculorum et al., 2015). L'effet orexigène de cette hormone n'est pas présent pendant la période néonatale (Steculorum et al., 2015).

L'insuline, produite par le pancréas, atteint un pic de concentration dans l'embryon de souris à la fin de la première semaine de gestation, qui disparaît rapidement en 3 jours (Spaventi et al., 1990). Comme la leptine, cette hormone joue un rôle neurotrophique. Elle favorise la survie cellulaire lors du développement embryonnaire (Pablo et al., 2001), notamment des neurones et favorise leur croissance axonale (Aizenman et de Vellis, 1987).

In vitro, l'exposition directe d'explants ou de neurosphères hypothalamiques immatures à l'insuline induit une réponse dose-dépendante de la prolifération des NPCs (Desai et al., 2011) et augmente la croissance axonale (Toran-Allerand et al., 1988) dès le début de la dernière semaine de gestation (Schechter et al., 1999). Cette hormone permet également la différenciation de ces NPCs, mais de façon opposée à la leptine. En effet, si la leptine différencie fortement les progéniteurs en neurones et peu en astrocytes, l'insuline oriente majoritairement cette différenciation vers un phénotype astrocytaire et peu neuronal (Desai et al., 2011). L'injection intra-hypothalamique d'insuline à J8 est associée à des altérations morphologiques des noyaux dont l'ARC et le VMN, associées à des troubles métaboliques et une adiposité à long terme (Plagemann et al., 1992, 1999a, 1999b).

L'amyline est un peptide sécrété par le pancréas, détectée dans cet organe dès la treizième semaine de grossesse chez l'humain, bien que le nombre de cellules sécrétrices soit encore très faible (In't Veld et al., 1992). Ce peptide est nécessaire à la neurogenèse puis au développement optimal des projections axonales qui relient l'area postrema au NTS (Liberini et al., 2016; Abegg et al., 2017). Dans l'ARC, le VMN et la LHA, elle influence la neurogenèse, la pousse axonale et la signalisation de la leptine (Abegg et al., 2017; Liberini et al., 2016; Lutz et Le Foll, 2019; Rosin et Kurrasch, 2019). Les rats du modèle de rat sensible à l'obésité (obese-prone) de Levin, sélectionnés par croisements pour développer une obésité induite par un régime hyperénergétique (Levin et al., 1997a), présentent des altérations dans les connexions AgRP/NPY et POMC/CART entre l'ARC et le PVN. L'injection quotidienne d'amyline durant la période de neurodéveloppement (J0 à J6 ou J16) permet le développement optimal de ces connexions, et augmente le nombre de neurones ARC^{POMC/CART} (Johnson et al., 2016). Cet effet neurotrophique serait expliqué par la capacité de l'amyline à augmenter le signal leptinémique dans l'ARC et le VMN, déficient dans l'hypothalamus de ces rats, mais néanmoins nécessaire au neurodéveloppement. Une étude récente démontre un autre rôle de l'amyline, non pas sur les neurones, mais sur la maturation de cellules microgliales dans l'hypothalamus (Lutz et Le Foll, 2019).

La sérotonine (voir chapitre 2 partie 4.2.) joue de nombreux rôles durant le neurodéveloppement, notamment dans la prolifération (Varrault et al., 1992; Brezun et Daszuta, 1999) et la migration des progéniteurs (Riccio et al., 2009; Vitalis et Parnavelas, 2003) ainsi que leur différenciation en neurones (Vitalis et al., 2007; Lavdas et al., 1997) et la survie de ces derniers (Dooley et al., 1997). Chez la souris, la sérotonine est détectable au niveau central dès la deuxième semaine de gestation et sa concentration augmente progressivement jusqu'à la naissance (Bonnin et al., 2011). Cette augmentation est plus précoce et rapide dans le tronc cérébral que dans le reste du cerveau. Les projections neuronales contenant de la sérotonine commencent à apparaître dès le début

de la dernière semaine de gestation (E16), mais n'atteignent leur pleine maturité qu'au moment du sevrage (J21) (Wallace et Lauder, 1983). Ces données indiquent qu'une altération de la signalisation de la sérotonine durant la gestation et la lactation pourrait entraîner des altérations neurodéveloppementales, participant à l'âge adulte à l'étiologie de divers troubles psychologiques et métabolique (pour revues voir Lesch et Waider, 2012; Martin et al., 2017).

La période de plasticité neuronale correspondant à la mise en place des différents circuits cérébraux régulant le comportement alimentaire est sensible aux concentrations circulantes de leptine, ghréline et insuline. Avant de jouer leurs rôles orexigéniques ou anorexigéniques caractérisés à l'âge adulte lorsque les structures cérébrales sont matures, ces hormones et peptides jouent un rôle neurotrophique et dans la prolifération cellulaire. Une altération de la concentration de ces hormones et peptides impacte le neurodéveloppement et est associée pour certains d'entre eux à des conséquences à long terme sur le métabolisme, l'adiposité et la prise alimentaire.

2.2. L'alimentation et le statut métabolique maternels

D'autres facteurs environnementaux peuvent influencer le neurodéveloppement et la programmation du métabolisme du descendant, notamment des facteurs nutritionnels maternels. L'intérêt porté aux facteurs nutritionnels est de plus en plus soutenu depuis les travaux portant sur la famine hollandaise de 1944-1945. Ces travaux formulent l'hypothèse qu'une perturbation des facteurs environnementaux, tels que la nutrition de la mère en période prénatale, induirait une adaptation développementale du fœtus et augmenterait le risque de développer à l'âge adulte un syndrome métabolique incluant une obésité, une intolérance au glucose, ou un profil lipidique athérogène (Ravelli et al., 1976; Roseboom et al., 2001). Le développement des circuits cérébraux de l'hypothalamus est lui aussi sensible à une sur- ou sous-nutrition périnatale. Les études épidémiologiques portant sur une sous-nutrition maternelle durant cette période développementale ont mis en évidence chez les descendants adultes issus de ces mères des déficits cognitifs et comportementaux tels qu'une schizophrénie, ou un retard dans l'apprentissage du langage (pour revue voir Yan et al., 2018). A l'inverse, un excès de nutriments en période pré- et/ou postnatale est associé à des altérations structurelles de l'hypothalamus, en partie médiées par une sécrétion et/ou une signalisation leptinémique, ghrélinémique et insulinémique anormales (pour revue voir Bouret, 2017). De plus, la modulation de la concentration de ces hormones par des facteurs maternels durant des périodes temporelles critiques impacte à court et

long termes la structure et le fonctionnement de ces neurones hypothalamiques impliqués dans la régulation du comportement alimentaire (pour revues, voir Dearden et Ozanne, 2015; Elson et Simerly, 2015; Bouret, 2017).

La consommation d'un régime hyper-énergétique est associée à des déséquilibres homéostatiques, notamment une hyperleptinémie et une hyperinsulinémie. Ainsi, si un tel régime est suivi durant la gestation, ces altérations des taux plasmatiques hormonaux pourraient se retrouver chez le fœtus. Bien que controversés (Zeltser, 2018), des travaux ont démontré le passage de la leptine maternelle à travers le placenta (Smith et Waddell, 2002, 2003) et dans le lait (Brunner et al., 2015). L'hyperleptinémie maternelle influence la croissance et le poids fœtaux et néonataux, positivement (Mantzoros et al., 2009; Kon et al., 2014; Simpson et al., 2016; Meyer et al., 2018) ou négativement (Nilsson et al., 2003; Brunner et al., 2015). Or une altération du poids de naissance est désormais connue pour avoir des conséquences à long terme sur le fonctionnement cérébral, l'augmentation de l'anxiété à l'âge adulte, l'obésité et la composition corporelle, ou encore des dérégulations du métabolisme glucidique (Gampel and Nomura, 2014; Palatianou et al., 2014). La ghréline maternelle passe également la barrière placentaire et sa concentration est positivement corrélée au poids de naissance des descendants chez le rongeur (Hayashida et al., 2002; Nakahara et al., 2006) et l'Homme (Allbrand et al., 2018). L'insuline maternelle passe dans le lait (Fields et Demerath, 2012) mais ne traverserait pas spontanément le placenta (Keller and Krohmer, 1968) à moins d'être liée à des immunoglobulines G (IgG) (Jovanovic and Pettitt, 2007). Cependant, la glycémie de la mère stimule la production endogène d'insuline par le fœtus (Baumann et al., 2002), induisant une hyperinsulinémie compensatrice (Desoye et al., 2011).

Chez le rat, un diabète gestationnel, même modéré, altérerait la capacité neurotrophique de l'insuline chez le descendant, induisant chez celui-ci des altérations neurodéveloppementales, spécifiquement dans les noyaux hypothalamiques régulant la prise alimentaire. Au sevrage (J21), correspondant à la fin de la période critique de différenciation de l'hypothalamus, les ratons issus de mère diabétique montrent une réduction du cytoplasme des neurones de l'ARC, du VMN et du PVN, ainsi qu'un ratio glie/neurones augmenté dans cette dernière zone (Plagemann et al., 1999a).

Chez le rat, la consommation d'un régime riche en gras par la mère, de même que son obésité, augmente le nombre de neurones orexigènes et réduit celui des neurones anorexigènes dans l'ARC, le PVN et la LHA des descendants durant les premières semaines de vie voire *in utero*, soit bien avant le développement d'un surpoids ou d'une hyperphagie (Chang et al., 2008; Kirk et al., 2009; Grayson et al., 2010; Bouret, 2017). La consommation d'un tel régime par la mère induit chez les ratons une fois à l'âge adulte une intolérance au glucose et une résistance à l'insuline (Yokomizo et al., 2014). Cette

résistance à l'insuline se transmet à la génération suivante, de même que des altérations dans l'expression du récepteur à la ghréline, indiquant la mise en place d'un mécanisme épigénétique (Dunn et Bale, 2009). Ce mécanisme est persistant, puisqu'à la troisième génération, la résistance à l'insuline est retrouvée, mais uniquement chez les femelles, et est d'origine paternelle (Dunn et Bale, 2011). L'étude de Yokomizo et al. (2014) conforte cet aspect « sexe » de la résistance à l'insuline et de l'intolérance au glucose puisque ce phénotype est plus important chez les femelles que chez les mâles adultes. Outre un impact sur les circuits homéostatiques de l'hypothalamus, un régime HED (hyper-énergétique : riche en gras et en sucres) durant la gestation et la lactation de la rate provoque une altération des circuits hédoniques chez les rats mâles selon le stade de développement (Paradis et al., 2017) et modifie les préférences alimentaires des rats une fois adultes (Bayol et al., 2007). Le type de régime maternel, hyper-énergétique, riche en gras (HFD) ou riche en sucre (HSD, *high sucrose diet*), conduirait à des impacts différents sur la préférence hédonique alimentaire, la prise alimentaire et la réponse NPY des descendants (Kozak et al., 2005).

Outre les altérations hormonales et nutritionnelles, d'autres modifications de l'homéostasie maternelle, notamment immunitaires altèrent le neurodéveloppement du descendant. Chez les rongeurs, une infection virale, bactérienne, ou l'injection de composés mimant de telles infections (l'acide [Poly(I:C)] ou des LPS (lipopolysaccharides) bactériens) durant la gestation, induit des altérations cérébrales structurelles et fonctionnelles chez la descendance (Meyer et al., 2009; Knuesel et al., 2014; Meyer, 2014).

2.3. Les périodes critiques d'influence

L'impact de l'alimentation et du métabolisme maternels sur le neurodéveloppement du descendant est particulièrement marqué si des altérations concernant ces facteurs se produisent lors de fenêtres critiques développementales. Chez le rongeur, une exposition à ces altérations maternelles durant la lactation semble plus influente sur le neurodéveloppement, la prise alimentaire et le métabolisme du descendant qu'une exposition de celui-ci durant la gestation (Bouret et al., 2004b; Fahrenkrog et al., 2004; Bayol et al., 2007; Sun et al., 2012; Vogt et al., 2014). Une intervention durant la lactation, par exemple un apport de leptine à des souris^(ob/ob) génétiquement déficientes en leptine, restaure le phénotype neuronal normal observé chez des souris non déficientes (Bouret et al., 2004b). Cependant, la même intervention à l'âge adulte n'a pas d'impact (Bouret et al., 2004b). Chez l'Homme, une dénutrition maternelle durant le premier ou le dernier

trimestre de grossesse induit des altérations différentes chez la descendance, notamment en terme de développement d'obésité (Ravelli et al., 1976).

Des altérations du régime alimentaire et/ou du métabolisme maternels, impactent à court et long termes le fonctionnement neuronal, le métabolisme, la composition corporelle, la prise alimentaire ou encore les préférences alimentaires des descendants. Cette influence maternelle sur le descendant varie selon la fenêtre temporelle durant laquelle il y est exposé, ainsi que selon le sexe. Cependant, d'autres études sont nécessaires pour confirmer le rôle des facteurs maternels dans la programmation à long terme du comportement alimentaire du descendant selon son sexe.

L'altération de l'homéostasie métabolique associée à la consommation d'un régime déséquilibré (HED, HFD, HSD) est associée à une modification de la composition du microbiote intestinal, de plus en plus identifié comme un acteur clé dans la régulation de la santé de l'hôte. De plus, le microbiote intestinal maternel et/ou néonatal jouerait un rôle important dans la programmation du fonctionnement neuronal ou des maladies qui lui sont associées (Codagnone et al., 2019). La période néonatale serait donc une période critique durant laquelle l'interaction entre alimentation, métabolisme et microbiote intestinal de la mère et/ou du descendant pourrait influencer le comportement de celui-ci à l'âge adulte (fig12).

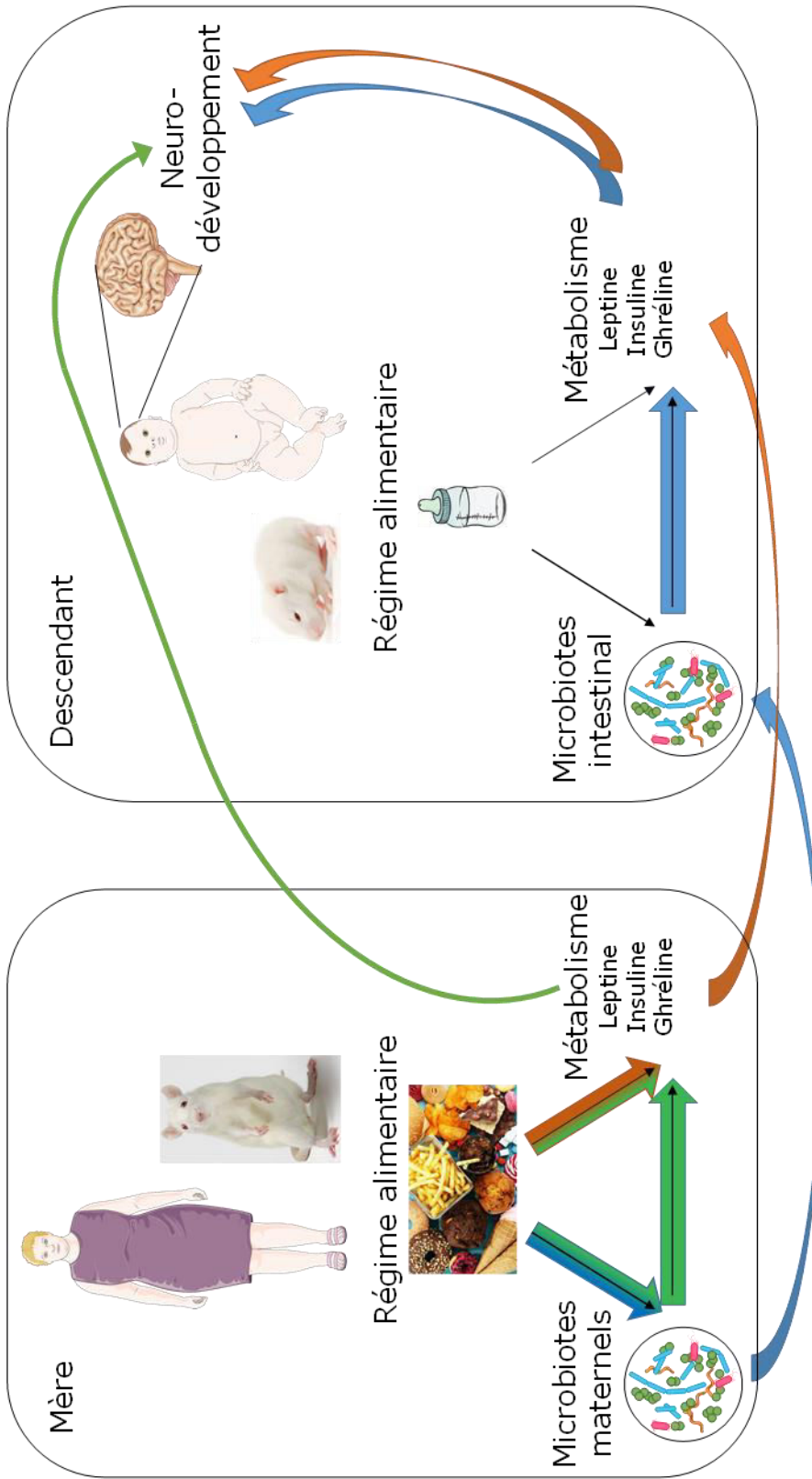


Figure 12. Représentation schématique des différentes voies par lesquelles la mère peut influencer le neurodéveloppement de sa descendance. Flèches marron : un régime alimentaire déséquilibré chez la mère altère son métabolisme. Les hormones le régulant passent à sa descendance (à travers le placenta ou *via* le lait), et induisent des mécanismes métaboliques compensateurs, altérant son neurodéveloppement. Flèches vertes : un régime alimentaire déséquilibré chez la mère altère les taux d'hormones métaboliques, soit de façon directe soit *via* l'altération de la composition du microbiote intestinal. Ces hormones passent ensuite chez la descendance et influent directement sur son neurodéveloppement. Flèches bleues : un régime alimentaire déséquilibré chez la mère altère la composition de ces microbiotes. Elle transfère alors des bactéries associées à un phénotype délétère à sa descendance. Le microbiote intestinal de sa descendance influe de façon négative sur son métabolisme, ce qui altère son neurodéveloppement.

Chapitre 2

Microbiote intestinal du descendant : mise en place et facteurs influençant sa composition

Chapitre 2. Microbiote intestinal du descendant : mise en place et facteurs influençant sa composition

Le terme de « flore intestinale », a longtemps été utilisé pour désigner les micro-organismes vivants dans l'intestin. Ce terme est tombé en désuétude au profit de l'appellation « **microbiote** » (Goetz, 1950), associé pour la première fois à l'Homme en 1966 en tant que « microbiote intestinal » (Dubos, 1966). Le microbiote intestinal est non seulement composé de bactéries, mais aussi de virus et de phages (Virgin, 2014), de levures, de vers, d'archae (Glendinning et Free, 2014), de protozoaires et de champignons (Scanlan et Marchesi, 2008) dont les rôles restent encore peu caractérisés. Progressivement, d'autres types de microbiotes ont été identifiés en association avec les différentes parties du corps : microbiote cutané, oro-pharyngé, nasal, pulmonaire, vaginal ou encore associé au lait maternel (fig.13) (Cabrera-Rubio et al., 2012; Blum, 2017).

Le terme « **microbiome** » a été originellement défini comme l'ensemble des génomes des micro-organismes constituant le microbiote (Hooper et Gordon, 2001). Avec l'usage, il peut également faire référence à l'ensemble des constituants moléculaires (métagénome, transcriptome, métabolome, métabolome) caractérisant un microbiote (Doré et al., 2017b).

La composante bactérienne des microbiotes étant majoritaire et la plus étudiée à l'heure actuelle (Cassard et Thomas, 2017), l'utilisation du terme « microbiote » dans la suite de ce manuscrit fait référence aux seules bactéries, et le terme « microbiome » aux seuls génomes de ces bactéries.

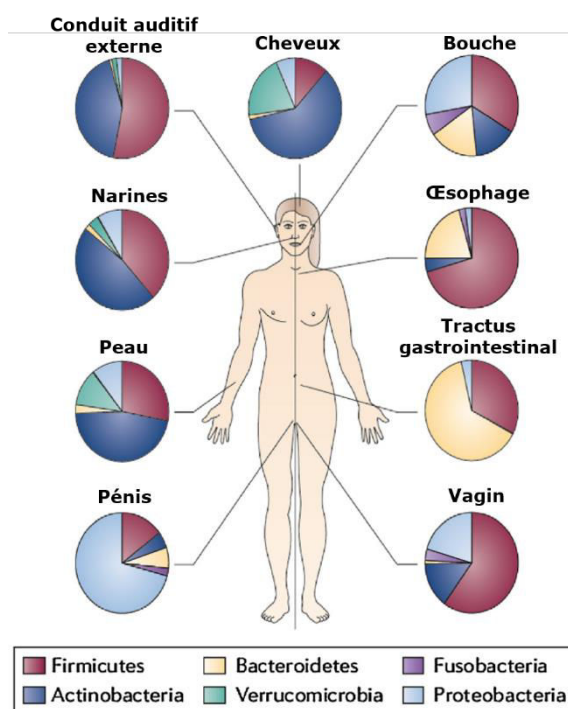


Figure 13. Différents microbiotes humains avec l'abondance moyenne des phyla dominants qui les composent. Celui associé au lait maternel n'est pas représenté. D'après Blum (2017).

A) Mise en place du microbiote intestinal du descendant

1. Naît-on stérile ?

En 1900, le pédiatre Henry Tissier déclarait que « le fœtus repose dans un environnement stérile » (Tissier, 1900). L'utérus en condition physiologique a donc été considéré comme stérile au cours de la grossesse (Funkhouser et Bordenstein, 2013) et la présence de bactéries liée à des facteurs de risques pour le fœtus et la mère (Martius et Eschenbach, 1990). Avec l'évolution des techniques d'analyse du microbiote, de plus en plus sensibles, un nombre croissant de travaux scientifiques ont identifié la présence de bactéries dans des zones de l'hôte jusque-là considérées comme stériles : le placenta, le liquide amniotique, les membranes fœtales, le sang de cordon ombilical, le méconium (Baldassarre et al., 2018; Swartwout et Luo, 2018; Willyard, 2018b; van den Elsen et al., 2019), mais aussi le système nerveux central, le sang, les voies respiratoires basses, ou encore l'endoderme (Kuperman et Koren, 2016). Cependant, de nombreuses limites apparaissent dans ces travaux. En effet, la présence d'ADN ne signifie pas que des bactéries viables sont présentes. Même si des bactéries viables ont pu être identifiées dans des fœtus de souris, leur densité est très faible, de l'ordre de 10^1 à 10^3 ufc par fœtus (Younge et al., 2019). La sensibilité des techniques de séquençage associée à cette faible quantité de matériel génétique bactérien rend difficile l'exploitation des résultats suite à l'amplification de la contamination environnementale (Zhu et al., 2018). Une autre étude chez la souris démontre l'existence d'un passage de bactéries vivantes de la mère au fœtus. Une souche d'*Enterococcus faecium* marquée donnée oralement aux souris gestantes a été retrouvée dans le contenu intestinal des fœtus analysés après césarienne (Jiménez et al., 2008c). Cette dernière étude entre en contradiction avec l'existence des modèles d'animaux axéniques qui, par définition, naissent et grandissent dépourvus de tout microbiote (Perez-Muñoz et al., 2017).

La question de la présence ou non d'une colonisation *in utero* du tractus digestif du descendant reste donc entière. Cependant, la majeure partie des bactéries colonisant le descendant est transmise par sa mère et l'environnement à sa naissance.

2. Etablissement du microbiote intestinal et de ses capacités métaboliques

A la naissance, la lumière intestinale est un environnement aérobie. Ainsi, les premières bactéries à s'y implanter sont aérobies-anaérobies facultatives comme les *Enterobacterium*, *Enterococcus* ou *Staphylococcus*. Ces bactéries utilisent l'oxygène pour se développer et réduisent rapidement le potentiel redox de la lumière intestinale. En 2 à

5 jours chez l'Homme, ce changement de conditions physico-chimiques permet à des bactéries anaérobies strictes de pouvoir s'installer à leur tour, comme *Bifidobacterium*, *Bacteroides* et *Clostridium*) (Le Huërou-Luron et al., 2010; Butel et al., 2017; Milani et al., 2017; van den Elsen et al., 2019a) (fig.14).

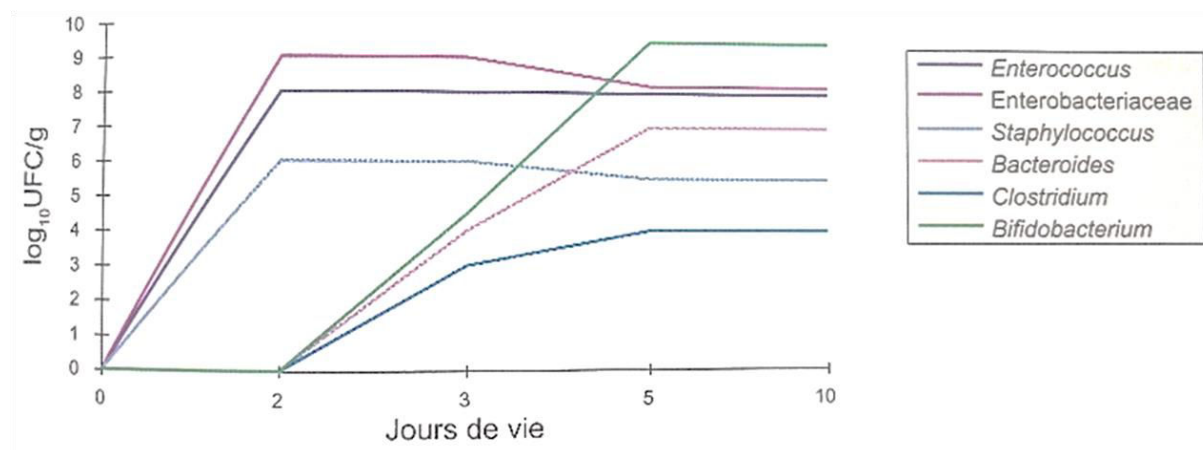


Figure 14. Profil d'établissement du microbiote intestinal au cours des premiers jours de vie d'un enfant né à terme par voie basse et allaité. UFC : unité formant colonies. Issue de Butel et al. (2017)

2.1. Mise en place du microbiote intestinal humain (fig.15)

Le microbiote postnatal est moins divers et plus variable que celui de l'adulte (Derrien et al., 2019a; Dominguez-Bello et al., 2019). Une explication à cette moindre diversité pourrait être la pression de sélection induite par la mono-consommation de lait maternel favorisant le développement des espèces capables d'utiliser les substrats qu'il contient (Dominguez-Bello et al., 2019), notamment celles du genre *Bifidobacterium* (Garrido et al., 2013) et *Bacteroides thetaiotaomicron* (Xu et al., 2003b), et de façon plus générale, les bactéries lactiques.

Chez l'Homme, de nombreux travaux ont caractérisé la composition du microbiote intestinal à divers stades de développement. A une semaine, le microbiote intestinal du nouveau-né est similaire à celui d'un nourrisson d'un mois (Hill et al., 2017). A six semaines, les différents microbiotes du nourrisson diffèrent significativement des microbiotes maternels vaginal et associé au lait, et leur composition s'adapte aux différents sites corporels (Chu et al., 2017). Vers six mois, l'introduction d'une nourriture solide augmente drastiquement la diversité du microbiote intestinal du nourrisson (Koenig et al., 2011; Laursen et al., 2016). La dominance des phyla Firmicutes et Bacteroidetes permet la production accrue d'acides gras à chaîne courte (AGCC) à partir de glucides complexes et d'amidon (Laursen et al., 2016). A un an, la diversité du microbiote intestinal est similaire à celui d'un adulte (Walker, 2017), avec un enrichissement de son microbiome en

voies métaboliques de la synthèse de vitamines et du métabolisme des substances xénobiotiques (Koenig et al., 2011).

Cependant, l'âge auquel le microbiote de l'enfant serait identique à l'adulte en termes de composition, de structure et de fonction ne fait pas consensus. Outre l'âge d'un an, les âges de 3 ans, 4 ans, voire même après 12 ans ont été proposés (Yatsunenko et al., 2012; Ringel-Kulka et al., 2013; Hollister et al., 2015). De telles différences entre ces études pourraient être dues aux moyens utilisés pour analyser le microbiote et au traitement bio-informatique associé, mais également à l'origine géographique des cohortes, aux tranches d'âges identifiées comme « enfants » et « adultes », ainsi que l'expression des différences en terme de nombre de taxa (α -diversité), d'abondance relative de ces taxa, de distance entre les structures des communautés bactériennes (β -diversité), ou encore de voies métaboliques potentielles. D'autres études avec un protocole standardisé sont nécessaires pour statuer sur l'évolution du microbiote intestinal du descendant en période néonatale.

2.2. Mise en place du microbiote intestinal du rat

A notre connaissance, très peu de données existent sur la mise en place du microbiote intestinal du raton. La composition du microbiote intestinal change drastiquement entre la première et la deuxième semaine de vie (Fança-Berthon et al., 2010). A ce stade (J16), l'abondance des différents genres bactériens analysés par qPCR atteint déjà celle de l'adulte (J100) (Fança-Berthon et al., 2010). Cette similarité pourrait être expliquée par un développement moteur suffisant pour pouvoir commencer à ingérer la nourriture solide maternelle. Contrairement à l'activité de la lactase dans le jéjunum qui diminue progressivement jusqu'au sevrage (J22), la production d'AGCC augmente progressivement d'un facteur 4 entre J5 et J40. A J40 cependant, la concentration d'AGCC totaux reste moitié moindre que celle mesurée à l'âge adulte (J100). Contrairement à l'acétate, et dans une moindre mesure au propionate et aux AGCC mineurs, le butyrate n'est pas détectable dans le contenu cæco-colique des ratons avant J16, indiquant une immaturité fonctionnelle du microbiote. A l'inverse, la concentration de polyamines chute drastiquement à partir du sevrage et reste à la limite du seuil de détection jusqu'à l'âge adulte (Fança-Berthon et al., 2010). Ces résultats confirment le travail d'Inoue et Ushida (2003) démontrant une augmentation de la diversité du microbiote intestinal de ratons après le sevrage et une stabilité de cette diversité à partir de J24-27. Cependant, d'autres études ciblant la composition du microbiote intestinal du raton avant le sevrage sont nécessaires pour définir précisément son schéma d'installation et les facteurs précoces pouvant l'influencer.

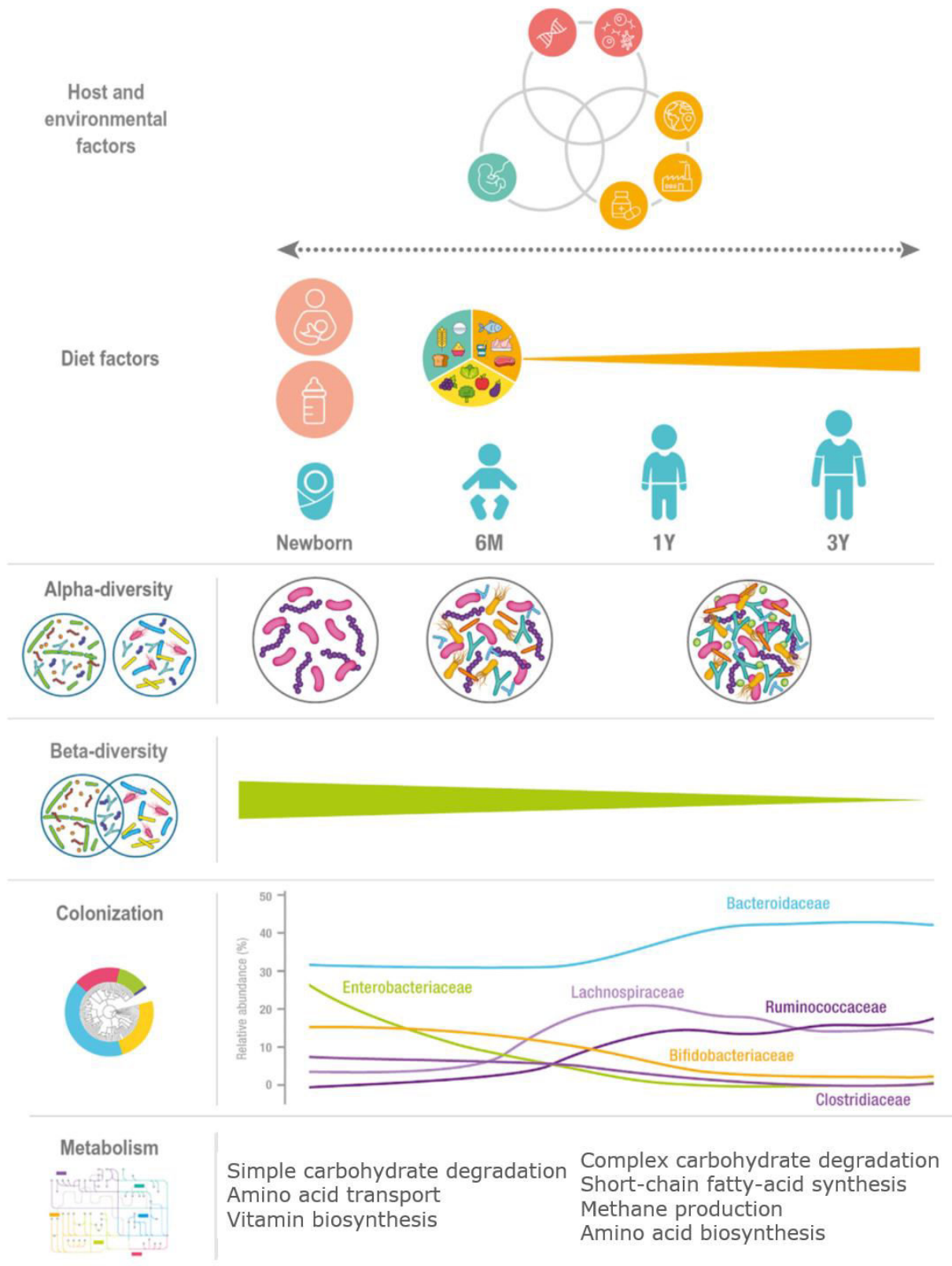


Figure 15. Vue schématique du développement du microbiote intestinal de l'enfant durant les 3 premières années de vie. La diversité bactérienne augmente avec l'âge, tandis que les variations inter-individuelles (β -diversité) diminuent. M : mois ; Y : année. Issue de Derrien et al. (2019)

B) Facteurs influençant la composition du microbiote intestinal du descendant

1. Les microbiotes maternels

Parmi l'ensemble des microbiotes de l'organisme, ceux associés à l'intestin, au vagin et au lait sont les communautés les plus étudiées chez la dyade mère-descendant.

1.1. Le microbiote intestinal

La plupart des données connues sur le microbiote intestinal de l'adulte s'applique également à la mère, y compris durant la gestation et la lactation. Cette partie n'est donc pas restreinte aux seules mères.

Composition du microbiote intestinal. La masse bactérienne intestinale d'un adulte est comparable à celle de son cerveau (Forsythe et Kunze, 2013) (Parent, 1996). Il serait composé d'environ 1 800 genres pour 40 000 souches différentes (Forsythe et Kunze, 2013; Frank et Pace, 2008; Luckey, 1972). L'affirmation d'un nombre de bactéries 10 fois plus important que le nombre de nos propres cellules a persisté jusqu'en 2014, où il a été mis en doute, puis ré-évalué à 1,3:1 en 2016 (Abbott, 2016; Sender et al., 2016). Le génome du microbiome intestinal contient environ 10 millions de gènes bactériens (Li et al., 2014), bien plus que les 21 000 gènes du génome humain, mais ce nombre reste soumis à controverse (Willyard, 2018b).

Les diverses conditions physico-chimiques rencontrées le long du tractus digestif, notamment les variations de pH, sont à l'origine du développement de populations bactériennes spécifiques, adaptées à ces habitats (Walter and Ley, 2011; Sender et al., 2016) (fig.16). Ces populations sont composées à la fois de micro-organismes autochtones et allochtones (Savage, 1977). Les bactéries autochtones occupent des niches écologiques par une adaptation génétique à leur habitat, et forment une population stable sur de longues périodes de temps et sont retrouvées chez de nombreux individus différents (Walter et Ley, 2011). Les membres allochtones au contraire, n'ont pas de niches spécifiques, ne contribuent que peu au fonctionnement de l'écosystème (Savage, 1977) et proviennent dans la majorité des cas de l'environnement extérieur *via* l'alimentation ou des parties proximales du tube digestif. Malheureusement, la plupart des études portent sur un échantillonnage unique et ne permettent donc pas de séparer les membres permanents des membres transitoires (Walter et Ley, 2011).

Sept phyla bactériens majoritaires composant le microbiote intestinal ont été identifiés par le séquençage de l'ADNr 16S : Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria,

Fusobacteria, Proteobacteria, Verrucomicrobia, Cyanobacteria, et un phyla d'archae représenté par le genre Methanobrevibacter (Eckburg et al., 2005).

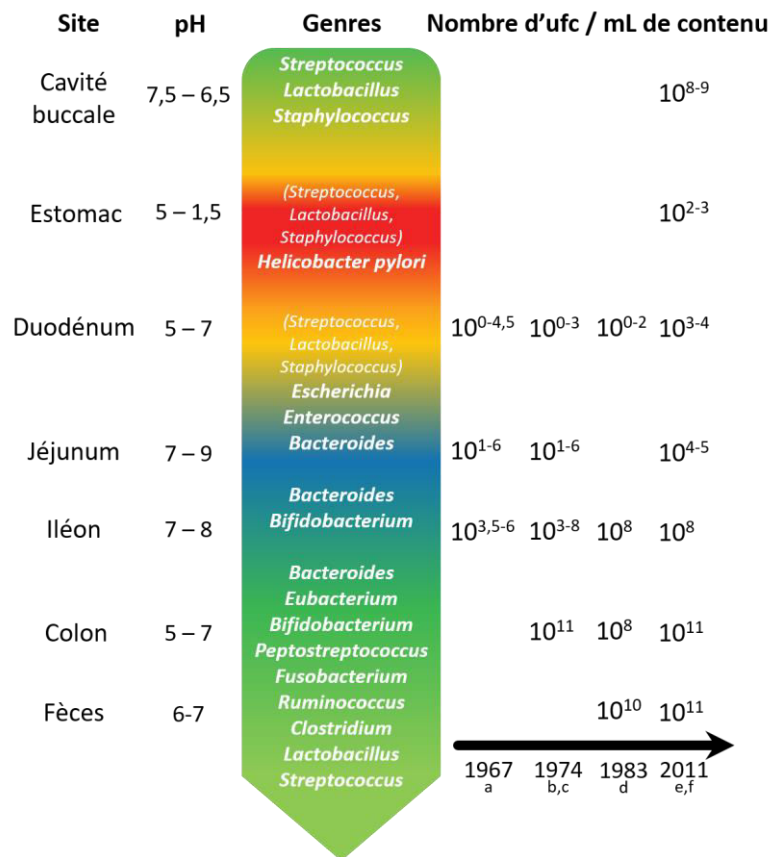


Figure 16. Genres bactériens les plus identifiés dans les différentes parties du tube digestif. L'évolution des techniques d'analyse du microbiote (culture, séquençage de l'ADNr 16S, puis métagénomique, a permis de caractériser de plus en plus précisément les taxa. *ufc* : unité formant colonie. 1 ufc = 1 bactérie. a) Gorbach et al., 1967; b) Draser et Hill, 1974; c) Morre & Holdeman, 1974; d) Finegold, 1983; e) Walter et ley, 2011. f) Sender et al., 2016.

Parmi ces divisions phylogénétiques, deux phyla dominants, Firmicutes et Bacteroidetes, représentent 80 à 95% des séquences d'ADNr 16S séquencées (Suau et al., 1999; Eckburg et al., 2005; Ley et al., 2006) bien que certains auteurs comptent 3 phyla majoritaires avec Actinobacteria (Tap et al., 2009), voire quatre avec les Protéobactéries (Harmsen et de Goffau, 2016).

Dans l'intestin grêle, le cæcum et le côlon, deux populations bactériennes différentes cohabitent dans deux niches écologiques séparées : la lumière intestinale avec un contenu liquide en mouvement et en anaérobiose stricte, et la partie superficielle du mucus intestinal, moins brassée et plus riche en oxygène du fait de sa proximité avec les cellules épithéliales et les capillaires sanguins (Zoetendal et al., 2002; Eckburg et al., 2005; Espey, 2013; Albenberg et al., 2014; Doré et al., 2017b). Les populations de la lumière intestinale sont dominées à 90% par les Firmicutes (Enterococcaceae et Lactobacillaceae) et les Bacteroidetes (Bacteroidaceae) (Nava et al., 2011), mais la structure et l'activité des

communautés varient dans l'espace au gré des contractions péristaltiques et des apports différents provenant du grêle (Marteau et al., 2001; Zoetendal et al., 2002; Cremer et al., 2016). Les communautés bactériennes proches de la muqueuse sont plus stables (Zoetendal et al., 2002; Eckburg et al., 2005), bien que moins denses et moins diverses que les communautés de la lumière, chez l'Homme (Willing et al., 2010) comme chez le rat (Li et al., 2017). Ces populations mucosales seraient majoritairement représentées par les Firmicutes, notamment les clusters XIV et IV des Clostridiales (Wang et al., 2003, 2005), comprenant entre autres les Lachnospiraceae et Ruminococcaceae (Zoetendal et al., 2002). *Akkermansia muciniphila* ne se développerait qu'au contact de la muqueuse (Desai et al., 2016). Cependant, peu de données existent sur la composition du microbiote associé à la muqueuse intestinale. Ces bactéries adhérentes à la muqueuse sont capables de synthétiser les enzymes leur permettant de dégrader la couche de mucus produite par les cellules caliciformes ou cellules à mucus de l'hôte (Aron-Wisnewsky et Clément, 2017). Par cette proximité, elles interagissent de façon plus soutenue que les bactéries de la lumière intestinale avec l'épithélium de l'hôte, et jouent un rôle clé dans la régulation de l'homéostasie intestinale (Tomas et Sansonetti, 2017).

A l'échelle de l'individu, la composition du microbiote intestinal est stable dans le temps (Costello et al., 2009; Goodman et al., 2011; Walter et Ley, 2011; Bernalier-Donadille et Pochart, 2017; Doré et al., 2017c) et la redondance des fonctions métaboliques entre les différents taxa permet à ce microbiote d'être résilient suite à des modulations (Turnbaugh et al., 2009; Rizkalla et Doré, 2017) telles que la prise d'antibiotiques. De cette stabilité découle la notion de « noyau phylogénétique » conservé entre individus. Ce noyau est composé d'une soixantaine d'OTUs représentées par 17 genres bactériens, dont *Faecalibacterium*, *Ruminococcus*, *Eubacterium*, *Dorea*, *Bacteroides*, *Alistipes* et *Bifidobacterium* retrouvés chez 50 à 90% des individus (Tap et al., 2009; Qin et al., 2010; Willing et al., 2010). De la même façon, une fraction des gènes du métagénome intestinal bactérien, elle aussi conservée entre les individus, constitue notre « noyau métagénomique » (Tap et al., 2009; Qin et al., 2010).

Le profil métagénomique du microbiote intestinal de quelques milliers de personnes a permis d'établir l'existence de trois structures de communautés bactériennes intestinales majoritaires, appelées « entérotypes » (fig.17). Ces structures sont chacune dominée par un genre bactérien : *Bacteroides*, *Prevotella*, ou *Ruminococcus* (Arumugam et al., 2011; Harmsen et de Goffau, 2016). Ces structurations favorisées autour d'un genre clé indiquent qu'il existe des interactions préférentielles entre bactéries, ou au contraire des incompatibilités (Bernalier-Donadille and Pochart, 2017).

Variabilité du microbiote intestinal. Il existe une grande variabilité inter-individuelle dans la composition du microbiote intestinal en termes de taxa et de leurs abondances respectives (Costello et al., 2009; Eckburg et al., 2005; Tap et al., 2009; Turnbaugh et al., 2009; Doré et al., 2017c), notamment due à des facteurs associés à l'hôte tels que la génétique (Turnbaugh et al., 2006), le rythme circadien (Aron-Wisnewsky and Clément, 2017), le régime alimentaire (Turnbaugh et al., 2008), le poids (Bäckhed et al., 2004), l'âge et la localisation géographique (Yatsunencko et al., 2012), ou encore l'état de santé (Doré et al., 2017a) et le genre (Jašarević et al., 2016). Au cours du temps, la structure du microbiote intestinal d'un individu est dynamique et pourrait se déplacer régulièrement dans l'espace écologique définis par les trois entérotypes (Knights et al., 2014; Bernalier-Donadille and Pochart, 2017).

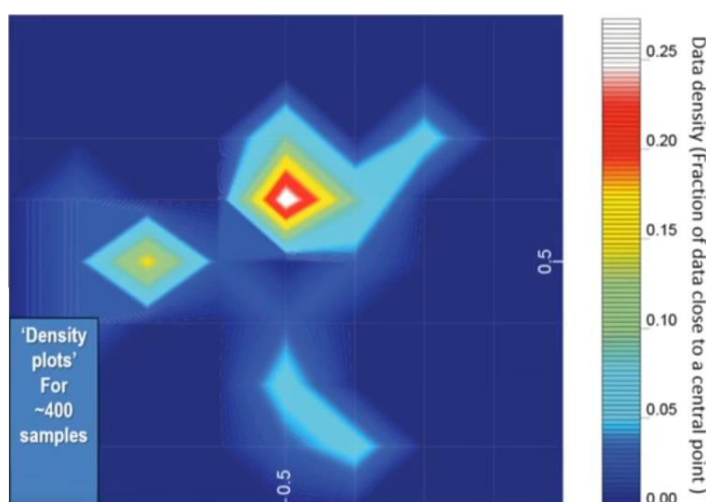


Figure 17. Paysage écologique des microbiotes intestinaux humains présentant leur densité en fonction de leur composition en genres bactériens et illustrant les trois entérotypes avec leur genre dominant respectif. (Issue de Doré, 2013).

1.2. Le microbiote vaginal

Composition du microbiote vaginal. Les *Lactobacillus* sont des bactéries anaérobies facultatives se développant plus rapidement en anaérobie stricte en l'absence d'espèces réactives de l'oxygène (Murphy et Condon, 1984). Les espèces et souches se développant dans le vagin, plus riche en oxygène que la lumière intestinale, ont le matériel génétique leur donnant la capacité de produire de l' H_2O_2 pour se protéger des radicaux libres (Mendling, 2016; Murphy et Condon, 1984), indiquant une adaptation spécifique de ces espèces à cet environnement.

Chez la femme, l'utilisation de la métagénomique a permis d'identifier plus de 200 - 250 espèces de *Lactobacillus* dans le microbiote vaginal (Li et al., 2012). Cependant, une femme cyclée n'en héberge qu'entre 10 et 15 environ (de Vos et al., 2012), dont seulement

une ou deux sont dominantes parmi *Lactobacillus crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii*, *L. iners* (Vásquez et al., 2002). Ces espèces sont retrouvées à des densités de l'ordre de 10^6 à 10^8 ufc/mL de suspension vaginale (Jespers et al., 2012). Cependant, l'affirmation d'un écosystème vaginal dominé par les *Lactobacillus* est remise en question au vu de l'augmentation du nombre de travaux indiquant qu'au moins 25% des femmes ont un microbiote vaginal qui n'est jamais dominé par ce genre bactérien durant toute leur vie, sans pour autant que ces femmes soient sujettes à des pathologies vaginales (Zhou et al., 2004; Ravel et al., 2011; Hickey et al., 2012; Anahtar et al., 2015). Cinq « vagitypes » ou « community state types » (CSTs) ont été décrits (Zhou et al., 2007; Ravel et al., 2011; Gajer et al., 2012; Jespers et al., 2012; Mendling, 2016; Drell et al., 2017). Contrairement au microbiote intestinal, chaque CST est dominé par un seul, au maximum deux taxon(s) (Zhou et al., 2007; Jespers et al., 2012; Mendling, 2016; Drell et al., 2017) (tableau 1).

De la même façon que celui de la femme, le microbiote vaginal des rongeurs peut être caractérisé en différents CSTs, nommés mCSTs (*murine community state types*) (Vrbanac et al., 2018a). Cependant, les genres dominants de ces communautés sont très différents, et *Lactobacillus* est rarement dominant (Hafner et al., 1996) (tableau 1). Chez la rate, le microbiote vaginal serait dominé par les phyla Proteobacteria, Firmicutes et Actinobacteria (Levy et al., 2019), et présenterait une grande variabilité intra-individuelle (tableau 1).

Tableau 1. Comparaison de la composition du microbiote vaginal de la femme, de la souris et de la rate non gestantes.

	Femme	Souris	Rate
(m)CST I	<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Staphylococcus</i>	Dominé par :
(m)CST II	<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Staphylococcus</i> + <i>Enterococcus</i>	- Proteobacteria (<i>Proteus</i> , <i>Escherichia/Shigella</i> , <i>Morganella</i> , <i>Pasteruellaceae</i>)
(m)CST III	<i>Lactobacillus iners</i>	<i>Enterococcus</i>	
(m)CST IV	Mélange de <i>Gardnerella</i> , <i>Atopobium</i> , <i>Prevotella</i> et de Clostridiales	<i>Lactobacillus</i>	- Firmicutes (<i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Aerococcus</i>)
(m)CST V	<i>Lactobacillus jensenii</i>	Pas de dominance Diversité élevée	- Actinobacteria (<i>Corynebacterium</i>)
Références	Fredricks et al., 2008 Ravel et al., 2011 Gajer et al., 2012	Vrbanac et al., 2018	Levy et al., 2019

Ces résultats chez la souris et la rate sont cependant à prendre avec précaution puisqu'ils sont basés sur l'analyse d'un nombre très restreint de séquences d'ADNr 16S (1500 – 1700), et donc peu informatifs et fiables.

Le microbiote vaginal des modèles de rongeurs reste difficile à étudier par la faible surface de muqueuse échantillonnable. Ceci implique une densité bactérienne collectée souvent en dessous du seuil de détection des réactions d'amplification nécessaires au séquençage, ainsi qu'une augmentation de la détection d'ADN contaminant. La composition du microbiote vaginal des rongeurs reste donc peu décrite et nécessite des études supplémentaires.

Variabilité du microbiote vaginal. Les changements dans la composition du microbiote vaginal ne s'expriment pas en terme de changement d'abondance relative de taxons, mais en terme d'écosystème microbien complet, qui passe d'un CST à un autre (Gajer et al., 2012). De plus, ces changements sont rapides et fréquents (fig.18). En effet, bien que certaines femmes présentent une stabilité temporelle, des études longitudinales ont démontré que la plupart des microbiotes vaginaux subissent des fluctuations

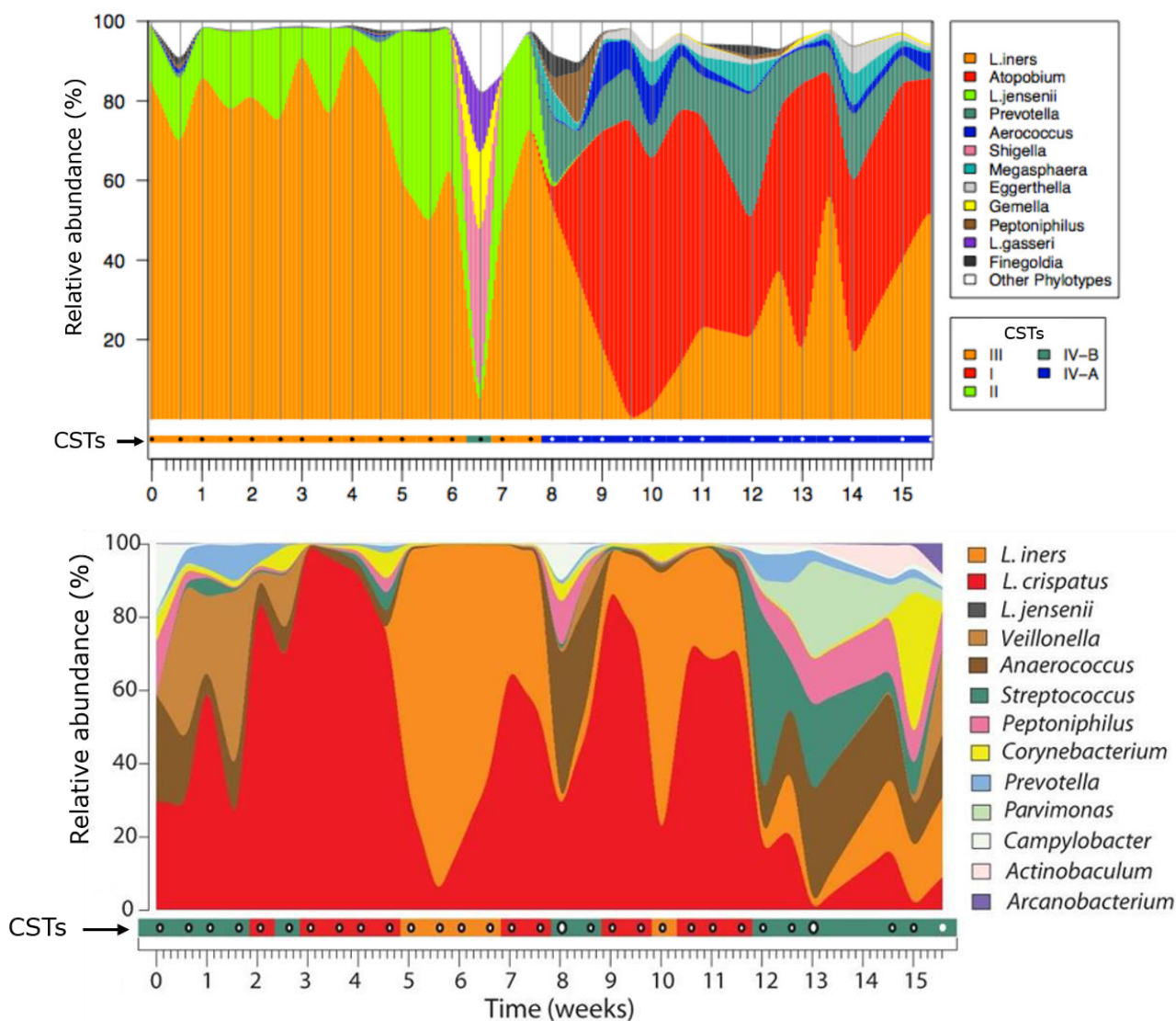


Figure 18. Variabilité temporelle et inter-individuelle du microbiote vaginal chez la femme. Extraites de Gajer et al (2012). Chaque graphique représente l'évolution de l'abondance relative en taxa et du CST (*community state type*) correspondant d'une seule femme durant 15 semaines.

journalières ou hebdomadaires (Smith et Ravel, 2017) (fig.18). Ce microbiote est donc un écosystème particulièrement dynamique, tant et si bien qu'il n'a pas été possible d'en définir un noyau phylogénétique constant comme pour celui de l'intestin (Ravel et al., 2011).

Origine du microbiote vaginal. Si l'idée d'une translocation bactérienne de l'intestin vers la muqueuse vaginale est reprise dans de nombreuses revues scientifiques (pour exemples, Mendling, 2016; Reid, 2018), aucune étude n'a à ce jour caractérisé et confirmé l'existence d'une telle translocation. Les premiers indices d'un tel passage proviennent de travaux impliquant la prise orale de souches spécifiques de bactéries, et par la suite de leur identification dans le vagin (Hilton et al 1992) (Shalev et al 1996). (Reid et al., 2001, 2003; Gardiner et al., 2002; Morelli et al., 2004; Strus et al., 2012). Les mécanismes par lesquels les bactéries pourraient coloniser la muqueuse vaginale n'ont jamais été décrit, et l'efficacité d'un tel passage est mise en doute (Reid, 2018).

1.3. Le microbiote associé au lait maternel

Le lait maternel est l'aliment de référence pour les nouveau-nés (Walker, 2010). L'OMS recommande l'allaitement exclusif pendant les 6 premiers mois de vie (WHO, 2001), apportant à l'enfant un mélange de cellules immunocompétentes, d'immunoglobulines et de composés anti-microbiens (Fernández et al., 2013a), en plus des lipides, protéines et glucides (Ballard et Morrow, 2013; Petherick, 2010). Bien qu'il ait longtemps été considéré comme stérile, le lait maternel contient des bactéries, transférées de la mère à l'enfant durant la tétée (Martín et al., 2003). Cet apport bactérien a été estimé par culture entre 10^4 et 10^6 bactéries par jour, pour une consommation quotidienne d'environ 800 mL de lait (Heikkilä et Saris, 2003).

Composition du microbiote associé au lait. Les premières cultures de lait maternel ont été réalisées sur des milieux favorisant la croissance des bactéries lactiques, streptocoques, staphylocoques et d'autres bactéries à Gram positives associées (Heikkilä et Saris, 2003; Martín et al., 2003; Reviriego et al., 2005; Jiménez et al., 2008a). Bien que cette technique présente l'avantage de dénombrer les bactéries métaboliquement actives, celles plus difficiles à cultiver ne sont pas identifiées. L'utilisation de la qPCR (Collado et al., 2009; Khodayar-Pardo et al., 2014), puis le séquençage de l'ADNr 16S (Cabrera-Rubio et al., 2012; Boix-Amorós et al., 2016) ont permis de caractériser de façon plus complète ce microbiote (Gueimonde et al., 2007; Martín et al., 2007b; Delgado et al., 2008) (tableau 2). Les genres les plus dominants et prévalents seraient, dans l'ordre décroissant, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Leuconostoc*, indiquant une diversité bactérienne importante.

Concernant les rongeurs, une seule étude, sortie en septembre cette année, a caractérisé la composition du microbiote associé au lait de souris. Le nombre de taxa identifiés dans le lait au moment du pic de production (J15) était d'environ 200 (Warren et al., 2019a), avec une majorité de séquences affiliées aux Firmicutes (39,7%), puis aux Proteobacteria (38,9%) et aux Actinobacteria (19,2%) (tableau 3).

Variabilité du microbiote associé au lait. Il existerait une grande variabilité inter-individuelle en terme de biomasse bactérienne, allant jusqu'à un facteur 10^4 entre deux femmes (de $10^{4,5}$ à 10^8 ufc/mL) (Boix-Amorós et al., 2016a). Une des explications pourrait être la contamination du lait par le microbiote de la peau de la mère, ou de la bouche du bébé, venant enrichir la diversité et la densité bactérienne initiale (Fernández et al., 2013a; LaTuga et al., 2014). Une autre pourrait être l'absence de standardisation dans les méthodes de collection et de stockage (West et al., 1979). Chez la femme, cette densité bactérienne varierait également au cours de la lactation. Elle serait significativement moins élevée dans le colostrum (du 1^{er} au 5^{ème} jour) par rapport au lait dit « de transition » (du 6^{ème} au 15^{ème} jour) ou au lait mature (du 17^{ème} au 19^{ème} jour) (Khodayar-Pardo et al., 2014), alors que d'autres travaux indiquent une densité bactérienne maximale dès les premiers jours de lactation (Perez et al., 2007a; Fernández et al., 2013a) (fig.19). Toujours chez la femme, les genres *Bifidobacterium* et *Enterococcus* augmenteraient durant la lactation (Cabrera-Rubio et al., 2012; Boix-Amorós et al., 2016). Cependant, ces résultats ne sont sans doute pas à généraliser étant donné la grande variabilité inter-individuelle observée dans ces deux études.

Tableau 2. Estimation du nombre d'espèces / taxa bactériens dans le lait maternel par différentes techniques.

Type d'analyse	Culture	qPCR (16S, <i>tuf</i> , <i>dll</i> , <i>fusA</i> et autres)	Séquençage de l'ADNr 16S
Nombre d'identifications	74 espèces	46 espèces	100 -250 taxa maximum 500 taxa
Références	Fernández et al., 2013	Collado et al., 2009 Khodayar-Pardo et al., 2014	Boix-Amorós et al., 2016 Cabrera-Rubio et al., 2016

Tableau 3. Caractérisation de la composition du microbiote associé au lait de souris.
D'après Warren et al., 2019

Famille	Genre	Abondance relative (%)	Famille	Genre	Abondance relative (%)
Bacteroidetes			Actinobacteria		
Bacteroidaceae	<i>Bacteroides</i>	négligeable	Micrococcaceae	<i>Rothia</i>	19,2
Porphyrimonadaceae	<i>Parabacteroides</i>	absent	Proteobacteria		
Rikenellaceae	non répertorié	négligeable	Rhizobiaceae	<i>Agrobacterium</i>	18,9
S24-7	non répertorié	absent	Comamonadaceae	<i>Delftia</i>	1,6
Firmicutes			Enterobacteriaceae	<i>Enterobacteriaceae</i>	négligeable
Planococcaceae	non répertorié	1,9	Pasteurellaceae	Autre	5,3
Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus</i>	3,8	Pasteurellaceae	<i>Haemophilus</i>	2,2
Lactobacillaceae	<i>Lactobacillus</i>	12,5	Pasteurellaceae	<i>Mannheimia</i>	2,3
Streptococcaceae	<i>Streptococcus</i>	8,4	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>	négligeable
Clostridiales	non répertorié	3	Xanthomonadaceae	non répertorié	3,5
Lachnospiraceae	non répertorié	1,7	Verrucomicrobia		
Ruminococcaceae	non répertorié	1,6	Verrucomicrobiaceae	<i>Akkermansia</i>	absent
Ruminococcaceae	<i>Oscillospira</i>	négligeable			
Ruminococcaceae	<i>Ruminococcus</i>	négligeable			

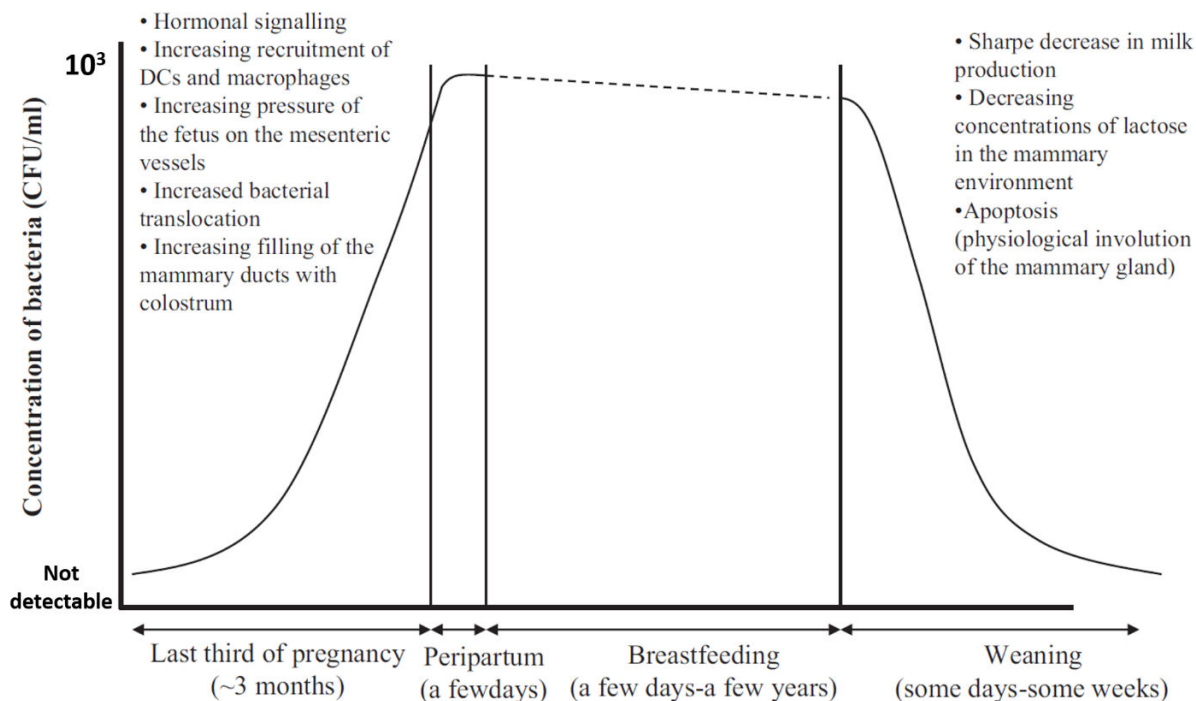


Figure 19. Evolution schématique potentielle de la densité de bactéries dans la glande mammaire d'une femme au cours de la lactation. CFU : unité formant colonie. Issue de Fernandez et al. (2013)

Origine du microbiote associé au lait. Bien qu'encore controversée, l'origine intestinale de certaines, si ce n'est de toutes les bactéries présentes dans le lait commence à être étayée (Fernández et al., 2013a) (fig.20). L'hypothèse dessinée par le regroupement de plusieurs travaux chez la femme et la souris serait que le transport de bactéries viables depuis la lumière intestinale jusqu'à la glande mammaire s'effectuerait *via* les cellules immunitaires (cellules dendritiques et macrophages) et la circulation sanguine (Vazquez-Torres et al., 1999; Rescigno et al., 2001; Macpherson and Uhr, 2004; Perez et al., 2007a). Cette hypothèse concorde avec le grand nombre de cellules immunitaires activées provenant de la muqueuse intestinale dans la glande mammaire et le lait (Bertotto et al., 1991). Chez la souris, il a été démontré que la translocation des cellules immunitaires depuis les ganglions mésentériques jusqu'aux glandes mammaires débutait en fin de gestation et perdurait durant la lactation (Perez et al., 2007a).

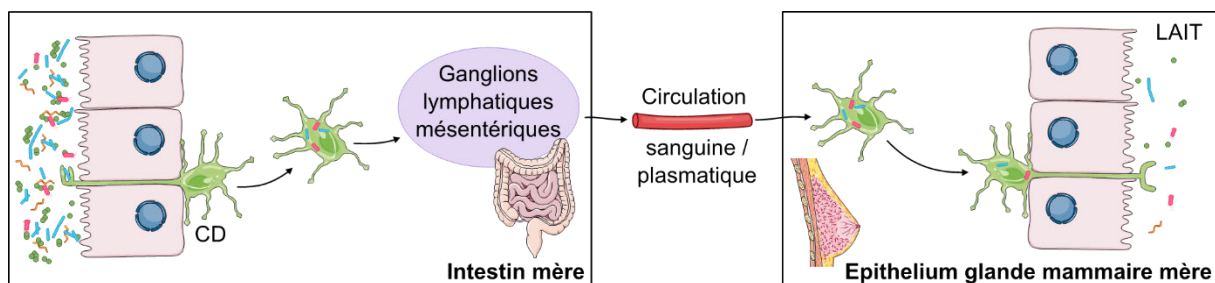


Figure 20. Origine intestinale putative des bactéries associées au lait maternel. Schématisation de la translocation de bactéries vivantes depuis l'intestin jusqu'aux glandes mammaires et au lait *via* les cellules du système immunitaire. *CD* : cellules dendritiques. D'après Fernandez et al. (2013)

Comme pour le microbiote vaginal, des souches bactériennes spécifiques, marquées ou non, données à des femmes et des souris allaitantes ont pu être retrouvées dans leurs glandes mammaires et le lait de celles-ci, de façon souche-dépendante (Jiménez et al., 2008b). Le petit nombre d'animaux utilisé dans cette étude (n=2-4), pour l'heure unique, est une limite.

Il n'existe donc pas à ce jour chez le rongeur suffisamment de données sur la composition du microbiote du lait maternel, et aucune sur son évolution possible au cours de la lactation, et l'impact de facteurs pouvant moduler sa composition. Deux raisons majeures à ce manque de données sont la très faible quantité de lait disponible et la faible densité bactérienne qu'il contiendrait.

2. Importance des microbiotes maternels vaginal et associé au lait dans la mise en place du microbiote intestinal du descendant

Qu'il y ait ou non une colonisation du tractus digestif du descendant *in utero*, celui-ci est exposé aux bactéries en grande majorité au moment du passage par le vagin, puis au moment de l'allaitement.

2.1. Importance du microbiote vaginal dans la mise en place du microbiote intestinal du descendant

Le mode de naissance, par césarienne ou par voie basse, impacte fortement la mise en place du microbiote intestinal en période néonatale (tableau 4) (Browne et al., 2017; Butel et al., 2017; Baldassarre et al., 2018; Swartwout et Luo, 2018; Dominguez-Bello et al., 2019; van den Elsen et al., 2019).

Chez les bébés nés par césarienne, les bactéries primo-colonisatrices sont toujours des anaérobies facultatives, mais l'implantation des anaérobies strictes est

beaucoup plus tardive, notamment les genres *Bifidobacterium* et *Bacteroides* (Butel et al., 2017), ou encore *Lactobacillus* (Martin et al., 2016). Cette différence de composition du microbiote, déjà significative après seulement 1 semaine de vie, est associée à une modulation du métabolome intestinal bactérien, en particulier des voies incluant le tryptophane et la tyrosine (Hill et al., 2017). L'apport de microbiote vaginal maternel par contact buccal après une naissance par césarienne restaurerait partiellement la composition néonatale du microbiote intestinal (Dominguez-Bello et al., 2016). Il n'existe pas de consensus sur l'âge auquel les différences de composition de microbiote intestinal disparaissent entre enfants nés par voie basse ou par césarienne. Selon les études, l'altération de la composition du microbiote intestinal se retrouve encore à 6 mois (Martin et al., 2016), à 7 ans (Salminen et al., 2004), voire à l'âge adulte (Goedert et al., 2014). Des études épidémiologiques ont corrélé la naissance par césarienne à une obésité du descendant, ainsi qu'à un risque accru d'asthme, d'allergie, d'intestin irritable, mais toutes les études n'obtiennent pas de résultats identiques (Blustein and Liu, 2015; Dunn et al., 2017).

Tableau 4. Différences de composition du microbiote intestinal du descendant selon son mode de naissance.

Similarité de composition avec le microbiote maternel	Césarienne Voie basse	
	Peau	Vagin
Diversité	↓	↑
Firmicutes	↑	↓
Bacteroidetes	↓	↑
Actinobacteria	↓	↑
<i>Bifidobacterium</i>	↓	↑
<i>Streptococcus</i>	↓	↑
<i>Clostridium</i>	↑	↓
<i>Bacteroides</i>	↓	↑

A notre connaissance, une seule étude chez la souris s'est attachée à caractériser l'impact d'une naissance par césarienne sur la composition du microbiote intestinal du descendant, et aucune chez le rat. La naissance par césarienne induit une altération significative du microbiote intestinal du sevrage à la sixième semaine de vie, avec une diminution des taxa *Bacteroides*, Ruminococcaceae, Lachnospiraceae et Clostridiales et une sur-abondance des taxa *Lactobacillus* et Erysipelotrichaceae (Martinez et al., 2017a). Une altération du microbiote persiste à l'âge adulte (15 semaines), bien que différente de celle observée au sevrage, associée à une augmentation de poids vif chez tous les animaux (+33%), particulièrement chez les femelles (+70%). A cet âge, les mâles nés par césarienne tendent à être plus gras, tandis que la composition corporelle des femelles nées par césarienne ne montre pas de différence significative dans le pourcentage de masse grasse. Les modulations observées dans cette étude sur la composition du microbiote intestinal sont toutefois peu fiables puisque basées sur l'analyse d'un nombre restreint de séquences d'ADNr 16S (3100). La profondeur du séquençage n'est donc pas suffisante pour dépeindre la diversité totale du microbiote intestinal.

Chez le rongeur, aucune donnée n'existe à ce jour sur l'impact de la naissance par césarienne sur le microbiote intestinal avant le sevrage, période pendant laquelle les descendants ne consomment que du lait. Le manque d'études ciblant l'impact du microbiote vaginal maternel sur la mise en place du microbiote intestinal du descendant dans un modèle de rongeur pourrait être dû aux contraintes techniques d'un tel modèle. En effet, l'adoption systématique des souriceaux par une autre mère est nécessaire, induisant un biais supplémentaire et un risque de mortalité élevé. Les niveaux de preuve chez l'Homme sont cependant suffisants pour établir l'hypothèse que des altérations dans la primo-colonisation des nouveau-nés nés par césarienne pourraient jouer un rôle dans la survenue de maladies non transmissibles chroniques (Dunn et al., 2017).

2.2. Importance du lait maternel dans la mise en place du microbiote intestinal du descendant

Chez l'Homme, l'impact d'une alimentation lactée industrielle comparée à un allaitement naturel sur l'établissement néonatal du microbiote intestinal a été démontré à de multiples reprises (Butel et al., 2017; Derrien et al., 2019; Dominguez-Bello et al., 2019; van den Elsen et al., 2019a) (fig.21). L'alimentation du nourrisson (allaitement ou formules infantiles) serait même le déterminant majeur de la composition du microbiote intestinal du nouveau-né (Stewart et al., 2018). La composition de ce microbiote chez les

enfants allaités est dominée par les *Bifidobacterium* et les *Lactobacillus*, tandis que chez les nouveau-nés nourris avec des formules infantiles cette composition est plus diverse, similaire à celle d'un enfant plus âgé (Rautava, 2016; Butel et al., 2017; van den Elsen et al., 2019a). Bien que la diversité du microbiote intestinal des enfants allaités soit plus faible, il contient un plus grand nombre d'espèces de *Bifidobacterium* (*B. breve*, *bifidum*, *longum*, etc...). Cette forte colonisation par les Bifidobactéries induit un retard dans l'implantation des entérobactéries, dont *Clostridium* et *Bacteroides* (Butel et al., 2017). Les Bifidobactéries sont connues chez l'adulte pour leur capacités à produire des AGCC (acétate, propionate, butyrate) (Bäckhed et al., 2015; Derrien et al., 2019a) ayant de nombreux effets positifs chez l'hôte (voir la partie 3.1 du chapitre 3). La concentration fécale de ces AGCC est différente entre enfants allaités ou non (Bridgman et al., 2017). Même de petites quantités de formules infantiles, seulement données au nourrisson durant les quelques premiers jours de vie suffisent pour induire une modulation significative du microbiote intestinal (Forbes et al., 2018). Un allaitement exclusif d'une durée supérieure à 4 mois normalise les différences de composition de microbiote intestinal induites par une césarienne (Hill et al., 2017) et a été corrélé avec une diminution du risque d'obésité (Harder et al., 2005).

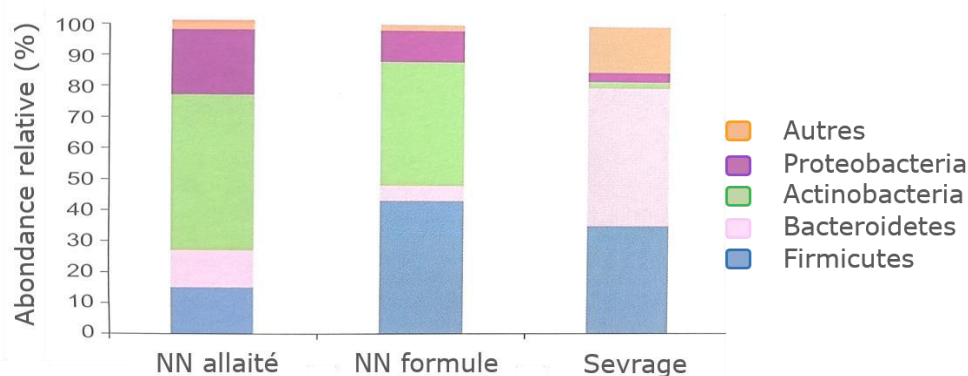


Figure 21. Abondance relative des différents phyla identifiés dans le microbiote intestinal néonatal selon l'âge et l'alimentation reçue. NN : nouveau-né (entre la naissance et 1 mois). Issu de Butel et al. (2017)

A notre connaissance, aucune étude n'a porté sur l'impact du mode d'alimentation du nouveau-né dans un modèle de rongeur, sans doute en partie à cause des difficultés techniques d'alimenter artificiellement des rats depuis leur naissance. Bien que cet impact ait été largement caractérisé chez l'Homme, aucune étude n'a encore identifié précisément quels étaient les facteurs d'influence en jeu. Outre le microbiote associé au lait, d'autres composés présents dans le lait maternel et absents des formules infantiles pourraient participer aux différences de composition du microbiote, notamment les composés anti-microbiens et immunitaires comme les IgA. Une étude chez

l'Homme apporte un début de réponse en faveur d'un rôle prépondérant des bactéries (Moossavi et al., 2019).

3. Facteurs intrinsèques influençant la composition des microbiotes maternels

De nombreux facteurs intrinsèques à l'hôte peuvent faire varier la composition des microbiotes maternels. La génétique a ainsi été identifiée comme facteur d'influence pour les microbiotes intestinal (Turnbaugh et al., 2006) et vaginal (Zhou et al., 2007). Ces derniers sont sensibles aux hormones sexuelles durant la gestation (Gajer et al., 2012; Collignon et al., 2017) et les microbiotes intestinal (Bäckhed et al., 2004), vaginal (Si et al., 2017) et associé au lait (Cabrera-Rubio et al., 2012) varient en fonction du gain de poids ou de l'indice de masse corporel maternel durant la gestation. D'autres facteurs ont été identifiés comme influençant la composition du microbiote intestinal, tels que l'âge (Yatsunencko et al., 2012), l'état de santé (Doré et al., 2017a) ou encore le sexe (Jašarević et al., 2016). La composition du microbiote associé au lait maternel est également influencée par le stade de lactation, le mode d'accouchement, ou encore l'âge gestationnel (Cabrera-Rubio et al., 2012; Khodayar-Pardo et al., 2014; Cabrera-Rubio et al., 2016; Hermansson et al., 2019).

3.1. Influence des hormones sexuelles

Très peu d'études se sont attachées à caractériser la modulation du **microbiote intestinal** durant la gestation et les résultats qu'elles présentent sont contradictoires, indiquant qu'il est nécessaire de poursuivre les recherches dans ce domaine (Chung et al., 2018). Chez la souris, plus de 20 genres bactériens modulés par la gestation ont été identifiés, dont *Akkermansia*, *Clostridium*, *Bacteroides* et *Bifidobacterium*, pour lesquels l'abondance relative est significativement augmentée en début de gestation (Gohir et al., 2015). A l'inverse, la gestation diminue l'abondance des Firmicutes (*Clostridia*, *Sarcina*) et des Tenericutes (*Erysipelotrichaceae*, *Coprobacillus* et *Clostridium*) en dessous du seuil de détection du séquençage de l'ADNr 16S utilisé dans cette étude. Ces résultats sont confirmés par un travail chez le rat, démontrant une diminution progressive de l'abondance des Firmicutes et des Tenericutes, ainsi qu'une augmentation de l'abondance des Bacteroidetes (Astbury et al., 2018). Au cours de la gestation, la diversité et la structure du microbiote fécal de rates varient significativement (Gohir et al., 2015; Astbury et al.,

2018). Ces changements sont associés à la modulation de l'activité métabolique du microbiote intestinal, plus enrichie en voies métaboliques des acides gras, cétones, vitamines et de synthèse d'acides biliaires (Gohir et al., 2015).

Chez la femme, si un consensus existe sur une différence significative du microbiote intestinal avant et pendant la grossesse, les travaux présentent des résultats contradictoires sur la nature de ces modulations (Koren et al., 2012; Ferrocino et al., 2018) et leur persistance au cours des trimestres de la grossesse (Koren et al., 2012; Jost et al., 2014; DiGiulio et al., 2015). Les Clostridiales comme *Faecalibacterium* et *Eubacterium* seraient sur-représentées au premier trimestre, tandis que le dernier trimestre serait caractérisé par les bactéries de la famille Enterobacteriaceae et du genre *Streptococcus* (Koren et al., 2012).

Le niveau d'hormones sexuelles module également la structure de la **communauté bactérienne vaginale** ainsi que les métabolites produits (Gajer et al., 2012; Smith and Ravel, 2017; Greenbaum et al., 2019). La grossesse induit un changement progressif de la composition du microbiote vaginal, caractérisé par une plus forte abondance des *Lactobacillus* et une diminution d'une vingtaine de genres dont *Anaerococcus*, *Prevotella*, *Peptoniphilus*, ou encore *Atopobium* (Romero et al., 2014). Cette diminution de la diversité en taxa en fait un écosystème très stable au cours de la grossesse jusqu'à l'accouchement (DiGiulio et al., 2015; MacIntyre et al., 2015). L'accouchement altère drastiquement le microbiote vaginal en diminuant les *Lactobacillus* au profit de bactéries anaérobies appartenant aux genres *Peptoniphilus*, *Prevotella* ou *Anaerococcus* (DiGiulio et al., 2015). Cette altération significative est associée à une brusque augmentation de la diversité en taxa (MacIntyre et al., 2015), source d'instabilité du microbiote qui peut perdurer plus d'un an après la naissance (DiGiulio et al., 2015) (fig.22). La modulation de la composition en période *post-partum* est également retrouvée chez les femmes ayant accouché par césarienne (DiGiulio et al., 2015).

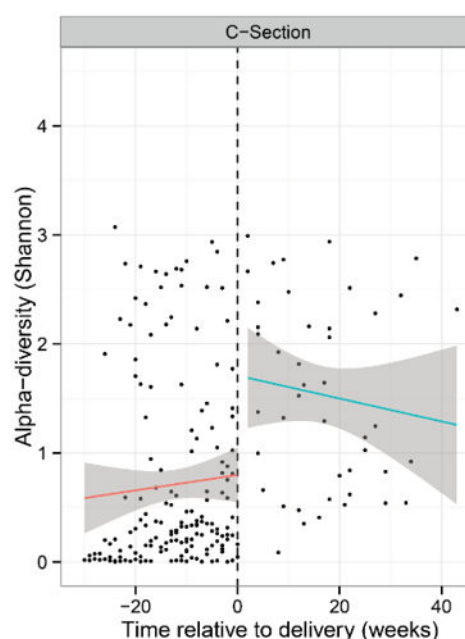


Figure 22. Alpha-diversité (richesse en taxa) du microbiote vaginal avant et après l'accouchement par voie basse. Les courbes de régression, rouge avant l'accouchement, bleu après l'accouchement, sont encadrées par l'intervalle de confiance à 95%. Issue de DiGiulio et al. (2015)

3.2. Influence de l'indice de masse corporelle et du gain de poids

Chez la femme, la composition du **microbiote intestinal** a été associée avec l'indice de masse corporelle avant ou pendant la grossesse, bien que ces résultats soient controversés (Koren et al., 2012). Cet indice serait corrélé à la présence et/ou l'abondance de taxa en particulier (Ferrocino et al., 2018), notamment une augmentation des *Bacteroides* et *Staphylococcus* ainsi que de la densité bactérienne du premier au dernier trimestre de grossesse (Collado et al., 2008). Durant le dernier trimestre, les Lachnospiraceae et Actinomycetaceae seraient plus abondantes et les Bacteroidaceae et Desulfovibrionaceae moins présentes chez les mères ayant eu un indice de masse corporelle pré-gravide supérieur à 25 (Zacarias et al., 2018). Chez la souris, une étude a démontré que les changements de composition du microbiote intestinal induits par la gestation ne seraient pas influencés par le poids maternel (Gohir et al., 2015).

Chez la femme et la souris, l'obésité influe sur la composition du **microbiote vaginal**. Dans les deux espèces, l'obésité (indice de masse corporelle ≥ 30 , ou prise de poids +50%) augmente la diversité du microbiote vaginal, signe d'un déséquilibre (Si et al., 2017). Chez la femme obèse, l'abondance des *Lactobacillus* est fortement réduite. La composition du microbiote vaginal de ces femmes se rapproche de celle caractérisée durant une infection au HPV (*human papilloma virus*) ou d'une vaginose bactérienne (Si et al., 2017). Chez la souris, l'abondance des genres *Prevotella* et *Sneathia*, potentiellement pathogènes, est augmentée en association avec une élévation de l'endotoxémie (Si et al., 2017). Il est à noter que dans cette étude, l'obésité des femmes n'était pas corrélée à une augmentation des apports énergétique, au contraire du modèle murin où l'impact de l'obésité est indissociable de l'impact de la consommation d'un régime riche en gras.

L'indice de masse corporelle de la mère influence également la composition du **microbiote associé à son lait**. Ainsi, les femmes les plus rondes ou celles ayant pris le plus de poids durant leur grossesse présentaient un nombre plus important de *Lactobacillus* dans leur colostrum, puis plus de *Staphylococcus* et moins de *Bifidobacterium* dans leur lait à 6 mois *post-partum* (Cabrera-Rubio et al., 2012).

4. Facteurs nutritionnels influençant la composition des microbiotes maternels ou du microbiote intestinal du descendant

Différents facteurs nutritionnels sont connus pour avoir un impact sur la composition des microbiotes intestinal et vaginal de la femme gestante ou non, conduisant à une altération de la mise en place du microbiote intestinal du descendant, tels que le régime alimentaire, la prise d'antibiotiques, de bactéries dites « probiotiques » et d'agents dits « prébiotiques ». Ces mêmes facteurs nutritionnels sont également connus pour impacter directement la composition du microbiote intestinal du descendant, même à un stade immature.

4.1. Influence du régime alimentaire maternel

Le régime alimentaire influence fortement la composition du microbiote intestinal de l'adulte (Turnbaugh et al., 2008), notamment pendant la grossesse (Zhou and Xiao, 2018). Chez les rongeurs, trois études, une chez la souris et deux chez le rat, démontrent l'existence d'un tel lien. Chez la souris, la modulation de la composition du microbiote intestinal due à la gestation est influencée par le régime alimentaire maternel (Gohir et al., 2015). Comparée à la consommation d'un régime standard, la consommation d'un régime riche en gras avant et pendant la gestation augmente l'abondance de nombreux genres bactériens durant la gestation (par exemple *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Coprobacillus*), et diminue l'abondance de quelques-uns (par exemple *Bacteroides*, *Eubacterium*) (Gohir et al., 2015). Ces changements sont dépendants de l'âge gestationnel et seraient associés à la potentialisation du métabolisme glucidique et lipidique de l'hôte, indiquant la grande importance de l'alimentation avant et pendant la gestation. Chez le rat, le régime alimentaire influe sur l'impact de la gestation et lactation sur la composition du microbiote intestinal maternel (Gohir et al., 2015). Sous régime standard, la composition du microbiote intestinal avant et pendant la gestation et la lactation ne diffère pas significativement malgré l'augmentation significative du genre *Akkermansia* (Mann et al., 2017). En revanche, sous régime riche en gras, la composition du microbiote intestinal est significativement différente avant la gestation, pendant la gestation et en période de lactation (Mann et al., 2017). La consommation de fructose dans l'eau de boisson durant la gestation augmente la diversité taxonomique du microbiote intestinal seulement en fin de gestation chez le rat (Astbury et al., 2018).

Chez la femme, la consommation d'un régime riche en gras pendant la grossesse est associée à une réduction de l'abondance des *Bacteroides* dans l'intestin du descendant (Chu et al., 2017). Les enfants nés de mères obèses présentent une plus grande abondance

de *Parabacteroides*, *Oscillibacter* et une diminution de *Blautia* et *Eubacterium* (Clarke et al., 2013).

Le microbiote vaginal est également modulé par la consommation d'un régime riche en gras. Chez la souris, la consommation d'un tel régime, indissociable d'une obésité dans les conditions expérimentales choisies, augmente l'abondance des genres *Prevotella* et *Sneathia*, potentiellement pathogènes, en association avec une élévation de l'endotoxémie (Si et al., 2017). Chez la souris gestante, la consommation d'un régime riche en gras module la quantité d'hormones sexuelles et diminue significativement le pH vaginal (Whyte et al., 2019), deux facteurs connus pour moduler la composition de ce microbiote.

Chez la souris, la consommation d'un régime riche en gras par la mère impacte fortement la mise en place du microbiote intestinal et de l'homéostasie intestinale du descendant au sevrage (J21) (Xie et al., 2018). Le développement général de l'épithélium est altéré, en association avec un environnement local inflammatoire. Les différences significatives dans la composition du microbiote intestinal des descendants issus de mères ayant consommé ou non un régime riche en gras durant la gestation et la lactation persistent jusqu'à la maturité sexuelle des descendants (8^{ème} semaine de vie) malgré la consommation d'un régime standard depuis le sevrage (Xie et al., 2018). Une autre étude chez la souris démontre qu'une consommation d'un régime riche en gras par la mère gestante diminue la diversité du microbiote intestinal des descendants, en association avec un gain de poids plus important, une stéatose et inflammation hépatiques chez ceux-ci (Wankhade et al., 2017). Cette modulation du microbiote intestinal du descendant peut être médiée par une altération du métabolisme maternel, mais est également transférable *via* le microbiote maternel. En effet, le transfert de microbiote intestinal de souris ayant consommé un régime riche en gras à des souris gestantes sous régime standard altère la composition du microbiote intestinal des descendants de ces souris sous régime standard (Bruce-Keller et al., 2017). L'impact du régime maternel induit donc des conséquences à long terme sur la composition du microbiote intestinal du descendant, malgré la consommation d'un régime optimal par celui-ci.

Enfin, il a été vu précédemment que l'alimentation du descendant en période néonatale (allaitement ou formules infantiles) modulait fortement la composition de son microbiote intestinal.

Outre le régime alimentaire, la prise d'antibiotiques, de bactéries dites « probiotiques » ou encore d'agents « prébiotiques » est connue pour moduler la composition du microbiote intestinal de la mère comme du descendant.

4.2. Influence des antibiotiques

L'impact drastique de la prise d'antibiotiques sur le microbiote intestinal a été largement démontré. Etant donné la consommation croissante d'antibiotiques, en particulier chez les femmes enceintes (Bookstaver et al., 2015), plusieurs études chez l'Homme et le rongeur se sont attachées à caractériser les effets de ces molécules sur la composition du microbiote intestinal du descendant et les possibles conséquences à long terme sur sa santé.

Chez l'Homme, l'exposition ***in utero*** aux antibiotiques altère la composition du microbiote intestinal de l'enfant (Schwiertz et al., 2003) et augmente significativement le risque de développer une infirmité motrice cérébrale à l'âge de 7 ans (Norwitz et Greenberg, 2009), indiquant une altération du neurodéveloppement. Le risque est d'autant plus élevé s'il s'agit d'un cocktail d'antibiotiques (Norwitz et Greenberg, 2009). Une seconde étude démontre que la prise d'antibiotique durant la grossesse module la composition du microbiote vaginal avant la naissance, en association avec une altération à long terme de la composition du microbiote intestinal de la descendance (Stokholm et al., 2014) et une obésité précoce (Mueller et al., 2015b). Chez la souris, l'utilisation d'antibiotiques chez la mère seulement 4 à 5 jours avant la mise bas est suffisante pour altérer la composition du microbiote des descendants ainsi que la maturation de leur système immunitaire général (Deshmukh et al., 2014; Tormo-Badia et al., 2014).

Juste après la naissance, **l'exposition directe aux antibiotiques** altère la composition du microbiote néonatal jusqu'à l'âge de 2 ans, associée à une augmentation du risque d'asthme et un risque accru de prise de poids lors d'un traitement antibiotique ultérieur (Korpela et al., 2016).

A notre connaissance, une seule étude a démontré les effets d'une prise d'antibiotiques sur le microbiote intestinal de la rate gestante : l'altération du microbiote intestinal est associée à une plus faible diversité et à une augmentation significative du gain de poids durant la gestation (Khan et al., 2019).

La prise orale d'antibiotiques module également la composition du **microbiote vaginal** (Macklaim et al., 2015). Chez des femmes atteintes de vaginose bactérienne, cette modulation est significative dès le premier jour du traitement (metronidazol) ciblant particulièrement les bactéries anaérobies (Mayer et al., 2015). Ainsi, la totalité des bactéries anaérobies disparaissent en moins de 4 jours, en association avec une augmentation de l'abondance des *Lactobacillus*. Cependant, comme le microbiote intestinal, le microbiote vaginal semble résilient puisque l'arrêt du traitement entraîne à nouveau le développement de bactéries anaérobies potentiellement pathogènes (Mayer et al., 2015). Durant la grossesse, la prise orale d'antibiotique induit une augmentation de l'abondance des *Staphylococcus* dans le microbiote vaginal, indépendamment du stade de grossesse au moment du traitement (Stokholm et al., 2014).

4.3. Influence des bactéries dites « probiotiques »

Les probiotiques sont définis comme des micro-organismes (bactéries ou levures) vivants ayant une capacité démontrée (par essai clinique) de produire des effets bénéfiques pour la santé de l'hôte lorsqu'ils sont ingérés en quantité adéquate (Hill et al., 2014; Marteau, 2017). La majorité des bactéries probiotiques sont des souches particulières de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, mais aussi parfois d'*Escherichia coli* ou *Enterococcus faecium*. Chez les levures, *Saccharomyces* est le seul genre ayant obtenu ce titre (Marteau, 2017). D'importantes différences d'effets sur l'hôte existent entre souches de bactéries appartenant à une même espèce. Ainsi, les modulations sur le microbiote intestinal et/ou l'hôte obtenues à partir d'une souche ne peuvent en aucun cas être extrapolées à une autre (Marteau, 2017; McFarland et al., 2018). La survie tout au long du tractus digestif des bactéries ingérées est variable en fonction des souches, certaines étant détruites dès l'estomac, d'autres encore métaboliquement actives dans les fèces (Marteau et Shanahan, 2003). L'impossibilité de colonisation durable de l'intestin par une souche de bactérie probiotique en raison de l'effet barrière d'un microbiote mature déjà implanté, est largement vérifiée (Marteau, 2017; Sokol, 2017). Cependant, quelques études ont démontré que des souches de bactéries lactiques ou d'*Escherichia coli* pouvaient coloniser durablement la muqueuse et/ou la lumière intestinales (Wassenaar et al., 2014). Les bactéries probiotiques possèdent plusieurs mécanismes d'action. L'exclusion des pathogènes peut se faire par interaction directe, ou indirectement par l'occupation des sites d'adhérence, la production de molécules anti-microbiennes ou la consommation des substrats utilisés par ces pathogènes. Les bactéries probiotiques peuvent également stimuler l'épithélium intestinal par la production d'AGCC ou leurs composants membranaires, ce qui augmente la production de mucus et de composés anti-microbiens, ainsi que l'activité des cellules immunitaires intestinales (Hill et al., 2014; Marteau, 2017).

Le passage dans le tube digestif, transitoire ou plus durable, module la composition du **microbiote intestinal**. Chez l'Homme, les bactéries probiotiques augmentent les Firmicutes et les Actinobacteria, tandis que les Bacteroides et Proteobacteria sont diminuées (Swartwout and Luo, 2018). Les probiotiques stabilisent également le microbiote durant un changement de régime alimentaire (Odamaki et al., 2016). Chez la souris, l'apport d'un mélange de souches de *Lactobacillus* augmente l'abondance de *Lactobacillus*, de *Bifidobacterium*, ainsi que des Clostridiales (Ruminococcaceae et Lachnospiraceae) (Park et al., 2013).

L'impact d'une prise de bactéries probiotiques durant la gestation et/ou la lactation ainsi que directement par le nouveau-né sur le **microbiote intestinal** de celui-ci a fait

l'objet de diverses études (pour revue voir Swartwout et Luo, 2018). L'apport de bactéries probiotiques directement aux nouveau-nés de la naissance jusqu'à l'âge de 6 mois perturbe drastiquement la composition de leur microbiote intestinal en augmentant significativement l'abondance relative de 682 taxa, dont 60% appartiennent au Proteobacteria, bien que cette modulation ne s'accompagne pas de changements dans les voies métaboliques (Cox et al., 2010; Kostic et al., 2015). Cependant, une autre étude ciblant la survenue de maladies atopiques chez l'enfant n'a pas mis en évidence de modulation du microbiote intestinal, ni à court ni à long terme après un apport de bactéries probiotiques (Rutten et al., 2015). La prise d'une bactérie dite « probiotique » en association avec un traitement antibiotique prévient l'altération du microbiote caractérisée chez les enfants ne prenant que le traitement antibiotique (Derrien et al., 2019a). Cet effet bénéfique de la souche probiotique est différent selon l'antibiotique administré et l'altération du microbiote intestinal néonatal qui en découle (Derrien et al., 2019a).

Chez la souris, une étude a comparé la prise de *Lactobacillus casei* uniquement chez les souriceaux, uniquement chez les mères, ou chez les deux à la fois, sur la composition du microbiote intestinal des souriceaux (de Moreno de LeBlanc et al., 2008). L'apport de cette souche aux mères augmente l'abondance relative des *Bifidobacterium* et des *Enterobacterium*. Après le sevrage, l'absence de probiotique diminue l'abondance de ces genres bactériens. En utilisant le même mode opératoire, l'apport de *Clostridium butyricum* connu pour sa production de butyrate chez la souris gestante et/ou les souriceaux augmente l'abondance de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium* dans l'intestin des souriceaux et diminue l'abondance des *Enterobacter* (Miao et al., 2018). Au sevrage les souriceaux ayant directement reçu le probiotique présentent des abondances relatives de ces genres bactériens significativement plus importantes que l'ensemble des autres groupes (Miao et al., 2018).

Il est intéressant de noter que la prise d'une bactérie probiotique seule chez un enfant sain induit une modulation de la composition du microbiote intestinal tandis qu'elle n'a pas d'impact chez l'adulte (Lahti et al., 2013). La grande plasticité du microbiote intestinal du nouveau-né par rapport à celui de l'adulte pourrait donc conduire à des effets différents suite à la prise des mêmes bactéries probiotiques dans les deux tranches d'âge.

La prise de bactéries probiotiques par voie orale influence la composition du **microbiote vaginal**. En supplémentation durant un traitement antibiotique, des bactéries probiotiques permettent une augmentation significative d'un facteur 10 de l'abondance des *Lactobacillus* chez la femme, contrairement au groupe non supplémenté en bactéries probiotiques (Macklaim et al., 2015). Cependant, une étude ciblant des femmes enceintes n'a pas mesuré d'impact significatif de la prise de bactéries probiotiques sur l'incidence de vaginose bactérienne ni sur la composition du microbiote vaginal durant la grossesse (Husain et al., 2019).

Différentes études chez la femme et le rongeur ont caractérisé des **effets plus généraux sur la santé de l'hôte** (adulte ou non) de la prise de bactéries probiotiques chez la mère et/ou le descendant. Chez la femme obèse en cours de grossesse, certaines études ne montrent pas d'impact de la prise de bactéries probiotiques sur la composition du microbiote vaginal, sur la glycémie maternelle ou sur la santé du nouveau-né (Swartwout and Luo, 2018). Cependant, la combinaison de meilleures habitudes alimentaires et de la prise de *Lactobacillus rhamnosus* et *Bifidobacterium lactis* diminue la glycémie à jeun, augmente la tolérance au glucose et réduit le risque de déclencher un diabète gestationnel chez les mères enceintes ayant un syndrome métabolique (Dolatkhah et al., 2015; Zhou and Xiao, 2018). Chez la rate gestante, la prise de bactéries probiotiques en période périnatale normalise les défauts de neurodéveloppement du cortex préfrontal induits chez les rats par un stress de séparation maternel postnatal (Cowan et al., 2019). Dans ce même modèle de mères supplémentées et de stress postnatal, les rats présentent des modulations dans l'expression de cytokines et des gènes codants pour les mucines dans l'iléon, mais uniquement chez les mâles (Barouei et al., 2015). Une supplémentation de la mère et de l'enfant en période périnatale par une souche de *Lactobacillus rhamnosus* induit une diminution de la prise de poids chez l'enfant (Luoto et al., 2010).

4.4. Influence des agents dits « prébiotiques »

Un prébiotique est un composé alimentaire non digestible par l'hôte, stimulant de façon sélective la croissance et/ou l'activité d'un nombre réduit de bactéries intestinales,

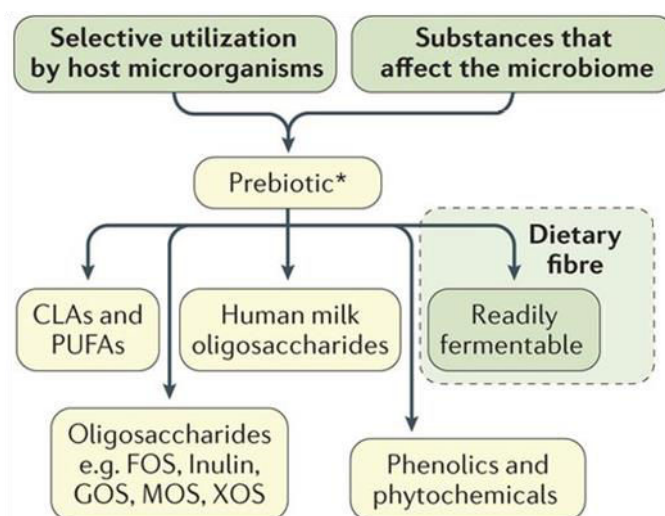


Figure 23. Prébiotiques candidats ou reconnus comme tels par l'Association Scientifique Internationale pour les Probiotiques et Prébiotiques (ISAPP). CLAs : acide linoléique conjugué ; PUFA : acide gras polyinsaturé ; FOS : fructooligosaccharide ; GOS : galactooligosaccharide ; MOS : mannanoligosaccharide ; XOS : xylooligosaccharide. D'après Gibson et al. (2017).

et améliorant par ce biais la santé de l'hôte (Gibson et al., 2017). Ces composés sont définis comme des chaînes de sucres liés entre eux, appelées oligosaccharides et polysaccharides. Les différentes catégories de prébiotiques sont listées dans la figure 23 ci-dessous, dont les plus étudiées sont les fructooligosaccharides (FOS) et les galactooligosaccharides (GOS) (Gibson et al., 2017) (fig.23).

La caractérisation de substances comme prébiotiques, et les impacts sur la composition du microbiote intestinal et sur l'hôte sont détaillés dans la revue de Gibson et al. (2017). Les FOS et GOS sont principalement dégradés par les Bifidobactéries, tandis que les oligosaccharides du lait maternel favorisent préférentiellement la croissance des Bifidobacteriaceae et des Bacteroidaceae (Gibson et al., 2017). Leur impact sur la composition du **microbiote intestinal** est largement décrit dans la littérature. Par exemple, chez la souris, une supplémentation en FOS et GOS augmente les *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* et diminue les *Odoribacter*, *Alistipes* et *Bacteroides* (Wang et al., 2017). Chez l'Homme, la consommation de FOS ou de GOS augmente l'abondance relative des *Bifidobacterium* (Liu et al., 2017). La modulation du microbiote par les prébiotiques a été caractérisée chez l'Homme comme le rat, et chez l'adulte comme chez le jeune (Morel et al., 2015b; Skórka et al., 2018).

Une des explications à la différence de composition du microbiote intestinal des nouveau-nés selon leur type d'alimentation (allaités ou formules infantiles), est la présence d'une grande diversité de prébiotiques complexes dans le lait maternel. A ce jour, de 100 à 200 composés différents ont été identifiés. Leurs impacts sur le microbiote intestinal ou plus généralement la santé et le développement du descendant sont synthétisés dans la revue de Moossavi et al. (2018). La composition et la concentration de ces prébiotiques maternels peuvent être modulées par l'origine géographique de la mère (liée à la génétique plutôt qu'au régime alimentaire), l'allaitement exclusif ou non et le stade de lactation, mais ne serait pas dépendante du mode d'accouchement (Butel et al., 2017; McGuire et al., 2017; Azad et al., 2018). La concentration de ces prébiotiques naturels maternels seraient en outre corrélée au poids, au gain de poids et au sexe de l'enfant (Tonon et al., 2019). L'intérêt des industriels pour les oligosaccharides prébiotiques maternels n'est apparu que récemment (Jost et al., 2015). A ce jour, la quasi-totalité des formules infantiles sont enrichies en galacto-oligosaccharides (GOS) et en fructo-oligosaccharides (FOS) afin de mimer la composition du lait maternel, favoriser le développement de *Bifidobacterium*, d'obtenir des selles molles, acides et peu odorantes (Knol et al., 2005; Holscher et al., 2012) et de diminuer l'apparition d'allergies (Barile and Rastall, 2013; Vandenplas et al., 2015). Cette supplémentation des formules infantiles en prébiotiques a également pour but de favoriser la prolifération des bactéries des genres *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*, afin de tendre à une composition du microbiote similaire à un enfant allaité (Borewicz et

al., 2019), c'est-à-dire peu divers au niveau des classes et familles bactériennes, mais riche en espèces de *Bifidobacterium*, productrices d'AGCC, permettant une maturation optimale de la barrière épithéliale intestinale. La faible diversité est à cet âge positive puisqu'une diversification précoce du microbiote est associée à un risque plus élevé de maladies coeliaque à l'âge adulte (Olivares et al., 2018). Cependant, ces GOS et FOS ajoutés dans les formules infantiles sont de structure moins complexe, ce qui ne leur confèrent pas exactement les mêmes propriétés que les prébiotiques maternels (Butel et al., 2017).

L'utilisation de prébiotiques dans les élevages (veau, poulet de chair, dinde, cochon, ...) est également courante dans le but de réduire le portage de pathogènes (Smith et al., 2016) et d'améliorer la croissance, la prise alimentaire et le gain de poids. Cependant, les études sont souvent contradictoires, notamment à cause des divergences de protocoles de supplémentation et de management des animaux notamment leur alimentation (pour revue voir Markowiak et Śliżewska, 2018). Dans cette revue, certaines études démontrent que la supplémentation de poulets de chair ou de dindes en différents oligosaccharides améliore la prise de poids et l'efficacité alimentaire, n'a aucun effet, voire même est délétère. Chez le veau, une supplémentation en son de blé pendant 20 jours avant le sevrage n'a aucun effet sur le gain de poids des animaux, leur concentration d'IgA fécales, ou le développement de maladies dont des diarrhées au moment du sevrage (Velasquez-Munoz et al., 2019). Dans une autre étude, la supplémentation en prébiotiques (cellooligosaccharide ou fibres de bois) 4 semaines avant le sevrage jusqu'à 12 à 16 semaines après modifie durablement la composition du microbiote intestinal et tend à augmenter le gain de poids quotidien (Kido et al., 2019). Concernant le cochon, les résultats d'une supplémentation en prébiotiques au moment du sevrage sur les performances sont là aussi contradictoires, dépendant du prébiotique utilisé et de sa posologie (pour revue voir Liu et al., 2018), mais aussi de la composition du microbiote intestinal avant supplémentation, qui semble influencer la réponse aux prébiotiques en termes de croissance et de santé (Castillo, 2010).

Le principal mode d'action des prébiotiques est l'augmentation de la production des AGCC suite à leur fermentation bactérienne. Les différents effets de ces AGCC sur le métabolisme, le système nerveux entérique et le système nerveux central sont abordés dans la partie 4.1. du chapitre 3. Brièvement, la prise de prébiotiques impacte positivement les cellules entéroendocrines (CEE) productrices de peptides gastro-intestinaux régulant la prise alimentaire. Leur prolifération et différenciation, leur nombre et leur activité sécrétoire (GLP-1 et PYY) sont stimulées (Cani et al., 2004, 2007b; Delzenne et al., 2007; Overduin et al., 2013). Chez le rat, l'augmentation de la sécrétion de peptides anorexigènes par les CEE se produit chez l'animal obèse comme mince (Parnell et Reimer, 2012). L'augmentation de la production de GLP-1 et de PYY s'accompagne d'une

augmentation de satiété et d'une diminution de la prise alimentaire chez l'Homme normopondéral (Cani et al., 2009; Pedersen et al., 2013) ou en surpoids/obèse (Morel et al., 2015a; Reimer et al., 2017). La réponse hédonique à un régime hyper-énergétique est également modulée (Byrne et al., 2016). Les prébiotiques ont aussi un effet sur le métabolisme et la composition corporelle de l'hôte (pour revue, voir Morel, 2012). Leur consommation par des rongeurs avant celle d'un régime riche en gras prévient la prise de poids et l'intolérance au glucose induites par ce régime (Cani et al., 2007c). La prise de GOS diminue dès la 1^{ère} semaine diminue l'adiposité des rats (Overduin et al., 2013) et des souris génétiquement hyperleptinémiques (^{ob/ob}) (Everard et al., 2011) et améliore leur tolérance au glucose. Un autre mode d'action des prébiotiques *via* la modulation du microbiote intestinal serait l'augmentation de la déconjugaison des acides biliaires (Kuo et al., 2013), mais d'autres études sont nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

Une étude princeps a identifié l'impact de différents types de prébiotiques sur la croissance d'espèces bactériennes associées au **vagin** de femmes (majoritairement des *Lactobacillus*), en vue de leurs possibles applications dans le traitement de vaginose bactérienne (Collins et al., 2018).

De nombreux facteurs influent sur la composition des microbiotes maternels intestinal et vaginal, notamment les hormones sexuelles. Durant la gestation, l'indice de masse corporelle, l'adiposité et le régime alimentaire maternel influencent la composition des microbiotes maternels, conduisant à une altération de la mise en place du microbiote intestinal du descendant, potentiellement en association avec des conséquences métaboliques et neurodéveloppementales à long terme. D'autres facteurs tels que les antibiotiques, les bactéries probiotiques et les oligosides prébiotiques peuvent moduler la composition des microbiotes maternels (âge adulte), comme celle du microbiote intestinal néonatal, cette fois encore en association potentielle avec des conséquences à long terme sur la santé et le développement du descendant.

Chapitre 3

**Interactions microbiote-
hôte**

Chapitre 3 : Interactions microbiote-hôte

A) Influence du microbiote intestinal sur la physiologie de l'hôte

1. Diversité du microbiote intestinal, marqueur de la santé de l'hôte

De plus en plus de preuves indiquent que les nombreux échanges entre le microbiote intestinal et son hôte jouent un rôle important dans le métabolisme de l'hôte, et un dérèglement de ces interactions bidirectionnelles favorisent l'apparition de diverses pathologies (Bernalier-Donadille et Pochart, 2017c). La caractérisation du métagénome du microbiote intestinal de patients atteints de diverses pathologies a permis d'identifier un lien entre des marqueurs métaboliques de l'hôte et la diversité de son microbiote intestinal et particulièrement de sa richesse en gènes (Doré et al., 2017c). Cette richesse en gène suit une courbe bimodale chez l'Homme, avec des individus présentant une faible diversité (environ 350 000 gènes bactériens), et d'autres avec une diversité importante (environ 650 000) (Doré et al., 2017c). Cette faible richesse en gènes est retrouvée dans 15% de la population saine européenne, atteint 23-25% chez les individus en surpoids ou obésité légère, et dépasse 50% chez les individus obèses sévères ou morbides (Le Chatelier et al., 2013) (fig.24). Une faible richesse en gène est associée à une plus grande adiposité, une insulino-résistance, une dyslipidémie et une inflammation bas-grade plus importante comparée aux individus dont le microbiote intestinal est riche en gènes (Le Chatelier et al., 2013). La richesse du métagénome d'un individu pourrait ainsi être un marqueur de sa santé. En effet, le transfert de microbiote d'une personne mince à une personne ayant un syndrome métabolique augmente la diversité en taxa du microbiote et la sensibilité à l'insuline de celle-ci (Vrieze et al., 2012).

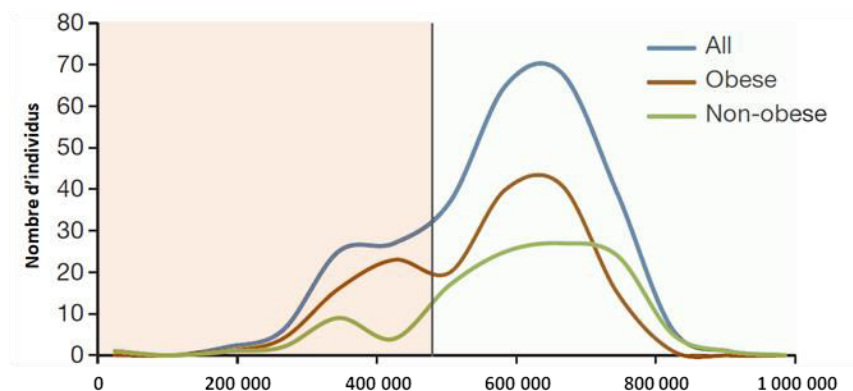


Figure 24. Distribution des individus ayant un microbiote pauvre ou riche en gènes selon leur indice de masse corporelle. La ligne verticale sépare les individus ayant une faible richesse de ceux à richesse élevée. D'après Le Chatelier et al., 2013.

2. Influence du microbiote sur le métabolisme de l'hôte

2.1. Microbiote intestinal et apport d'énergie à l'hôte

Les bactéries intestinales augmentent le rendement énergétique de l'hôte en dégradant pour lui des polysaccharides végétaux complexes pour lesquels il n'a pas les compétences enzymatiques. Ainsi, la fermentation des polysaccharides végétaux par le microbiote intestinal apporte près de 10% des besoins énergétiques quotidiens de l'Homme, et jusqu'à 70% des besoins des ruminants (Bergman, 1990). Les souris axéniques ont besoin d'un apport calorique supérieur de 30% par rapport aux animaux conventionnels pour maintenir leur masse corporelle (Gordon, 2006; Gordon et Pesti, 1971), malgré une plus grande capacité d'absorption des nutriments, témoignant d'une difficulté à extraire les nutriments du chyme alimentaire (Tomas et Sansonetti, 2017). La quantité de calories provenant de la nourriture disponible pour l'hôte est modulée par la composition du microbiote intestinal (Bäckhed et al., 2005). Une communauté bactérienne présentant une efficacité élevée d'extraction des calories pourrait constituer un facteur de risque d'obésité chez un individu ayant libre accès à la nourriture (Ley et al., 2006; Turnbaugh et al., 2006). De nombreuses études dans différents modèles animaux d'un jeune âge ou adultes ont confirmé la capacité du microbiote intestinal à moduler l'apport nutritionnel reçu par l'hôte, en association avec une croissance plus rapide, un gain de poids et une adiposité plus importants, conduisant à une obésité (Bosi et al., 2011; Del Fiol et al., 2018 chez les animaux d'élevage) (Cho et al., 2012 chez la souris) (Aron-Wisnewsky et Clément, 2017 pour les souris axéniques) (Fiol et al., 2014; Marciano et al., 2017 chez le rat). L'augmentation du ratio Firmicutes / Bacteroidetes marqueur d'un état d'obésité dans des modèles animaux et chez l'Homme, n'est pas observée de façon systématique (pour revue voir Schwiertz et al., 2010). Une étude a également démontré qu'un régime riche en gras induisait une obésité chez la souris, de façon indépendante de la composition du microbiote intestinal (Rabot et al., 2016). Ces résultats soulignent la présence d'incertitudes sur le rôle réel du microbiote intestinal dans l'obésité. Bien que microbiote et obésité soient fortement associés entre eux, la plupart des études portant sur des individus obèses et/ou sur une modulation du microbiote intestinal comparent des groupes nourris avec des régimes différents, sans discuter de l'impact du régime en lui-même.

2.2. Microbiote intestinal et homéostasie glucidique

La composition du microbiote intestinal et le développement d'un diabète ont été associés dans plusieurs études chez l'Homme et chez la souris. Chez cette dernière, le rôle causal du microbiote dans la pathologie a pu être caractérisé (Suez et al., 2014). Chez

l'Homme, il existe une différence de composition et des fonctions du microbiote intestinal entre individus (pré)diabétiques ou non, notamment une diminution des espèces appartenant au genre *Clostridium*, productrices de butyrate et dépourvues de LPS, ainsi qu'une augmentation de nombreuses bactéries à Gram négative opportunistes ou pathogènes possédant des LPS, dont certaines appartiennent aux phyla Bacteroidetes et Proteobacteria (Qin et al., 2012; Karlsson et al., 2013; Zhang et al., 2013). Des souris nourries avec un régime riche en gras présentent une altération dans la composition de leur microbiote intestinal, associée à des troubles métaboliques tels qu'une intolérance au glucose, une insulino-résistance, une augmentation de la perméabilité intestinale en lien avec un taux circulant de LPS plus important et une inflammation bas grade. Ces troubles ont pu être rétablis par un traitement antibiotique modulant la composition du microbiote intestinal ou encore par la délétion génétique de TLR4 (*Toll-like receptor 4*), dont le ligand est le LPS (Brial et al., 2018). La délétion de TLR5, qui reconnaît un composant des bactéries à Gram positive et Gram négative au niveau intestinal (Hayashi et al., 2001), induit chez la souris une hyperphagie (+10%) et l'apparition d'un syndrome métabolique caractérisé par une hyperlipidémie, une hypertension, une insulino-résistance et une adiposité augmentée (+20%) (Vijay-Kumar et al., 2010).

Etant donné que le microbiote intestinal participe à la santé et au métabolisme de l'hôte (Lynch et Pedersen, 2016; Sonnenburg et Bäckhed, 2016), il pourrait également jouer un rôle dans les changements métaboliques durant la grossesse (Koren et al., 2012), tels que l'augmentation de l'insulinémie et de l'insulino-résistance ainsi que de la leptinémie (King, 2000; Luan et al., 2014). La composition du microbiote intestinal durant le dernier trimestre de grossesse est proche de celle associée à un diabète de type 2, avec une activité métabolique altérée qui favorise chez l'hôte les voies du métabolisme lipidique et glucidique (Koren et al., 2012).

2.3. Microbiote intestinal et homéostasie lipidique

L'analyse du métabolome d'animaux axéniques et d'animaux conventionnels indique que la présence d'un microbiote intestinal augmente significativement la concentration plasmatique en phosphatidylcholine, tandis que la concentration plasmatique des triglycérides est diminuée au profit de sa concentration dans les adipocytes et dans le foie (Velagapudi et al., 2010). La triglycéridémie des souris axéniques est standardisée en 2 semaines après la colonisation de leur tractus digestif (Velagapudi et al., 2010). Si le microbiote intestinal n'influence pas l'absorption intestinale des triglycérides, il influence celle d'autres espèces lipidiques, comme les sphingomyélines par exemple (Velagapudi et al., 2010). Plus récemment, des corrélations statistiques à partir de la cohorte LifeLines-

DEEP ont relié l'abondance (augmentée ou diminuée) de 34 taxa du microbiote intestinal avec un plus faible indice de masse corporelle et une plus faible triglycémie, notamment les bactéries appartenant au phylum des Tenericutes ainsi qu'aux familles des Christensenellaceae et Pasteurellaceae et aux genres *Akkermansia* et *Butyrivibrio*. Au contraire, les bactéries du genre *Eggerthella* sont associées à une plus forte triglycémie (Fu et al., 2015).

Le microbiote intestinal influe sur la quantité d'énergie assimilable par l'hôte apportée par son régime alimentaire, participant selon sa composition à l'établissement potentiel d'une obésité. De plus, son impact sur le métabolisme général de l'hôte module les concentrations circulantes d'insuline et de leptine. De telles modulations chez une mère gestante obèse pourraient perturber le neurodéveloppement de celui-ci ainsi que son métabolisme à long terme.

3. Influence du microbiote intestinal sur les fonctions gastro-intestinales

L'épithélium intestinal est constitué d'une mono-couche de cellules absorbatives (entérocytes et colonocytes), de CEE, de cellules à mucus ou caliciformes, de cellules de Paneth, de cellules M (*microfold*), de cellules Tuft, de cellules souches prolifératives, ainsi que de l'ensemble des cellules immunitaires (plasmocytes, macrophages, cellules dendritiques, lymphocytes T et B) présentes dans ou sous l'épithélium (Bowcutt et al., 2014; Martin-Gallausiaux et al., 2017; Rizkalla et Doré, 2017; Tomas et Sansonetti, 2017). Cet épithélium est une structure dynamique et complexe, composé d'une alternance de villosités et de cryptes assurant des fonctions différentes selon les types cellulaires qu'elles hébergent et leur localisation (intestin grêle ou côlon). Le microbiote intestinal interagit avec l'ensemble de ces cellules et fonctions, permettant le développement optimal de l'épithélium, notamment de ses fonctions de barrière, immunitaire et endocrine.

3.1. Microbiote, développement et survie de l'épithélium intestinal

Les animaux axéniques sont le témoin que le développement de l'individu peut se faire sans microbiote. Cependant, ces animaux présentent des phénotypes anormaux parmi lesquels la morphologie et la physiologie de l'intestin (Sokol, 2017; Tomas et Sansonetti, 2017; Neumann et al., 2019). L'intestin grêle est plus court avec des villosités atrophiées et des cryptes moins profondes, ainsi qu'un cæcum plus gros de 4 à 6 fois par rapport aux animaux conventionnels, signes d'une immaturité de l'épithélium intestinal. Les diverses altérations développementales identifiées chez les animaux axéniques sont

détaillées dans le tableau 6. L'introduction de bactéries dans le tractus digestif restaure, en général, un phénotype normal. Dans l'intestin, l'installation du microbiote intestinal permet la maturation du système immunitaire, notamment les lymphocytes Treg (régulateurs) anti-inflammatoires et responsable de la tolérance envers les bactéries intestinales commensales et les nutriments (Di Mauro et al., 2013; Dominguez-Bello et al., 2019). *Escherichia coli*, *Bifidobacterium* ou encore *Lactobacillus* augmentent la survie cellulaire dans l'intestin en inhibant les voies apoptotiques (Ohland et Macnaughton, 2010).

Le microbiote intestinal est connu pour favoriser la prolifération des cellules souches dans les cryptes intestinales (Chowdhury et al., 2007). Le transfert d'un microbiote à des rats axéniques induit une augmentation du nombre de cellules en prolifération dans les cryptes et de la profondeur de celles-ci (Tomas et Sansonetti, 2017; Tomas et al., 2013, 2015). Le microbiote intestinal influence également la différenciation cellulaire (Tomas et al., 2013), notamment en cellules à mucus et entéroendocrines (Hiippala et al., 2018; Tomas et Sansonetti, 2017).

Les AGCC produits par le microbiote, notamment le butyrate, stimule l'apoptose des cellules intestinales *via* ses effets épigénétiques en inhibant les histones désacétylases et contrecarre ainsi certains dommages associés au stress oxydant et métabolique (Bernalier-Donadille et Pochart, 2017; Sauer et al., 2007). Le butyrate est également la source majeure d'énergie pour les colonocytes de la barrière intestinale, permettant la survie et le fonctionnement optimal de ces cellules (Donohoe et al., 2011). Lorsque des colonocytes des souris axéniques sont maintenus dans un état de déprivation énergétique, leur autophagie est induite (Donohoe et al., 2011). Cette altération de l'homéostasie énergétique intestinale est associée à une perturbation du transcriptome cellulaire, notamment des voies métaboliques du butyrate, de la β -oxydation, des acides aminés, ainsi qu'à une perturbation du métabolome cellulaire (glucose, lactate, créatine, glutamate, alanine, glutamine, isoleucine, valine, ...). La colonisation de ces souris axéniques, notamment des mâles, par le microbiote de souris conventionnelles ou par une seule espèce bactérienne productrice de butyrate (*Butyrivibrio fibrisolvens* ou *Bacteroides thetaiotaomicron*) rétablit en 10 jours les niveaux d'ATP et le transcriptome cellulaires (Donohoe et al., 2011). L'apport d'AGCC par le microbiote intestinal permet donc la survie des colonocytes, ce qui permet le maintien de l'intégrité de la barrière intestinale et de sa fonction d'absorption de nutriments (Hooper, 2001; Donohoe et al., 2011).

3.2. Microbiote et fonction de barrière

Le microbiote intestinal interagit avec les différentes cellules de la muqueuse intestinale, de façon directe ou indirecte, notamment par des composants des parois bactériennes.

Microbiote et mucus. La couche dense de mucus au-dessus des cellules de l'épithélium intestinal est sécrétée par les cellules caliciformes et empêche les bactéries d'arriver au contact en trop grand nombre (Birchenough et al., 2015; Kim et Ho, 2010). Ce mucus se répartit en deux couches de densité différente (Johansson et al., 2011). En condition physiologique, les bactéries ne peuvent pénétrer que dans la couche superficielle (Johansson et al., 2011) (fig.25). Une partie de la sécrétion de

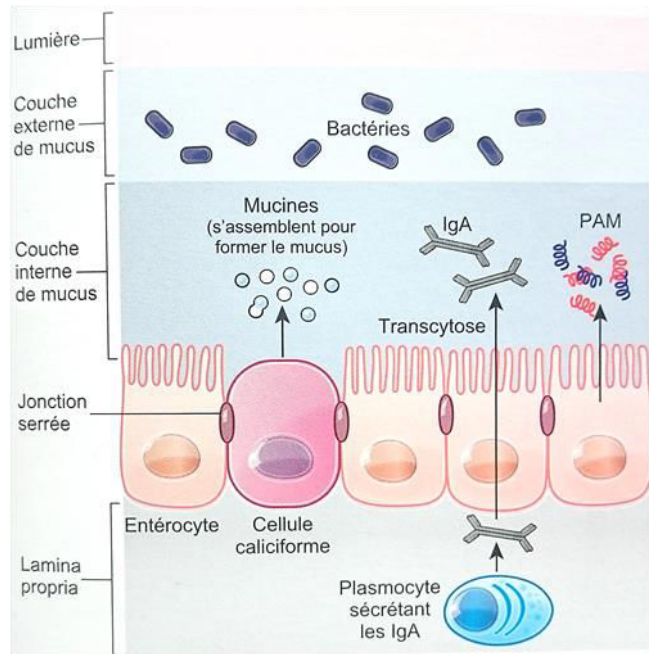


Figure 25. Le mucus et son rôle de barrière. Le mucus joue le rôle de barrière intestinale physique en maintenant les bactéries à distance des cellules épithéliales. Il retient également les composés antimicrobiens ce qui permet d'augmenter leur concentration dans la zone dense de mucus. IgA : immunoglobuline A ; PAM : peptide anti-microbien. Issue de Sokol (2017).

notamment issus de *Bacteroides*

thetaiotaomicron (Hooper, 2001). La production d'AGCC par le microbiote intestinal favorise un pH permettant au mucus d'atteindre une épaisseur et une structure optimale et ainsi de limiter la translocation bactérienne (Quinton, 2010; Keely et al., 2012). Des altérations du mucus intestinal ont été associées au développement de maladies inflammatoires chroniques (Farkas et al., 2011; Tomas et Sansonetti, 2017).

Outre ce rôle direct de barrière, le mucus permet également de concentrer différentes molécules immunitaires et bactéricides qui y sont sécrétées par l'ensemble des cellules épithéliales (Lepage et al., 2017; Sokol, 2017; Tomas et Sansonetti, 2017) (fig. 24-25). La nature du mucus, sous l'influence du microbiote, joue donc un rôle important dans le niveau de protection de la muqueuse et dans la réponse bactéricide de cette dernière (Kawakubo et al., 2004; Linden et al., 2008).

Microbiote et jonctions entre cellules épithéliales. Il existe 3 types de jonctions définies par les protéines qui les composent : les jonctions serrées, les jonctions

adhérentes et les desmosomes (Chelakkot et al., 2018; Groschwitz et Hogan, 2009; Tomas et Sansonetti, 2017) (fig.26). Les jonctions serrées, situées au pôle apical des cellules, contrôlent la perméabilité paracellulaire (Suzuki, 2013) et par conséquent le transport transépithélial des ions, des nutriments, des produits bactériens et des antigènes (alimentaires ou micro-organiques) (Turner, 2009). Certains souches commensales (*Escherichia coli* Nissle 1971) ou dites « probiotiques » (*Lactobacillus rhamnosus*, *L. helveticus*) favorisent la formation des jonctions adhérentes et serrées. *Bacteroides thetaiotaomicron* renforce drastiquement les desmosomes entre les cellules (Hooper, 2001). A l'inverse, d'autres commensales (par exemple *E. coli* C25) augmentent la perméabilité intestinale en réorganisant ces mêmes jonctions (Tomas et Sansonetti, 2017). Cet impact négatif sur la perméabilité pourrait être médié par la production de composés phénoliques (phénols, *p*-crésol), ou d'ammoniaque produits par le microbiote. Il est à noter que le résultat de l'interaction bactérie-hôte dans ces études dépend de la souche bactérienne impliquée. Chez la souris, l'obésité génétique (*ob/ob*) ou la consommation d'un régime riche en gras module la composition du microbiote intestinal en faveur des bactéries à Gram négative possédant des LPS. Cette modulation entraîne une diminution de l'expression des gènes des jonctions adhérentes et serrées, en partie *via* la sur-activation du TLR-4, augmentant la perméabilité intestinale (Cani et al., 2008). Il en résulte une endotoxémie métabolique due au LPS 2 à 3 fois plus élevée, conduisant à une dérégulation du métabolisme glucidique et une augmentation de l'inflammation et de l'adiposité (Cani et al., 2007a, 2008). Une antibiothérapie ou une supplémentation en prébiotiques modulent la composition du microbiote chez ces souris sous régime riche en gras ou obèses, et prévient ces symptômes (Cani et al., 2007c, 2008).

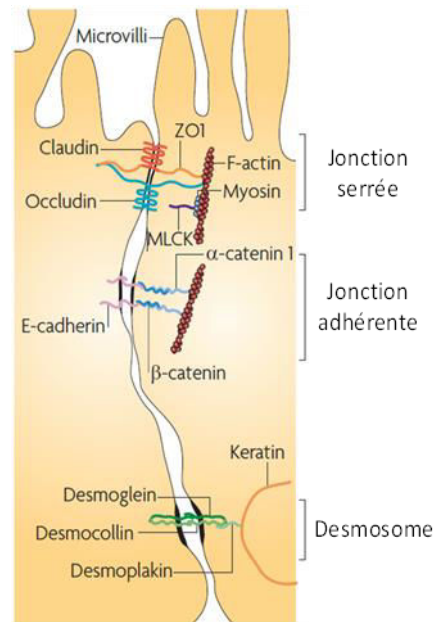


Figure 26. Les cellules épithéliales intestinales sont jointes entre elles par des jonctions serrées, adhérentes ou par des desmosomes. ZO1 : zona occludens 1 ; MLCK : myosin light chain kinase. Issue de Turner

3.3. Microbiote et fonction endocrine.

Bien qu'elles ne représentent qu'environ 1% du nombre total de cellules épithéliales intestinales, les CEE constituent le plus grand organe endocrine de l'organisme (Ahlgren and Nilsson, 2001). Différents types de CEE sont connus depuis longtemps, selon les hormones/ peptides qu'elles sécrètent. Cependant, des données relativement récentes

montrent que les CEE forment en réalité une unique lignée capable de sécréter de multiples hormones et peptides selon le type de stimulation reçue et/ou leur localisation dans le tractus digestif (Engelstoft et al., 2013; Fothergill et al., 2017). La nomenclature associant une lettre à chaque type de CEE selon le peptide sécrété est néanmoins conservée dans la littérature (I pour CCK, L pour GLP-1, K pour GIP, etc.).

Outre les TLRs, ces cellules expriment à leur surface une grande diversité de récepteurs leur permettant de détecter non seulement les nutriments mais également les métabolites bactériens (LPS, AGCC, indole), ainsi que les acides biliaires de la lumière intestinale (pour revue voir Martin et al., 2019) (fig.27). L'activation de ces récepteurs stimule la libération de peptides gastro-intestinaux jouant des rôles majeurs dans de nombreuses fonctions telles que la digestion (motricité, sécrétions biliaire et pancréatique), ou la régulation de la glycémie et de la prise alimentaire (Martin et al., 2019a). Seule la production de quelques hormones et peptides est développée ci-après, notamment ceux connus pour être produits par les CEE en réponse au microbiote intestinal comme la sérotonine, le GLP-1, le GIP (*glucose-dependent insulinotropic peptide*), et le PYY.

Sécrétion de sérotonine. Les cellules entérochromaffines représentent la moitié des CEE et sécrètent environ 95% de la sérotonine totale. Ce neurotransmetteur participe à la régulation du péristaltisme intestinal, du métabolisme et du comportement de l'hôte (Martin et al., 2019a). Le microbiote intestinal stimule directement la libération de sérotonine *via* l'activation des récepteurs GPR41/43 (FFAR3/2) par les AGCC (Akiba et al., 2015; Martin et al., 2017a), mais aussi indirectement par la stimulation de la production de GLP-1 qui stimule à son tour les cellules entérochromaffines (Lund et al., 2018).

Sécrétion de GLP-1. Le GLP-1 est un peptide anorexigène sécrété par les CEE anciennement nommées de type L (CEE-L) en réponse à un repas. Il favorise la libération d'insuline et le stockage du glucose et inhibe la vidange gastrique (Martin et al., 2019a). La consommation d'un régime riche en fibres non digestibles par l'hôte, ou une supplémentation en agents prébiotiques induit la production d'AGCC par le microbiote intestinal. Ceux-ci activent les CEE et induisent une augmentation de la transcription et de la sécrétion de GLP-1, associées à une réduction de la prise alimentaire et de l'adiposité (Everard and Cani, 2014). Chez la souris, des altérations différentes de la composition du microbiote intestinal suite à la consommation d'un régime alimentaire riche en gras et en sucre (induisant une obésité et un diabète) ou riche en gras seulement (induisant un diabète seul) sont associées à des réponses différentes au GLP-1 et à l'insuline (Grasset et al., 2017).

Sécrétion de GIP. Le GIP est sécrété en réponse à un repas principalement par les CEE de type K situées dans l'iléon et, comme le GLP-1, favorise la libération d'insuline (Buffa et al., 1975). Il exerce également un effet proadipogénique similaire à l'insuline dans le métabolisme lipidique (Getty-Kaushik et al., 2006). Plusieurs études ont identifiés un effet stimulant des AGCC sur la sécrétion de GIP, bien que les mécanismes restent encore flous (Cho et al., 2012). Une administration orale de butyrate à des souris augmente la sécrétion de GIP et de GLP-1, tandis que l'administration de pyruvate (métabolite secondaire de la synthèse des AGCC) et d'un mélange d'AGCC augmentent spécifiquement la concentration plasmatique de GIP mais pas le GLP-1 ni le PYY (Lin et al., 2012), indiquant une signalisation différente *via* les récepteurs GPR41/43 selon la localisation des CEE. Outre son effet incrétine, le GIP peut réguler directement la prise alimentaire en activant ses récepteurs hypothalamiques (Adriaenssens et al., 2019).

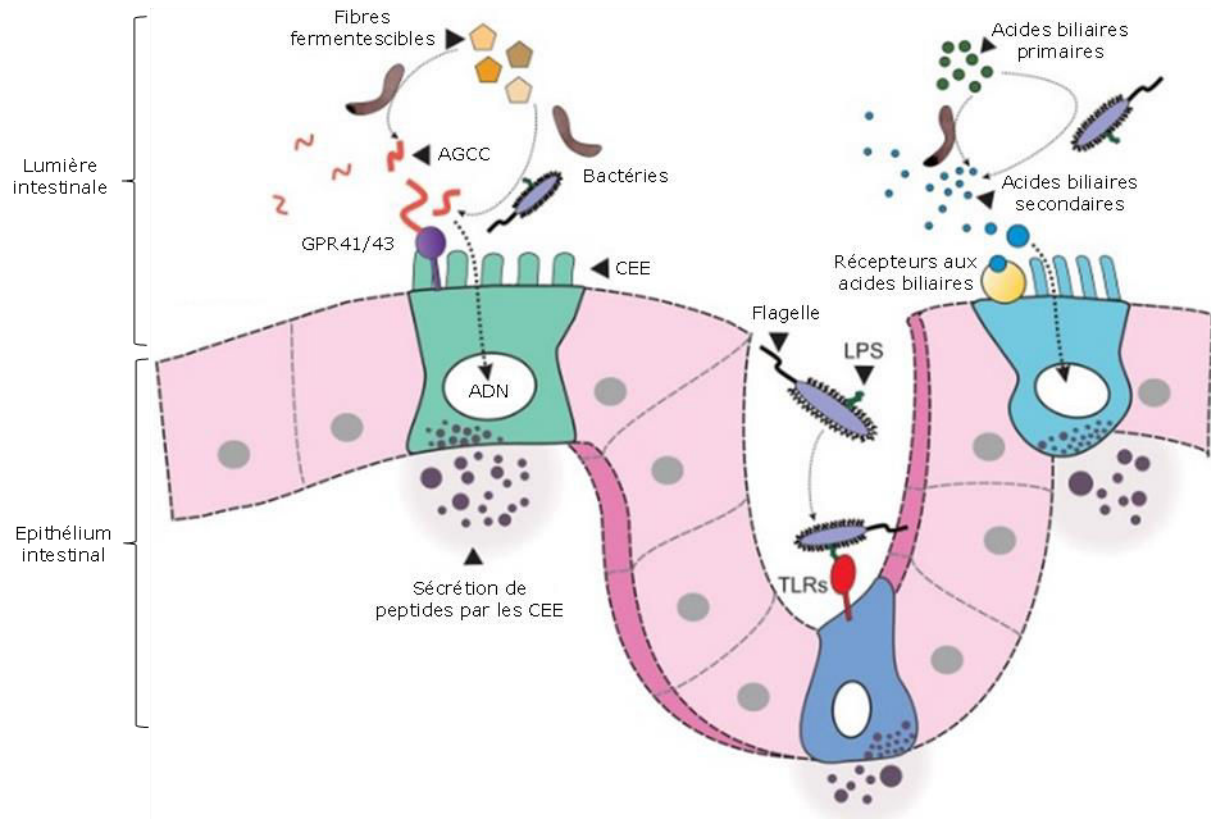


Figure 27. Voies d'activation des cellules entéroendocrines par le microbiote intestinal. L'activation peut être par la fixation directe de composants bactériens aux TLRs, ou par la production d'AGCC et d'acides biliaires secondaires. AGCC : acides gras à chaîne courte ; GPR (FFAR) : récepteur aux AGCC ; CEE : cellule entéroendocrine ; LPS : lipopolysaccharide ; TLR : toll-like receptor. D'après Martin et al. (2019).

Sécrétion de PYY. Le PYY exprime son effet anorexigène en inhibant le signal transmis par les récepteurs Y_2R des neurones $ARC^{AgRP/NPY}$ (Dumont et al., 1995; Loh et al., 2015). Chez l'Homme obèse, la production de PYY est diminuée (le Roux et al., 2006). Outre la stimulation directe de la sécrétion de PYY par les AGCC, le butyrate et le propionate, par leurs capacités à moduler les marques épigénétiques de l'ADN, favorisent l'expression du gène *pyy* (Larraufie et al., 2018). De façon intéressante, les acides biliaires

secondaires produits par le microbiote intestinal stimulent également la sécrétion de PYY et de GLP-1 (Kuhre et al., 2018). L'altération du microbiote intestinal par une prise d'antibiotique augmente la concentration plasmatique de PYY après un repas (Mikkelsen et al., 2015), ce qui pourrait favoriser une plus grande consommation de nourriture et sur le long terme, une prise de poids.

L'influence du microbiote intestinal sur le développement et le maintien de l'homéostasie intestinale font de ce microbiote un élément majeur dans le développement intestinal du nouveau-né. Une modulation dans la composition du microbiote intestinal du descendant, soit de façon directe par une manipulation postnatale, soit de façon indirecte suite à une modulation des microbiotes maternels, pourrait entraîner une altération de la maturation intestinale (immunité, fonction barrière, endocrine, ...). Cette altération pourrait potentiellement être à l'origine d'une dérégulation à court et long termes de la prise alimentaire et de l'homéostasie énergétique, *via* les peptides gastro-intestinaux mais également par l'induction d'une adiposité, en lien avec un état inflammatoire de bas grade, induite par des défauts de barrière.

4. Production de métabolites bactériens et implications pour l'hôte

Les nombreux métabolites issus de l'activité des bactéries du microbiote intestinal sont en contact étroit avec les cellules de l'hôte et peuvent influencer sa physiologie au niveau intestinal, mais également de façon générale par le biais d'autres organes *via* leur absorption et transport par la circulation sanguine (Bernalier-Donadille et Pochart, 2017c).

4.1. Production d'acides gras à chaîne courte

Les AGCC sont produits dans le cæcum et le côlon à partir de la fermentation bactérienne des fibres alimentaires, mais aussi des protéines et peptides ayant échappé à la digestion par l'hôte (pour revue voir Koh et al., 2016). Lorsque la quantité de fibres est optimale, les espèces fibrolytiques (*Ruminococcus*, *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, ...) clivent les longues chaînes de sucres en oligosides plus courts, à leur tour utilisés par d'autres genres bactériens tels que *Clostridium*, *Eubacterium*, *Roseburia*, ou encore *Lactobacillus* (fig.29). Ces bactéries produisent majoritairement de l'acétate, du propionate et du butyrate, et dans une moindre mesure du valérate. D'autres composés secondaires

comme le succinate et le lactate sont produits durant cette fermentation, majoritairement par des *Bifidobacterium* ou des *Lactobacillus* (Koh et al., 2016) (fig.28). Lorsque les fibres viennent à manquer, la fermentation des protéines permet la libération des acides gras à chaîne courte ramifiés (AGCC-R) : isobutyrate, 2-méthylbutyrate, et l'isovalérate, exclusivement synthétisés à partir des acides aminés ramifiés, respectivement la valine, l'isoleucine et la leucine (Smith and Macfarlane, 1997). Il est à noter que si le butyrate est exclusivement produit par le microbiote, l'acétate, le propionate et le lactate peuvent également être produits par les cellules de l'hôte.

Le butyrate est rapidement utilisé par les colonocytes comme source principale d'énergie (voir la partie 3.1. de ce chapitre). Les autres AGCC rejoignent la veine porte et arrivent au foie *via* la circulation sanguine, où la majeure partie du propionate est métabolisée en glucose (Leng and Annison, 1963). En conditions physiologiques, l'acétate est donc l'AGCC dont la concentration plasmatique est la plus abondante (Cummins et al., 1987). Le lactate, produit intermédiaire de la synthèse des AGCC est rapidement converti en butyrate par les bactéries utilisatrices de lactate dans l'intestin (Flint et al., 2012) (fig.28).

Les effets des AGCC sur la physiologie de l'hôte sont pléiotropes. Parmi eux, on peut citer la régulation de l'expression des gènes par la modulation des marques épigénétiques, une possible diminution du risque de cancer intestinal et d'asthme par leurs impacts sur le système immunitaire, la régulation du transit intestinal, de la sécrétion d'insuline, du métabolisme hépatique (glucidique et lipidique) et du stockage d'énergie dans les adipocytes, ainsi que la modulation de fonctions cérébrales régulant la prise alimentaire, ou au cours du développement (neurogenèse) (Koh et al., 2016). Ces fonctions sont représentées sur la figure 29. Généralement, les AGCC sont associés à des effets métaboliques favorables et amincissants (Ridaura et al., 2013). Cependant, une étude a démontré chez l'Homme une augmentation significative des concentrations d'AGCC dans les fèces d'obèses comparées à celles d'individus normopondéraux (propionate +41%, butyrate +28%, valérate +21%, acétate +18%), indiquant selon les auteurs, une meilleure capacité du microbiote « obèse » à extraire l'énergie de l'alimentation (Schwartz et al., 2010).

Ces résultats indiquent qu'il reste à éclaircir si les AGCC contribuent activement à l'obésité ou sont le simple reflet d'une altération de la composition du microbiote intestinal (Koh et al., 2016). Outre leur présence sur les cellules épithéliales intestinales, les récepteurs aux AGCC sont également exprimés dans le système nerveux périphérique, comme les ganglions sympathiques ou vagues (Kimura et al., 2013; Nøhr et al., 2015). Chez la souris axénique, les altérations de la population microgliale du système nerveux central (densité, morphologie, fonctions) sont restaurées par la supplémentation en AGCC durant 4 semaines (Erny et al., 2015). Leurs impacts détaillés sur le métabolisme, le

système nerveux entérique et le système nerveux central sont listés dans le tableau 5 (Koh et al., 2016).

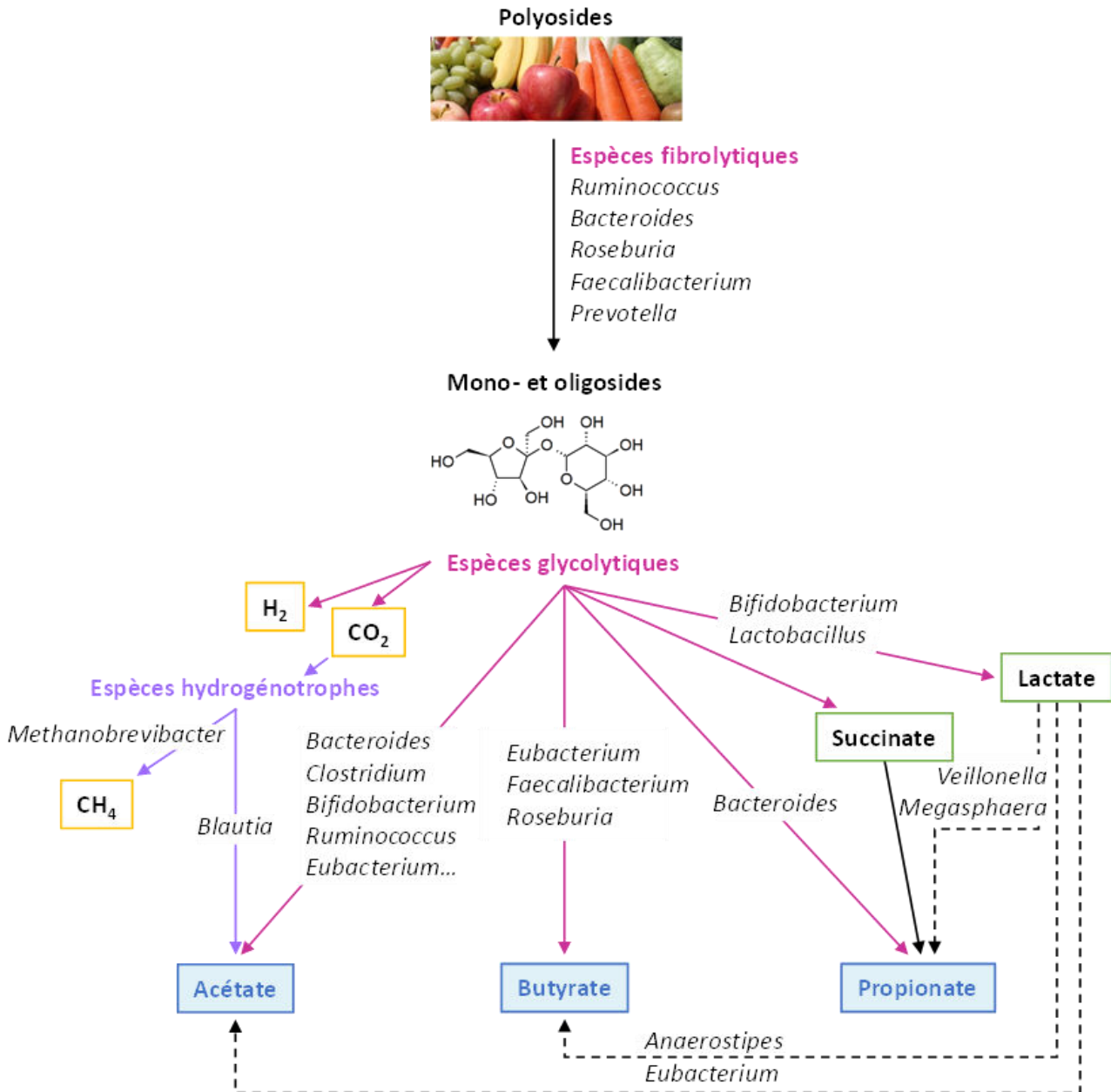


Figure 26. Représentation schématique de la synthèse des différents AGCC à partir des fibres alimentaires non digestibles par l'hôte, et des genres bactériens privilégiant chaque voie de synthèse. Les encarts bleus correspondent aux AGCC majeurs produits par le microbiote intestinal. Les encarts verts correspondent aux composés intermédiaires produits durant le processus. Les encarts jaunes correspondent aux différents gaz produits par le microbiote intestinal à partir des polyosides. D'après Bernalier-Donadille et Pochart (2017)

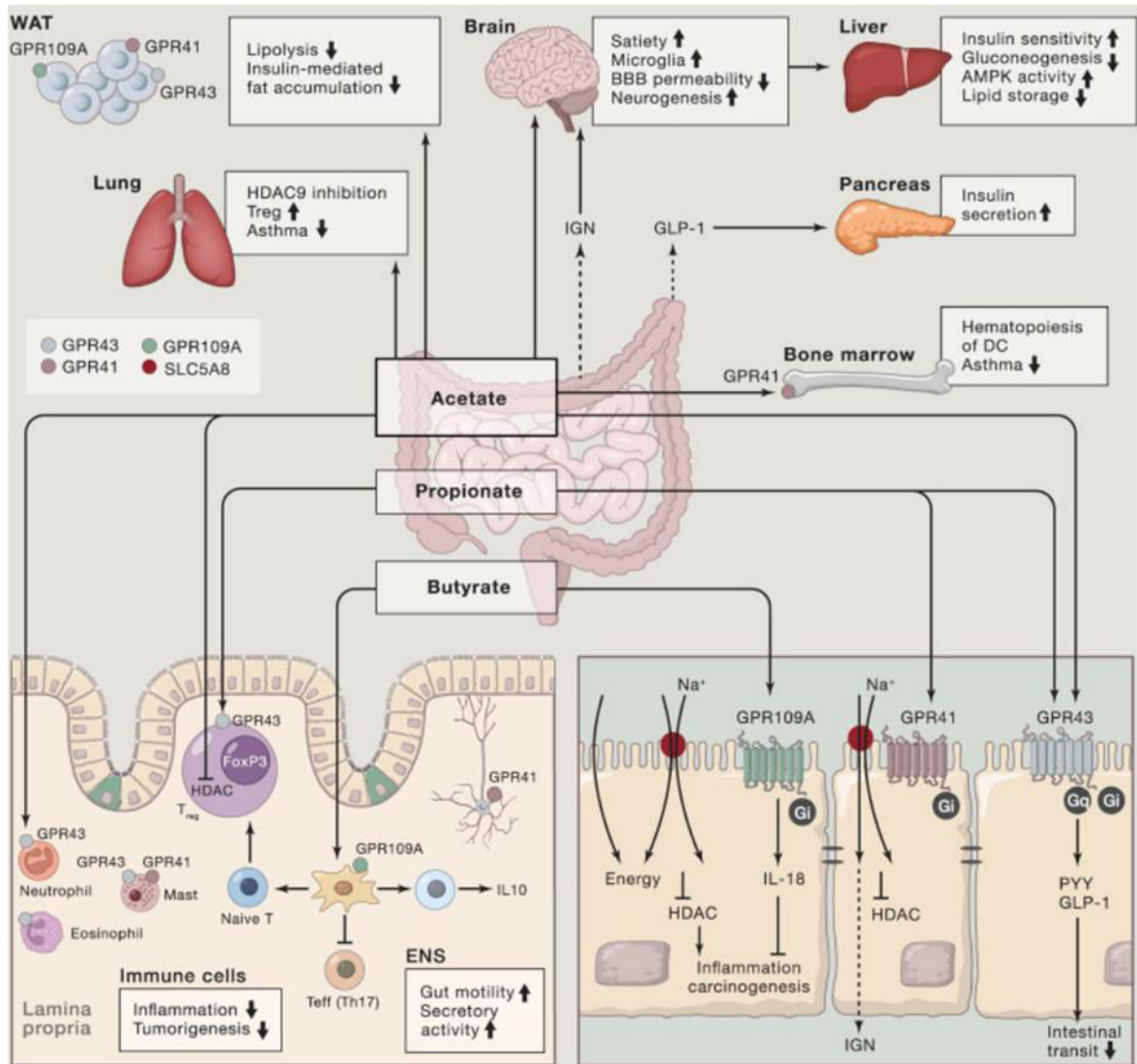


Figure 27. Effets pléiotropes des AGCC sur la physiologie de l'hôte. WAT : tissu adipeux blanc ; BBB : barrière hémato-encéphalique ; DC : cellules dendritiques ; ENS : système nerveux entérique ; HDAC : histone désacétylase permettant ou non la transcription de gènes ; IGN : production de glucose au niveau intestinal ; GPR (=FFAR) : récepteur aux AGCC ; IL : interleukine ; Treg : lymphocytes T régulateurs ; Th17 : lymphocyte T helper 17 ; AMPK : AMP-activated protein kinase. Issue de Koh et al. (2016)

Comme évoqué précédemment, la gestation modifie la composition du microbiote intestinal et vaginal qui se traduit par une variation de la production des AGCC, potentiellement impliqués dans les changements métaboliques subis par la mère durant la gestation. En effet, chez la souris gestante, l'augmentation progressive des Actinobacteria et des Bacteroidetes induit dans le cæcum une augmentation des concentrations en acétate et propionate et une diminution du lactate (Fuller et al., 2015). Ces modulations microbiennes sont associées au maintien d'une glycémie à jeun optimale au quinzième jour de gestation, malgré l'installation d'une insulino-résistance physiologique (Fuller et al., 2015). Chez la femme enceinte, la concentration plasmatique d'acétate est significativement plus élevée que celles du propionate (14 fois) et du butyrate (30 fois) en fin de grossesse, bien que la composition du microbiote intestinal n'ait pas été caractérisée (Priyadarshini et al., 2014). Ces résultats ne sont toutefois pas retrouvés dans d'autres espèces telles que la truie, chez qui les taux d'AGCC produits durant la gestation restent stables (Liu et al., 2019). L'indice de masse corporelle de la mère n'a pas d'impact sur ces concentrations, mais des corrélations négatives significatives ont été identifiées entre le taux d'acétate et la prise de poids durant la gestation, ainsi que la concentration de propionate et la taille et le poids du nouveau-né (Priyadarshini et al., 2014).

Le microbiote vaginal produit de plus grandes quantités de lactate que le microbiote intestinal (Boskey et al., 2001). Si l'épithélium vaginal répond de la même façon que l'épithélium intestinal au lactate, le microbiota vaginal pourrait donc moduler les fonctions physiologiques vaginales de l'hôte (Koh et al., 2016).

Tableau 5a. Impacts de l'acétate sur le métabolisme, le système nerveux entérique et le système nerveux central de l'hôte.

	Espèces	Particularités	Impacts	Références
Acétate	Métabolisme			
	(revue)	Régime gras	Prévention obésité et insulino-résistance	González Hernández et al., 2019
	Humain	Femmes hyperinsulinémiques	Augmentation concentrations plasmatiques de PYY et GLP-1	Freeland et Wolever, 2010
		Hommes sains	Diminution acides gras libres et cholestérol plasmatiques	Suokas et al., 1988
	Rat	Obèses et diabétiques	Diminution gain de poids Augmentation tolérance au glucose	Yamashita et al., 2007
	Souris	Adipocytes <i>ex vivo</i>	Stimulation lipogenèse + Inhibition lipolyse	Hong et al., 2005; Ge et al., 2008
		WT et ob/ob	Diminution acides gras libres plasmatiques	Ge et al., 2008
		WT, GPR43 ^(-/-) , GPR43 surexprimés, axéniques ou non, sous régime gras	Suppression signal insulinémique dans les adipocytes, redirection du glucose dans les muscles, diminution de l'adiposité	Kimura et al., 2013
	Système nerveux entérique			
	Rat	Système nerveux entérique <i>ex vivo</i>	Augmentation du péristaltisme relargage sérotonine + CGRP	Grider et Piland, 2007
Système nerveux central				
Souris	Axéniques colonisées par <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> producteur d'acétate	Diminution perméabilité barrière hémato-encéphalique (BHE) (cortex frontal, hypothalamus)	Braniste et al., 2014	
	Régime gras supplémenté en prébiotiques	Passage BHE, activation hypothalamus, déclenchement de la satiété	Frost et al., 2014	

Tableau 5b. Impacts du propionate sur le métabolisme, le système nerveux entérique et le système nerveux central de l'hôte. VIP : peptide vasoactif intestinal ; BHE : barrière hémato-encéphalique

	Espèces	Particularités	Impacts	Références
Propionate	Métabolisme			
	Humain	Sains + ilôts pancréatiques <i>ex vivo</i>	Augmentation concentration plasmatique insuline	Pingitore et al., 2017
		Sains + colonocytes <i>ex vivo</i>	Augmentation concentrations plasmatiques de PYY et GLP-1 Diminution prise de poids	Chambers et al., 2015
		Hommes sains	Diminution acides gras libres et cholestérol plasmatiques	Suokas et al., 1988
		Femmes saines	Diminue glycémie à jeun Augmentation sécrétion d'insuline en réponse au glucose	Venter et al., 1990
	Rat	Males, Régime standard	Diminution gain de poids Stimulation néoglucogenèse intestinale Augmentation sensibilité à l'insuline et tolérance au glucose	De Vadder et al., 2014
	Souris	Hyperinsulinémiques nourries avec régime riche en gras	Stimulation production PYY Amélioration signal insulinémique dans muscles et tissu adipeux	van den Hoek et al., 2004
		Adipocytes <i>ex vivo</i>	Stimulation lipogenèse + Inhibition lipolyse dans adipocytes	Hong et al., 2005; Ge et al., 2008
		Régime gras supplémenté en propionate	Prévention de l'obésité Diminution concentrations plasmatiques leptine, insuline	Lin et al., 2012
	Système nerveux entérique			
	Cochon d'Inde	Colon <i>ex vivo</i>	Diminution péristaltisme du côlon	Hurst et al., 2014
	Rat	Colon <i>ex vivo</i>	Augmentation sécrétion acétylcholine	Yajima et al., 2011
		Males, Régime standard supplémenté en propionate	Augmentation nombre neurones VIP	De Vadder et al., 2015
	Système nerveux central			
Humain	Sains	Diminution nombre de calories ingérées	Chambers et al., 2015	
Souris	Axéniques colonisées par <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> producteur de propionate	Diminution perméabilité BHE (cortex frontal, hypothalamus)	Braniste et al., 2014	

Tableau 5c. Impacts du butyrate sur le métabolisme, le système nerveux entérique et le système nerveux central de l'hôte. BDNF : brain-derived neurotrophic factor ; BHE : barrière hémato-encéphalique.

	Espèces	Particularités	Impacts	Références
Butyrate	Métabolisme			
	Humain	Hommes normopondéraux + Hommes obèses + supplémentation orale butyrate	Amélioration sensibilité insuline chez normopondéraux Résistance à l'obésité	Bouter et al., 2018
	Rat	Males, Régime standard	Diminution gain de poids Stimulation néoglucogenèse intestinale Augmentation sensibilité à l'insuline et tolérance au glucose	De Vadder et al., 2014
		Insuffisance rénale	Normalisation glycémie + fonctions rénales	Gonzalez et al., 2019
	Souris	Régime gras + gavages butyrate	Augmentation internalisation glucose tissu adipeux	Gao et al., 2019
		Régime gras supplémenté en propionate	Prévention de l'obésité Diminution concentrations plasmatiques leptine, insuline	Lin et al., 2012
		Régime standard ou gras + gavages butyrate	Diminution poids souris obèses Normalisation concentrations plasmatiques glucose, insuline, leptine Augmentation activité mitochondriale muscles squelettiques	Hong et al., 2016
		Régime riche en gras	Augmentation sensibilité insuline, thermogenèse, dépenses énergétiques	Gao et al., 2009
	Système nerveux entérique			
	Rat	Males + Régime standard ou amidon résistant ou butyrate intracaecum + Colon <i>ex vivo</i> issu	Augmentation nombre neurones cholinergiques + péristaltisme	Soret et al., 2010
	Système nerveux central			
	Rat	Males + ischémie	Augmentation angiogenèse, neurogenèse, synthèse BDNF	Kim et al., 2009
	Souris	Axéniques colonisées par <i>Clostridium tyrobutyricum</i> producteur de butyrate	Diminution perméabilité BHE (cortex frontal, hypothalamus)	Braniste et al., 2014
Souris	Butyrate + Vitamine B6	Potentialise prolifération + neurogenèse hippocampe induite par B6	Yoo et al., 2011	

4.2 Production de neurotransmetteurs

De plus en plus de travaux scientifiques démontrent le rôle du microbiote intestinal dans la production d'amines biogènes, dont quatre ont été identifiées comme neurotransmetteurs : la dopamine, la norépinéphrine, la sérotonine et l'histamine (pour revue voir Sudo, 2019). L'utilisation de modèles de rongeurs axéniques ou la culture *in vitro* de bactéries ont permis d'identifier certains genres, espèces ou souches comme producteurs de neurotransmetteurs (tableau 6).

Tableau 6. Genres bactériens produisant des neurotransmetteurs. D'après Briguglio et al. (2018) et Strandwitz (2018).

Dopamine	Noradrénaline	Acétylcholine	Sérotonine	GABA	Histamine
<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus mycooides</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Citrobacter</i>
<i>Escherichia</i>	<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Hafnia</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Enterobacter</i>
<i>Hafnia</i>	<i>Escherichia coli</i>		<i>Lactobacillus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Hafnia</i>
<i>Morganella</i>	<i>Proteus vulgaris</i>		<i>Morganella</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>Proteus</i>	<i>Serratia marcescens</i>		<i>Streptococcus</i>		<i>Lactobacillus</i>
<i>Serratia</i>			<i>Lactococcus</i>		<i>Lactococcus</i>
<i>Staphylococcus</i>			<i>Enterococcus</i>		<i>Morganella</i>
					<i>Pediococcus</i>
					<i>Proteus</i>

Par exemple, la **dopamine** et ses dérivés (norépinéphrine et épinéphrine) sont retrouvés en concentration élevée dans des cultures d'*Escherichia coli*, de *Proteus vulgaris*, ou encore de *Bacillus subtilis* (Tsavkelova et al., 2000). *In vivo* sa concentration est multipliée par 11 entre l'iléon et le côlon de souris conventionnelles, tandis qu'elle est 35 fois plus faible dans le côlon de souris axéniques (Sudo, 2019a). La dopamine (et les catécholamines plus généralement) serait une molécule utilisée par les bactéries pour communiquer avec les cellules intestinales de l'hôte (Sudo, 2019a).

La **sérotonine**, majoritairement produite par les cellules entérochromaffines de l'intestin, participe au maintien du péristaltisme (Tsukamoto et al., 2007). Les rongeurs axéniques ont un taux plasmatique de tryptophane plus élevé que les conventionnels, notamment en lien avec une réduction de son métabolisme (Clarke et al., 2013). Cette concentration plus élevée de tryptophane, précurseur de la sérotonine, induit une augmentation du taux de sérotonine et de ses métabolites dans l'hippocampe des souris axéniques, mais uniquement chez les mâles (Clarke et al., 2013). Dans cette étude, ces modulations sont associées à une diminution du BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*), qui joue un rôle dans le neurodéveloppement et la régulation de la prise alimentaire (Kernie

et al., 2000). Le dimorphisme sexuel dans la régulation du taux de sérotonine par le microbiote a été confirmé par une autre étude, dans laquelle les auteurs proposent que le niveau basal d'expression de la sérotonine plus élevé chez les femelles que chez les mâles les rendrait moins sensibles aux manipulations augmentant la concentration de ce neurotransmetteur (Llorente et al., 2010). La colonisation de souris axéniques adultes par des fèces de souris conventionnelles induit une augmentation de la concentration en sérotonine dans le côlon d'un facteur 5 (Sudo, 2019a) et standardise le taux plasmatique de tryptophane, mais sans pouvoir normaliser la concentration hippocampique de sérotonine ou de BDNF (Clarke et al., 2013). Ces résultats indiquent que certaines altérations neurodéveloppementales persistent à long terme malgré une intervention, mais que d'autres peuvent encore être modulées par le microbiote intestinal.

L'**indole** est également produit par le microbiote intestinal à partir du tryptophane. Une injection ponctuelle de cette molécule induit une accumulation de ses métabolites (oxindole et isatine) au niveau cérébral, connus pour leurs effets neurodépresseurs (Jaglin et al., 2018). Cette accumulation est associée à une forte réduction de l'activité locomotrice et une activation du DMV dans le tronc cérébral par le nerf vague (Jaglin et al., 2018). La colonisation de rats axéniques par une souche d'*Escherichia coli* productrice d'indole augmentent les comportements associés à l'anxiété et à la dépression, encore une fois en association avec une activation du nerf vague, en comparaison avec d'autres rats axéniques colonisés par la même souche génétiquement déficiente pour la synthèse de l'indole (Jaglin et al., 2018). Cependant, ces rats colonisés par un producteur d'indole expriment une activité locomotrice normale, soulignant la limite à l'utilisation de modèles axéniques.

Lactobacillus reuteri est capable de convertir l'histidine en **histamine** (Thomas et al., 2012). Une modulation de l'abondance de cette espèce pourrait altérer les concentrations circulantes et centrales d'histamine, particulièrement dans les voies du circuit hédonique (Yarandi et al., 2016), avec des effets potentiels sur le comportement alimentaire.

Le **GABA** est le neurotransmetteur inhibiteur majoritaire du système nerveux central à l'âge adulte. Sa concentration dans la lumière intestinale est contrôlée positivement et négativement par le microbiote intestinal qui le produit ou le dégrade (Strandwitz, 2018). Les animaux axéniques ont des concentrations de GABA intestinale et plasmatique significativement inférieures à celles des animaux conventionnels, bien que cette différence ne soit pas étendue au niveau cérébral (Matsumoto et al., 2013).

D'autres **amines** comme la tryptamine, la phényléthylamine, les diamines (putrescine et cadavérine), et les polyamines (spermine et spermidine) auraient un lien avec l'altération du fonctionnement neuronal et la survenue de maladies psychiatriques (Sudo, 2019a).

4.3 Production d'acides biliaires secondaires

Les acides biliaires sont synthétisés dans le foie à partir du cholestérol et sont excrétés dans l'intestin grêle sous forme conjuguée à la glycine ou la taurine. Ils permettent la solubilisation des lipides et sont essentiels pour faciliter la digestion des lipides alimentaires et leur absorption. En conditions physiologiques, environ 95% de ces acides biliaires sont réabsorbés dans l'intestin et retournent au foie par la circulation sanguine. Cette réabsorption est permise par l'action des enzymes du microbiote intestinal qui les déconjuguent ou les transforment en acides biliaires secondaires. La déconjugaison est effectuée par de nombreux genres bactériens comme *Bacteroides*, *Clostridium*, *Lactobacillus* ou encore *Bifidobacterium* (Molinero et al., 2019) et libère du sulfure d'hydrogène pouvant être impliqué dans l'inflammation et le risque de cancer intestinaux (Carbonero et al., 2012). La transformation en acides biliaires secondaires en revanche est restreinte à un petit nombre de bactéries possédant les enzymes adéquates : *Eubacterium* et *Clostridium* (Ridlon et al., 2010). La transformation des acides biliaires primaires par le microbiote intestinal module l'activation des récepteurs épithéliaux à ces acides ainsi que la recapture de ces acides, permettant ainsi de réguler le métabolisme biliaire, glucidique et lipidique (Gadaleta et al., 2011).

De multiples symptômes et pathologies ont été associées à des altérations de la composition du microbiote intestinal et du métabolisme biliaire hépatique et bactérien, comme les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, le diabète de type 2, le cancer colorectal, ou encore les maladies hépatiques telle que la cirrhose non alcoolique (pour revue voir Molinero et al., 2019). Chez l'hôte, l'activation des récepteurs aux acides biliaires induit la synthèse d'agents antimicrobiens dans la lumière intestinale (Inagaki et al., 2006) et jouent un rôle dans la régulation de l'homéostasie énergétique (Wahlström et al., 2016). Récemment, des études princeps ont démontré la capacité de ces acides à traverser la barrière hémato-encéphalique et à activer des récepteurs au niveau hypothalamique, inhibant les signaux activateur (glutamate) et inhibiteur (GABA) (pour revue voir McMillin et DeMorrow, 2016). De plus, la délétion d'un des récepteurs à ces acides biliaires (FXR) au niveau cérébral chez la souris induit des altérations de la mémoire et de la coordination, et modifie la neurotransmission de la norépinéphrine et de la sérotonine (Huang et al., 2015). Enfin, les acides biliaires favoriseraient la survie et la prolifération des cellules progénitrices neurales (Soares, 2015).

Il est intéressant de noter qu'une altération dans la composition du microbiote intestinal néonatal, par exemple suite à un traitement antibiotique en début de vie ou une césarienne plutôt qu'une naissance par voie basse, induit chez les descendants des altérations dans le métabolisme des acides gras et des acides biliaires (Martin et al., 2016).

Le microbiote intestinal est capable de synthétiser un grand nombre de molécules actives chez l'hôte. Ainsi, les AGCC ont des effets pléiotropes sur l'ensemble de la physiologie générale de l'hôte, ainsi que sur ses systèmes nerveux périphérique et central. Ces effets neuronaux sont également médiés par la production de divers neurotransmetteurs et précurseurs de neurotransmetteurs de façon sexe-dépendante, ou encore *via* la modulation de la signalisation des acides biliaires.

Si ces métabolites bactériens influent sur l'hôte adulte, ils influeraient également sur le neurodéveloppement et le métabolisme du descendant. Cependant, les preuves d'une telle influence sur le jeune individu ainsi que les conséquences à long terme qui peuvent en découler sont encore parcellaires voire inexistantes.

5. Influence du microbiote intestinal sur le système immunitaire

La grande majorité des connaissances acquises sur l'influence du microbiote intestinal sur le système immunitaire de l'hôte provient du modèle murin axénique. Ces animaux présentent une altération profonde de la maturation de leur système immunitaire, que ce soit au niveau intestinal ou à l'échelle de l'organisme (Martin-Gallausiaux et al., 2017), détaillée dans le tableau 7 ci-dessous.

Tableau 7. Principales anomalies du système immunitaires décrites chez la souris axénique par rapport aux souris conventionnelles. Issu de Martin-Gallausiaux et al. (2017).

Anomalie	Localisation	Phénotype (axénique)
Anomalies intestinales		
Développement intestin grêle	Plaques de Peyer	↘ nombre et taille
	<i>Lamina propria</i>	atrophiée, ↘ lymphocytes
	Centres germinatifs	↘ plasmocytes
	Follicules lymphoïdes isolés	plus petits
Développement ganglions lymphatiques	Centres germinatifs	atrophiés
Lymphocytes T (CD4 ⁺)	<i>Lamina propria</i>	↘, ↘ Th17 (grêle uniquement)
Lymphocytes T (CD8 ⁺)	Intra-épithéliaux	↘ nombre, ↘ cytotoxicité
Expression CMH II	Cellules épithéliales	↘
Production PAMs	Cellules de Paneth	↘

Production IgA	Lymphocytes B	↓
Expression des TLR2, 4 et 9	Cellules épithéliales	↓
Production IL-25	Cellules épithéliales	↓
Anomalies générales		
Lymphocytes T (CD4 ⁺)	Rate	↓, ↓ production cytokines
Lymphocytes T (CD8 ⁺)	Rate	↓, ↓ production cytokines
IgA, IgG, IgM	Sériques	↓

Th17 : lymphocytes T *helper* de type 17; CMH II: complexe d'histocompatibilité de type 2; PAMs : peptides anti-microbiens; Ig : immunoglobulines; TLR : *Toll-like receptors*; IL : interleukine

La présence d'un microbiote intestinal ou de certaines bactéries particulières influence donc la réponse immunitaire de l'hôte de façon locale et/ou générale.

5.1. Microbiote et système immunitaire intestinal.

L'intestin contient le pool le plus important de cellules immunitaires de l'organisme. Elles sont en contact permanent avec les antigènes alimentaires de la lumière intestinale, et établissent les premiers contacts entre l'hôte et les micro-organismes composant le microbiote (Ley et al., 2006; Martin-Gallausiaux et al., 2017). Les antigènes (alimentaires et micro-organiques), voire même les micro-organismes entiers, sont régulièrement prélevés dans la lumière intestinale par les cellules M (*microfold*) situées dans les plaques de Peyer, qui représentent environ 10% des cellules épithéliales (Mabbott et al., 2013). Leur forme particulière leur permet d'interagir étroitement avec les cellules du système immunitaire de la *lamina propria* (macrophages, lymphocytes, cellules dendritiques) (Mabbott et al., 2013; Martin-Gallausiaux et al., 2017), ce qui participe à l'éducation du système immunitaire local, notamment des lymphocytes T régulateurs (Treg) (Lathrop et al., 2011) aux propriétés anti-inflammatoires et responsables de la tolérance envers les bactéries intestinales commensales et les nutriments (Di Mauro et al., 2013; Dominguez-Bello et al., 2019) en limitant l'expansion des lymphocytes T *helper* 17 (Th17) (Surana et Kasper, 2012) (fig.30). La présence de ces Treg semble nécessaire à la colonisation bactérienne intestinale, puisque celle-ci échoue chez des souris déficientes en Treg (Surana et Kasper, 2012).

Cet « échantillonnage » de la lumière intestinale peut également être réalisé directement par les prolongements des cellules dendritiques (fig.30). Ces cellules vont alors présenter ces antigènes aux lymphocytes B et T dans les plaques de Peyer pour produire des immunoglobulines A (IgA) spécifiquement adressées aux bactéries commensales afin d'en contrôler le nombre (Macpherson and Uhr, 2004) (fig.30). Les entérocytes transfèrent activement ce flux continu d'IgA depuis les plasmocytes de la *lamina propria*, jusqu'à la couche de mucus (Macpherson et al., 2009) (fig.25). Les bactéries segmentées filamenteuses spécifiques à la souris, ainsi que *Bacteroides*

thetaiotaomicron stimulent ce flux sans induire de réponse inflammatoire (Hooper, 2001) (Schnupf et al., 2015) (fig.30). Ces IgA favorisent l'ancrage de certaines bactéries bénéfiques telles que *Bacteroides fragilis* (Donaldson et al., 2018) dans la couche de mucus, et modulent la composition du microbiote intestinal en agissant soit directement sur l'expression de certains gènes du métabolisme et/ou de la croissance bactérienne, ce qui favorise la symbiose entre bactéries commensales et hôte (Nakajima et al., 2018), et/ou en agissant indirectement par un contrôle de la réponse pro-inflammatoire contre les bactéries commensales (Macpherson et al., 2015; Martin-Gallausiaux et al., 2017).

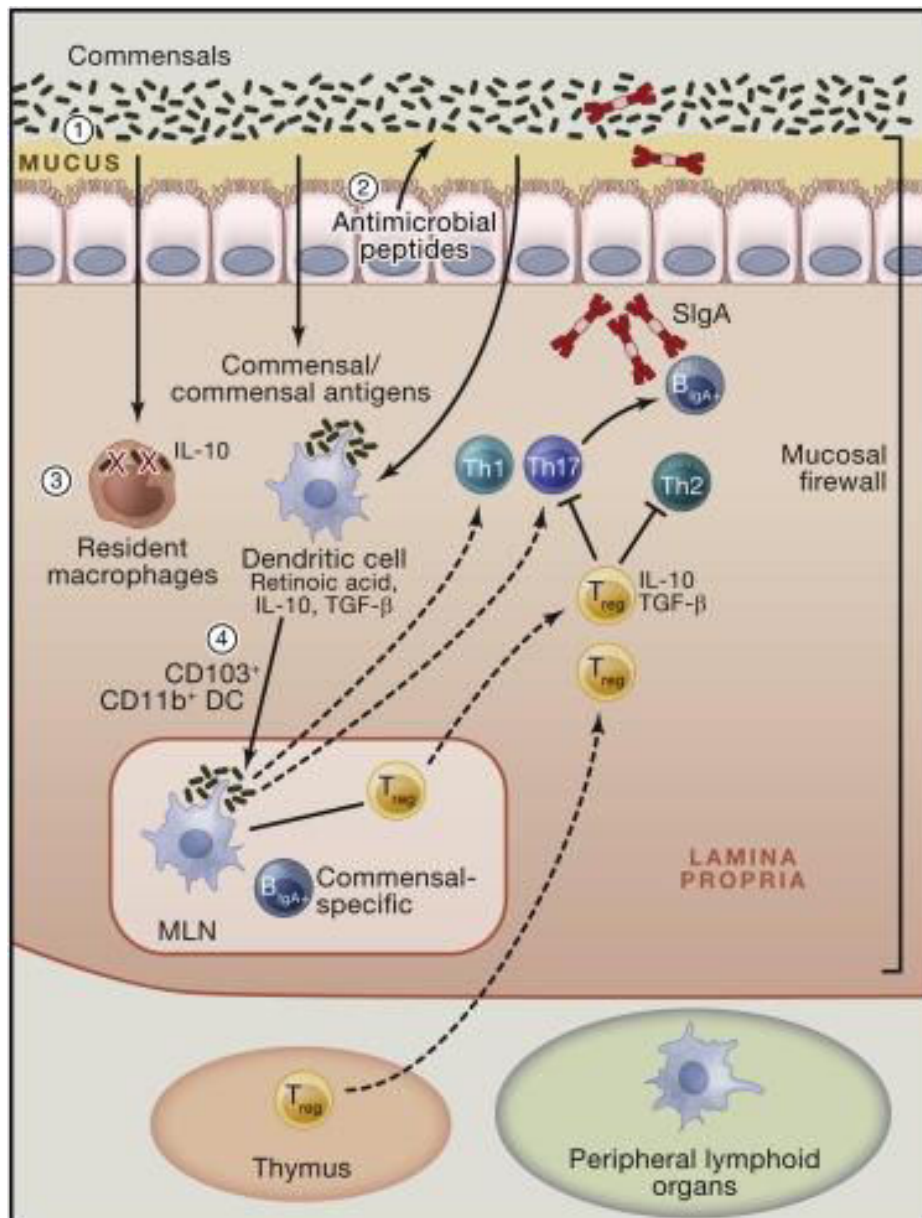


Figure 30. Le contrôle de la biomasse bactérienne de la lumière intestinale par le système immunitaire de l'hôte, implique la sécrétion d'IgA et d'IgA spécifiques produits par des lymphocytes éduqués dans les plaques de Peyer par les cellules dendritiques, ainsi que la sécrétion de PAMs par les cellules de Paneth. IL : interleukine ; DC : cellules dendritiques ; MLN : mesenteric lymph node ; SIgA : Immunoglobulines A spécifiques ; TGF : transforming growth factor ; Treg : lymphocyte T régulateur ; Th1-2-17 : lymphocytes T helper 1-2-17. Issue de Belkaid et Hand (2014)

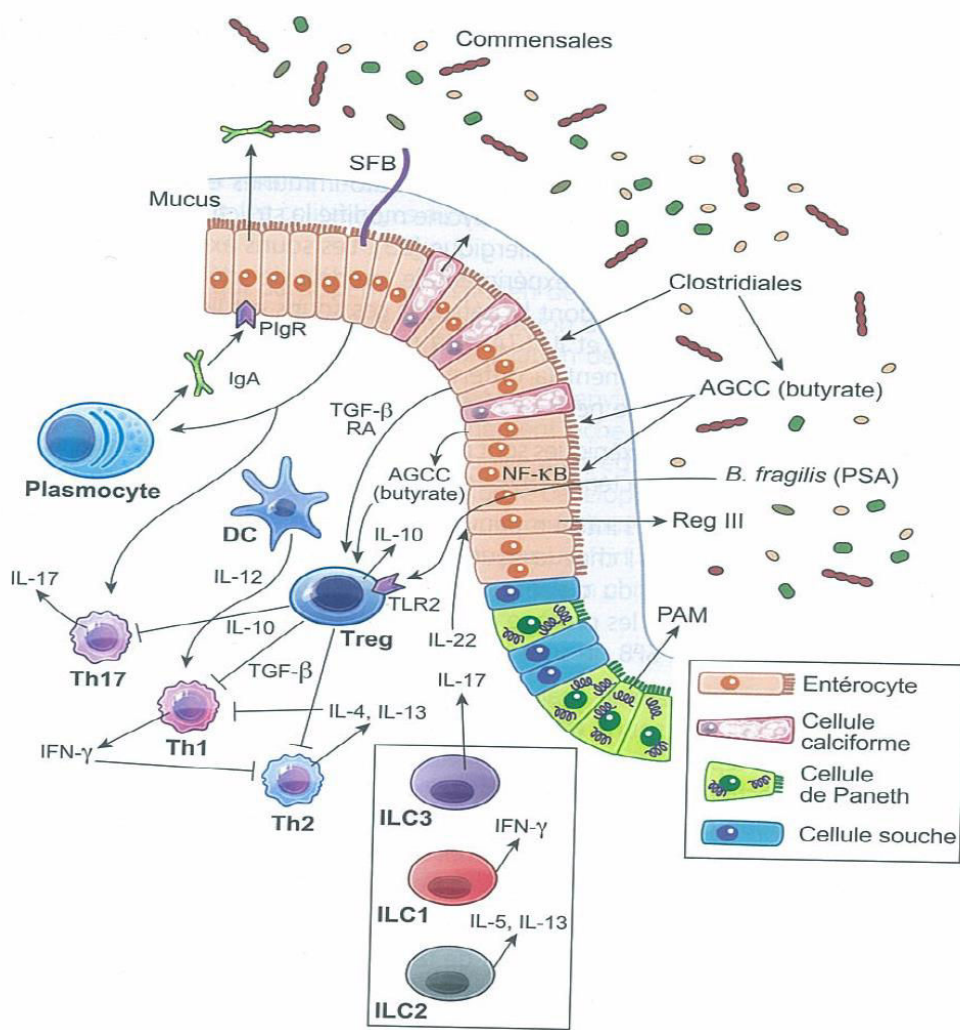
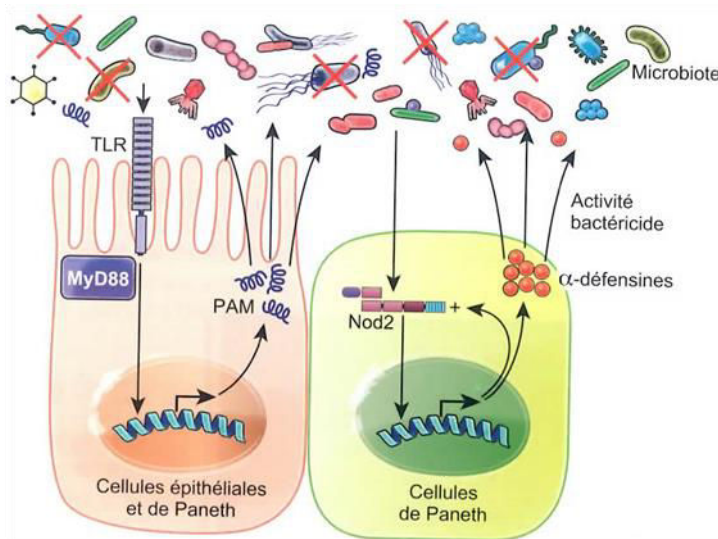


Figure 31. Dialogue entre microbiote intestinal et système immunitaire de l'hôte. SFB : bactéries filamenteuses segmentées ; PlgR : polymeric Ig receptor ; AGCC : acides gras à chaîne courte ; PSA : polysaccharide capsulaire A ; PAM : peptide anti-microbien ; Ig : immunoglobuline ; TGF : transforming growth factor ; IL : interleukine ; DC : cellule dendritique ; Th : lymphocyte T helper ; IFN : interféron ; ILC : cellule lymphoïde innée ; Nf-κB : nuclear factor-kappa B ; RegIII : regenerating islet-derived genes III ; Treg : lymphocytes T régulateur. Issue de Lepage et al. (2017)



Les récepteurs TLR2 et TLR4 (*Toll-like receptor*) exprimés par les cellules épithéliales, caliciformes et de Paneth jouent un rôle majeur dans la reconnaissance du peptidoglycane (bactéries à Gram positive) et des LPS (bactéries à Gram négative) (fig.32). La stimulation du TLR4 par des bactéries du genre *Lactobacillus* maintient la production d'IL-10 (anti-inflammatoire) par les entérocytes, reprise par les macrophages et les cellules dendritiques de la *lamina propria*, permettant l'homéostasie intestinale et la tolérance immunitaire (Christensen et al., 2002; Hyun et al., 2015). Un autre mécanisme favorisant la tolérance de l'hôte envers les bactéries intestinales passe par la diminution de la voie NF- κ B pro-inflammatoire dans les cellules intestinales épithéliales (Tomas and Sansonetti, 2017). Des bactéries non pathogènes telles que celles appartenant au genre *Lactobacillus* sont capables de préserver la forme inactive du facteur de transcription eucaryote NF- κ B et de diminuer l'expression des chimiokines CXCL1-2 et CCL20 d'environ 50%, ou des cytokines IL-12, IL-6, TNF- α , toutes pro-inflammatoires (Christensen et al., 2002; Tien et al., 2006). *B. thetaiotaomicron* favorise quant à lui la translocation du facteur NF- κ B hors du noyau des cellules, réduisant la réponse pro-inflammatoire (Kelly et al., 2004).

Comme le mucus, la sécrétion intestinale de certains peptides anti-microbiens (PAMs) est constitutive, mais pour les plus importants elle est régulée par les bactéries en présence (Kobayashi et al., 2005; Cash et al., 2006), notamment par leur production d'AGCC (Schauber et al., 2003). L'activation des TLR des cellules épithéliales et des NLR (*NOD-like receptor*) des cellules de Paneth par des composés microbiens induit la sécrétion de PAMs dans la lumière intestinale (Kobayashi et al., 2005) (fig.32). La diminution de la sécrétion des PAMs est systématiquement associée à une altération de la composition du microbiote intestinale (Loonen et al., 2014). Les traitements antibiotiques par exemple, altèrent la composition du microbiote qui n'est plus capable de stimuler la production de mucus, de PAMs, ou d'activer une réponse immunitaire adaptée (Becattini et al., 2016), rendant l'hôte plus sensible aux infections pathogènes.

Selon le segment intestinal étudié, cette absence de microbiote génère des altérations immunitaires différentes. Par exemple, les souris axéniques présentent dans l'intestin grêle une diminution importante du nombre de lymphocytes Th1 et Th17, mais peu importante des Treg, tandis que ces derniers sont fortement diminués dans le côlon (Martin-Gallausiaux et al., 2017).

Une des voies possibles par laquelle le microbiote intestinal influence le système immunitaire local, est la production d'acides gras à chaîne courte (voir paragraphe 5.1 de cette partie). En effet, le butyrate produit par les bactéries diminuerait la production de cytokine pro-inflammatoires (fig.31), tandis que l'acétate serait essentiel pour le maintien de la tolérance immunitaire intestinale en jouant sur le recrutement des neutrophiles (Martin-Gallausiaux et al., 2017).

Le microbiote intestinal peut influencer sur le système immunitaire au niveau local, parfois de façon totalement indépendante du système immunitaire général de l'hôte. Par exemple, l'absence de microbiote diminue significativement le nombre de cellules dendritiques au niveau intestinal sans influencer leur densité au niveau du thymus (Williams et al., 2006). De façon similaire, certaines Clostridiales provoquent la différenciation des lymphocytes T en Treg spécifiquement au niveau intestinal et non au niveau du thymus (Atarashi et al., 2013) (fig.31).

5.2. Microbiote et système immunitaire général.

L'influence du microbiote intestinal sur le système immunitaire global reste moins étudiée qu'au niveau intestinal. Par l'utilisation de modèles murins axéniques, l'absence de microbiote intestinal, ou sa déplétion par un antibiotique à la naissance (la vancomycine), augmente les risques de développer des maladies associées à une altération du système immunitaires telles que l'asthme ou des allergies. Cependant, d'autres études ont également démontré que l'absence du microbiote intestinal pouvait à l'inverse réduire le risque pour l'hôte de développer d'autres maladies immunitaires comme l'encéphalomyélite auto-immune ou l'arthrite rhumatoïde. La présence de bactéries filamenteuses segmentées chez des souris NOD (*Non-Obese Diabetic*) ex-axéniques ou non, les « protège » contre le développement d'un diabète de type I, contrairement aux mêmes souris (axéniques ou non) dépourvues de ces bactéries particulières (Lepage et al., 2017). Ces bactéries favorisent la différenciation des lymphocytes T en Th-17 et la production d'IL-17 pro-inflammatoire au niveau périphérique et central (fig.31), indispensables pour le déclenchement de l'encéphalomyélite auto-immune murine utilisée couramment comme modèle de sclérose en plaque (Schnupf et al., 2015; Lepage et al., 2017).

Une des caractéristiques du diabète de type 2 et du syndrome métabolique est une inflammation dite « de bas grade » persistente, favorisée par la consommation d'un régime riche en graisses et le passage de composés microbiens (pro-inflammatoires) dans la circulation sanguine, autrement appelée endotoxémie (Everard et Cani, 2017). L'invalidation génétique du TLR-4 au niveau intestinal, récepteur principal du LPS bactérien, « protège » les rongeurs contre le développement de différentes pathologies métaboliques à la suite d'injections chroniques de LPS ou de la consommation d'un régime gras (Cani et al., 2007a).

Les travaux de Déchelotte, Fetissov et leurs équipes ont démontré chez le rat l'impact du microbiote intestinal sur la prise alimentaire, notamment *via* le système immunitaire (voir paragraphe 1.4 de la partie B de ce chapitre) (Breton et al., 2016b). La

protéine membranaire ClpB d'*Escherichia coli* K12 non pathogène peut être dégradée en différents peptides, dont un s'avère être un mimétique du neurotransmetteur anorexigène α -MSH (Tennoune et al., 2014; Dominique et al., 2019). Chez la souris, les anticorps produits suite à l'immunisation contre ClpB réagissent de façon croisée contre l' α -MSH (Tennoune et al., 2014). Chez l'Homme, des anticorps (IgG) dirigés contre l' α -MSH ont été identifiés dans l'hypothalamus de patients atteints d'anorexie ou de boulimie nerveuses (Fetissoff et al., 2002; Tennoune et al., 2014), et dont la concentration plasmatique est significativement corrélée à l'importance des troubles comportementaux (Fetissoff et al., 2005; Tennoune et al., 2014). Enfin, la concentration plasmatique de ClpB est significativement plus élevée chez les patients atteints de troubles du comportement alimentaire (Breton et al., 2016a). Chez le rat Wistar, la souche d'*Escherichia coli* K12 est naturellement présente dans le microbiote intestinal des femelles, mais pas chez des mâles. En outre, les concentrations plasmatiques d'IgG anti- α -MSH sont significativement plus élevées chez les femelles que les mâles. Chez les femelles, l'apport de cette souche spécifique induit une augmentation de la prise de poids, en association avec une augmentation du taux circulant et de l'affinité de l'IgG anti- α -MSH. Chez les mâles en revanche, l'apport de cette souche induit une diminution de la prise alimentaire et du gain de poids, en association avec l'augmentation du taux circulant d'IgM anti- α -MSH (Tennoune et al., 2015). Chez les femelles, la fixation de l'anticorps à l' α -MSH augmente drastiquement *in vitro* l'efficacité de transmission du signal de l' α -MSH lorsqu'elle se fixe sur son récepteur MC4R, contrairement aux IgG des mâles (Tennoune et al., 2015). L'ensemble de ces travaux chez le rongeur démontrent que le microbiote intestinal peut influencer le système immunitaire général de l'hôte, impactant son homéostasie énergétique (syndrome métabolique, diabète) et sa prise alimentaire. Ces données chez le rat sont à relier avec la participation du système immunitaire dans l'étiologie des troubles du comportement alimentaire chez l'Homme (Raevuori et al., 2014; Hommer et Swedo, 2017 ; Roubalová et al., 2019).

En effet, plusieurs cytokines et chimiokines ont été identifiées comme jouant un rôle dans la régulation de la prise alimentaire, notamment dans des modèles d'anorexies associée à un contexte infectieux. Ainsi, la voie NF- κ B, le TLR-2, le LPS, le récepteur à l'interféron de type I, l'interféron γ , l'IL-6 et/ou le TNF- α seraient liés à une réduction de la prise alimentaire au cours d'une infection virale ou bactérienne (Le Thuc et al., 2017). Les chimiokines peuvent également directement réduire la prise alimentaire, notamment CXCL4, CXCL8, CXCL10, CCL2, et CCL5, de façon plus ou moins durable (Plata-Salamán and Borkoski, 1994). Chez la souris, la consommation d'un régime riche en gras dans un modèle d'obésité par surnutrition, induit dès les premiers jours une augmentation de la chimiokine CXCL1 au niveau hypothalamique *via* le recrutement de la microglie chez les souris sensibles à l'obésité (*prone*), contrairement à celles qui ne l'étaient pas (*resistant*),

participant à la mise en place d'une inflammation bas grade hypothalamique et de la pathologie (Morari et al., 2014). Il est désormais bien connu que la consommation d'un tel régime est également associée à une modulation du microbiote intestinal dans les premiers jours. Contrairement à l'étude de Plata-Salamán et Borkoski, des travaux plus récents ont démontré que l'augmentation des taux circulants et hypothalamiques de la chimiokine CCL5 était associée à une inflammation de bas grade (périphérique et centrale) chez des rongeurs obèses (pour revue voir Le Thuc et al., 2017), également connus pour présenter une altération de la composition du microbiote intestinal. Dans ces travaux, CCL5 faciliterait l'activation du système mélanocortinergique, favorisant l'ingestion de calories et la prise de poids.

L'interaction entre microbiote intestinal et système immunitaire est donc une piste prometteuse dans un contexte de troubles du comportement alimentaire.

6. Influence de l'hôte sur la composition du microbiote intestinal

Si le microbiote intestinal influence le fonctionnement de nombreux systèmes chez l'hôte, sa composition est elle-même influencée par des facteurs associés à l'hôte, notamment son système immunitaire et sa génétique.

6.1 Influence du système immunitaire sur le microbiote intestinal

Tout comme le microbiote intestinal influence le système immunitaire, ce dernier influence également fortement la composition du microbiote. Le niveau de sécrétion constitutive (associé à la génétique de l'hôte) intestinale d'IgA limite de façon plus ou moins importante et non-spécifique la pénétration des bactéries dans la couche de mucus, influençant leur élimination par le péristaltisme et la formation de biofilms (Hasan and Yang, 2019). Le microbiote de souris déficientes en lymphocytes B producteurs d'IgA est dominé par les genres *Paracoccus* et *Lactococcus*, avec une diminution des Clostridiales (Shulzhenko et al., 2011). De la même façon, la sécrétion constitutive de PAMs contrôle la composition du microbiote et sa ségrégation spatiale entre lumière et muqueuse. Ces PAMs détruisent un très large spectre de micro-organismes (bactéries, virus, levures, champignons) de façon non-spécifique. Les espèces dominantes du microbiote sont capables de résister à de fortes concentrations de PAMs indiquant une spécialisation du microbiote à son hôte, contrairement aux bactéries provenant de l'environnement extérieur (Tomas and Sansonetti, 2017; Hasan and Yang, 2019).

Au niveau intestinal, la délétion de MyD88 (acteur clé de la voie de signalisation pro-inflammatoire NF- κ B), induit l'augmentation de l'abondance des bactéries du sous-groupe TM7 et la diminution des *Lactobacillus*. A ce jour, seuls le TLR2 et le TLR5 ont été identifiés comme jouant un rôle dans la composition du microbiote intestinal (Kellermayer et al., 2011; Caballero and Pamer, 2015). La délétion génétique ou la présence de mutations sur les gènes codant pour les récepteurs NOD (1 et 2) chez la souris sont également connues pour entraîner une altération de la composition du microbiote (Lepage et al., 2017). La production de cytokines par les lymphocytes innés (ILC1 à 3) de la muqueuse intestinale influence également la composition du microbiote (fig.31). Ainsi, la sécrétion d'IL-22 par les ILC3 est centrale dans la synthèse de nombreux PAMs (fig.31) et induit une fucosylation des cellules épithéliales, favorisant le développement de certaines bactéries commensales bénéfiques pour l'hôte (Lepage et al., 2017).

6.2 Influence de la génétique que le microbiote intestinal

De plus en plus d'études utilisant chez l'Homme des cohortes de jumeaux monozygotes et dizygotes, ou bien chez l'animal des mutations spécifiques de gènes impliqués dans le système immunitaire, ciblent le rôle de la génétique de l'hôte sur la composition du microbiote intestinal.

Chez l'enfant, le microbiote fécal de jumeaux monozygotes est similaire à 82%, tandis que chez de jumeaux dizygotes ne l'est qu'à 68%, en comparaison avec le microbiote d'enfants non apparentés, similaires à 45% (Stewart et al., 2005). Ces résultats sont retrouvés dans plusieurs travaux basés sur d'autres cohortes gémellaires (van de Merwe et al., 1983; Zoetendal et al., 2001). Cependant, cette similarité diminue progressivement avec l'âge, indiquant le rôle plus important de l'exposition à des facteurs environnementaux (Stewart et al., 2005). Dans une autre cohorte, les OTUs affiliées aux Clostridiales (Christensenellaceae, Ruminococcaceae et Lachnospiraceae) ont été identifiées comme ayant l'héritabilité la plus forte, contrairement aux Bacteroidaceae dont l'abondance relative était principalement déterminée par des facteurs environnementaux (Goodrich et al., 2014).

Cette influence de la génétique de l'hôte sur la composition du microbiote intestinal peut s'expliquer entre autres par la présence et le niveau d'expression de gènes impliqués dans le péristaltisme, la production de mucines, d'oligosaccharides fermentescibles, ou encore associés au système immunitaire (cytokines, PAMs, Ig, enzymes lytiques, ...) (Doré et al., 2017c). De plus, certains microARNs sont capables de passer les membranes bactériennes et réguler l'expression de certains gènes métaboliques et/ou associés à la

croissance. Ainsi, la présence de microARNs fécaux serait essentielle pour la maintenance d'un microbiote « sain » (Liu et al., 2016).

Les acides biliaires sont produits par l'hôte et utilisés par les bactéries, créant ainsi une boucle entéro-hépatique. Chez la souris adulte non consanguine consommant un régime riche en sucres et en gras, l'abondance relative de *Turicibacter sanguinis* est significativement corrélée à la génétique de l'hôte, notamment la présence ou non d'une mutation ponctuelle dans un gène codant pour un transporteur actif d'acides biliaires dans l'intestin grêle. Ainsi, les auteurs supposent que la présence de cette mutation altère la réabsorption de ces acides au niveau iléal, conduisant à une augmentation des concentrations lumineales en acides biliaires, empêchant le développement de *T. sanguinis* plus sensible aux concentrations élevées d'acides biliaires que d'autres bactéries commensales (*Lactobacillus reuteri*, *Escherichia coli*, *Bacteroides thetaiotaomicron*) (Kemis et al., 2019). De façon similaire, chez le veau non-sevré (3 mois d'âge), la composition du microbiote intestinal est significativement déterminée par la génétique de l'hôte, en particulier celle du père, notamment la présence ou non de mutations ponctuelles sur un ou plusieurs gènes codant pour les mucines intestinales. Ces mucines sont indispensables pour l'homéostasie intestinales et fournissent jusqu'à 50% des apports énergétiques des bactéries ayant les enzymes nécessaires à leur dégradation (Doré et al., 2017c). Cette étude démontre que la génétique module également de façon indirecte la composition du microbiote intestinal par des interactions entre bactéries. L'abondance relative de bactéries dégradant les mucines (*Clostridium*, *Akkermansia*, Rikenellaceae) est négativement et significativement corrélée avec l'abondance de bactéries dégradant les fibres alimentaire et productrices de butyrate (*Blautia*, *Faecalibacterium*, *Coprococcus*), et positivement corrélée avec la présence d'un pathogène opportuniste (*Campylobacter*) (Fan et al., 2020). Cet impact indirect de la génétique sur la composition du microbiote intestinal par la modulation de chaînes trophiques entre bactéries est également identifié dans l'étude de Goodrich et al. (2014) chez l'Homme, où les Christensenellaceae (bactéries les plus « héritables ») forment un réseau de cooccurrence avec d'autres bactéries et des archaé méthanogènes.

L'ensemble de ces résultats indique qu'il est important de tenir compte des particularités génétiques de l'hôte au cours d'étude ciblant des interactions hôte-microbiote, notamment celles relatives au système immunitaire et à l'environnement intestinal.

B) Influence du microbiote intestinal sur le comportement et le fonctionnement neuronal de l'hôte

1. Le microbiote intestinal influence le comportement de l'hôte

De plus en plus de travaux ont démontré la présence d'une communication bidirectionnelle entre le microbiote intestinal et le système nerveux central par l'intermédiaire de nombreuses voies différentes (directes ou indirectes). Cette communication est désormais reconnue comme prenant part à la régulation des fonctions digestives et des comportements complexes de l'hôte comme la sociabilité, la réponse au stress, l'apprentissage et la mémorisation ou encore la prise alimentaire (Lam et al., 2017; Iannone et al., 2019).

1.1. Comportement social

Chez le rat Fischer mâle adulte, l'absence de microbiote intestinal diminue la curiosité sociale face à un congénère inconnu durant les premières minutes de contact, indiquant un stress initial important face à la nouveauté sociale (Crumevolle-Arias et al., 2014). A l'inverse, chez les souris Swiss-Webster mâles adultes axéniques, la sociabilité est exacerbée (Arentsen et al., 2015), indiquant que l'influence du microbiote sur le comportement social est modulée selon l'espèce et donc la génétique de l'hôte. A l'inverse des mâles adultes, les mâles adolescents (55-60 jours) axéniques de cette même lignée ont un comportement social déficient avec une augmentation de l'évitement des congénères, en particulier si ceux-ci sont inconnus (Desbonnet et al., 2014). Ces résultats indiquent qu'outre la génétique, l'âge de l'animal module l'influence du microbiote sur le comportement de l'hôte. La colonisation du tractus digestif de ces souris mâles au moment du sevrage permet de corriger les déficits comportementaux mais pas l'évitement de la nouveauté sociale (Desbonnet et al., 2014). Ceci indique la présence d'une fenêtre temporelle critique durant laquelle le microbiote peut influencer certaines composantes du comportement de l'hôte. Une autre étude chez la souris a mis en évidence la transférabilité des altérations du comportement social et du fonctionnement neuronal *via* le microbiote intestinal, selon le fond génétique (Gacias et al., 2016). Un stress chronique chez des souris NOD (*non obese diabetic*) conventionnelles induit un évitement social qui n'est pas observé chez les souris C57Bl/6 conventionnelles pourtant soumises au même stress. Cet évitement social induit chez les NOD est inexistant lorsqu'elles sont déplétées en microbiote intestinal suite à un traitement antibiotique, confirmant l'influence du microbiote sur le comportement de l'hôte. Le transfert du microbiote des souris NOD stressées, comprenant notamment des Clostridiales, *Lachnospiraceae* et *Ruminococcaceae*, aux souris C57Bl/6

déplétées en microbiote intestinal suffit à induire chez celles-ci un évitement social, indiquant une transférabilité du comportement *via* le microbiote quel que soit le fond génétique. Si, dans cette étude, le comportement social est influencé par le microbiote intestinal quelle que soit la génétique de l'hôte, il n'en est pas de même pour les fonctions neuronales. En effet, chez les souris NOD, la déplétion du microbiote induit une augmentation de la transcription d'un ensemble de gènes permettant la myélinisation des axones dans le CPF, tandis que les niveaux d'expression de ces gènes sont identiques chez les C57Bl/6 avec ou sans microbiote, indiquant ici la prévalence du fond génétique sur le microbiote intestinal (Gacias et al., 2016).

Chez l'Homme, les troubles autistiques sont caractérisés par des altérations du comportement social et de la communication, associés dans plus de la moitié des cas à des dysfonctions du tractus digestif (Holingue et al., 2018) et une altération de la composition du microbiote intestinal (Adams et al., 2011; Krajmalnik-Brown et al., 2015; Vuong and Hsiao, 2017). Ce phénotype est associé à un état inflammatoire (Rose et al., 2018) et à une augmentation de la perméabilité intestinale (de Magistris et al., 2010). Certains métabolites bactériens issus de la fermentation des protéines tels que les AGCC ramifiés et l'ammoniaque sont en concentration plus élevée chez les enfants atteints d'autisme, suggérant l'influence de la composition et/ou de l'activité du microbiote intestinal dans cette pathologie (Wang et al., 2012).

1.2. Anxiété, stress et locomotion

Les comportements associés à l'anxiété et au stress en association avec la locomotion sont les plus étudiés dans l'interaction entre le microbiote et l'hôte. Chez les rongeurs, l'absence de microbiote intestinal est corrélée à une diminution des signes d'anxiété (Heijtz et al., 2011; Neufeld et al., 2011; Clarke et al., 2013), ou au contraire à une augmentation (Sudo et al., 2004; Nishino et al., 2013; Crumeyrolle-Arias et al., 2014). De la même façon, les études présentent des résultats contradictoires concernant la locomotion et le comportement exploratoire des animaux axéniques. Cette grande diversité dans les résultats pourrait en partie être expliquée par le choix du modèle animal, notamment l'espèce, la lignée et le sexe des animaux étudiés (tableau 7). En effet, la génétique influence les comportements d'anxiété mesurés dans un même dispositif (Griebel et al., 2000; Michalikova et al., 2010; O'Mahony et al., 2010).

Tableau 8. Exemple de variations des comportements d'anxiété et d'exploration des animaux axéniques comparés aux conventionnels. Les réponses comportementales listées dans ce tableau sont celles des axéniques.

Espèce	Souche	Sexe	Anxiété	Locomotion	Référence
Rat	F344	Mâles	plus anxieux	/	Crumeyroli-Arias et al. (2014)
Souris	Swiss Webster	Mâles et femelles	moins anxieux	/	Clarke et al. 2013
Souris	Swiss Webster	Femelles	moins anxieuses	Pas de différence	Neufeld et al. (2011)
Souris	Swiss Webster	Mâles	moins anxieux	Plus	Campos et al. (2016a)
Souris	BALB/c	Mâles	plus anxieux	Plus	Nishino et al. (2013)
Souris	BALB/c	Mâles	plus anxieux	/	Sudo et al. (2004a)
Souris	NMRI	Mâles	moins anxieux	Plus	Heijtz et al. (2011a)

Chez les lignées murines sensibles au stress, la présence d'un microbiote intestinal diminue les signes d'anxiété. En revanche, chez les lignées peu anxieuses, la présence du microbiote augmente la sensibilité au stress. Ces différences pourraient en partie être expliquées par le fait que la composition du microbiote intestinal varie selon la lignée génétique. Par exemple, les souris BALB/c (anxieuses) ont un microbiote différent de celui des NIH Swiss (peu anxieuses) (Bercik et al., 2011). Lorsque l'on intervertit les microbiotes de ces deux lignées chez des souris adultes, les comportements d'anxiété s'invertissent de la même façon (Bercik et al., 2011).

Les conclusions de ces études (tableau 7) restent cependant discutables car les tests utilisés pour mesurer la réponse au stress sont différents. Deux études ont ainsi rapporté que des souris d'un même fond génétique pouvaient être considérées comme anxieuses au cours d'un test comportemental (*Dark/Light box* associé au fond NZB ; *Elevated Plus Maze* associé aux fonds Balb/c et C57Bl/6) alors que dans un autre dispositif elles ne le sont pas (*Elevated Plus Maze* associé au fond NZB ; *Dark/Light box* associé aux fonds Balb/c et C57Bl/6) (Griebel et al., 2000; Clément et al., 2009).

L'apport d'une souche **probiotique** de *Lactobacillus helveticus* à des rats stressés de façon chronique améliore leur comportement exploratoire et réduit l'activité corticotrope (Liang et al, 2015). Chez l'Homme, de telles études sont peu nombreuses. Cependant, l'apport d'une souche de *Lactobacillus helveticus* combinée à une souche de *Bifidobacterium longum* diminue le score d'anxiété à la fois des volontaires sains et des rats testés en parallèle (Messaoudi et al 2011). Les effets de *L. helveticus* sur les comportements d'anxiété varient chez la souris selon le régime alimentaire et le génotype de l'hôte (Ohland et al., 2013).

Un traitement **antibiotique** appliqué à des souris conventionnelles augmente leur comportement exploratoire (Desbonnet et al. 2015). Outre les agents bactériens,

L'utilisation d'agents non bactériens modifie aussi les comportements d'anxiété. L'ingestion chronique d'un cocktail d'antibiotiques modifie le microbiote intestinal et est corrélé à une réduction de l'anxiété chez la souris adulte Balb/c mesurée par le test de Dark/Light box (Bercik et al., 2011). Cet effet est transitoire puisque deux semaines après l'arrêt des antibiotiques le microbiote est restauré et le niveau d'anxiété est similaire aux valeurs contrôles obtenues dans le même test (Bercik et al., 2011). De plus, ce même cocktail d'antibiotiques n'a pas d'impact sur le comportement en absence de microbiote (Bercik et al., 2011), confortant le rôle de celui-ci, confirmant le rôle du microbiote dans la modulation des comportements associés à l'anxiété.

Enfin, la colonisation du tractus digestif des animaux **axéniques** à un jeune âge, mais pas à l'âge adulte, standardise leur comportement exploratoire (Diaz Heijtz et al. 2011, Neufeld et al. 2011a). De la même façon, leur réponse exacerbée au stress est plus efficacement normalisée suite à une recolonisation à l'âge de 6 semaines qu'à 14 semaines (Sudo et al., 2004).

1.3. Cognition et apprentissage

Comparées aux souris conventionnelles, les souris axéniques présentent une altération dans les comportements liés à un apprentissage, par exemple la reconnaissance d'un nouvel objet (Gareau et al. 2011). Ces altérations apparaissent chez les conventionnelles suite à un traitement antibiotique, sans moduler leur mémoire spatiale (Frohlich et al. 2016, Möhle et al. 2016). Chez le rat en revanche, la déplétion du microbiote intestinal par des antibiotiques induit une altération de la mémoire spatiale (Wang et al. 2015), suggérant là aussi l'influence de l'espèce, de la tâche à effectuer et de la nature de la modulation du microbiote. Dans cette dernière étude, l'ajout d'une souche de *Lactobacillus fermentum* est suffisant pour restaurer les capacités mnésiques spatiales. De façon similaire, l'ajout d'une souche de *Bifidobacterium longum* chez la souris BALB/c améliore l'apprentissage et les processus mnésiques spatiaux, de court et de long termes (Savignac et al 2015). A l'inverse, l'apport du pathogène opportuniste *Desulfovibrio vulgaris*, associé à une mort des cellules épithéliales intestinales et à une inflammation chronique (Loubinoux et al., 2002), altère les comportements nécessitant un apprentissage et la mémoire dès lors que ce pathogène est apporté sous sa forme viable, mais pas sous sa forme dégradée (Ritz et al. 2016).

Des différences dans les réponses comportementales à un même stimulus ont été identifiées entre mâles et femelles. Une légère restriction alimentaire chez le rat augmente la locomotion et diminue les performances d'apprentissage et de mémoire chez les femelles. A l'inverse, la locomotion des mâles n'est pas impactée et ils sont plus performants lors des tests (Rajab et al, 2014).

1.4. Comportement alimentaire

Contrairement aux autres comportements évoqués ci-dessus, le comportement alimentaire a fait l'objet de peu d'études à ce jour. Les travaux de Déchelotte et Fetissov ont démontré chez le rat l'impact du microbiote intestinal sur la prise alimentaire et les voies mécanistiques empruntées (Fetissov et Déchelotte, 2011) (fig.33). La protéine membranaire ClpB (*caseinolytic protease B*) d'*Escherichia coli* dosée dans le plasma est corrélée positivement à l'abondance de cette espèce dans leur microbiote intestinal (Breton et al., 2016a). Cette abondance augmente avec l'arrivée de nutriments tels que des protéines. *In vitro*, ClpB a été identifiée comme facteur bactérien stimulant la sécrétion de GLP-1 et de PYY par les CEE (Breton et al., 2016a). *In vitro*, cette protéine augmente de façon directe l'activité des neurones ARC^{POMC/CART} (+50%) (Breton et al., 2016a).

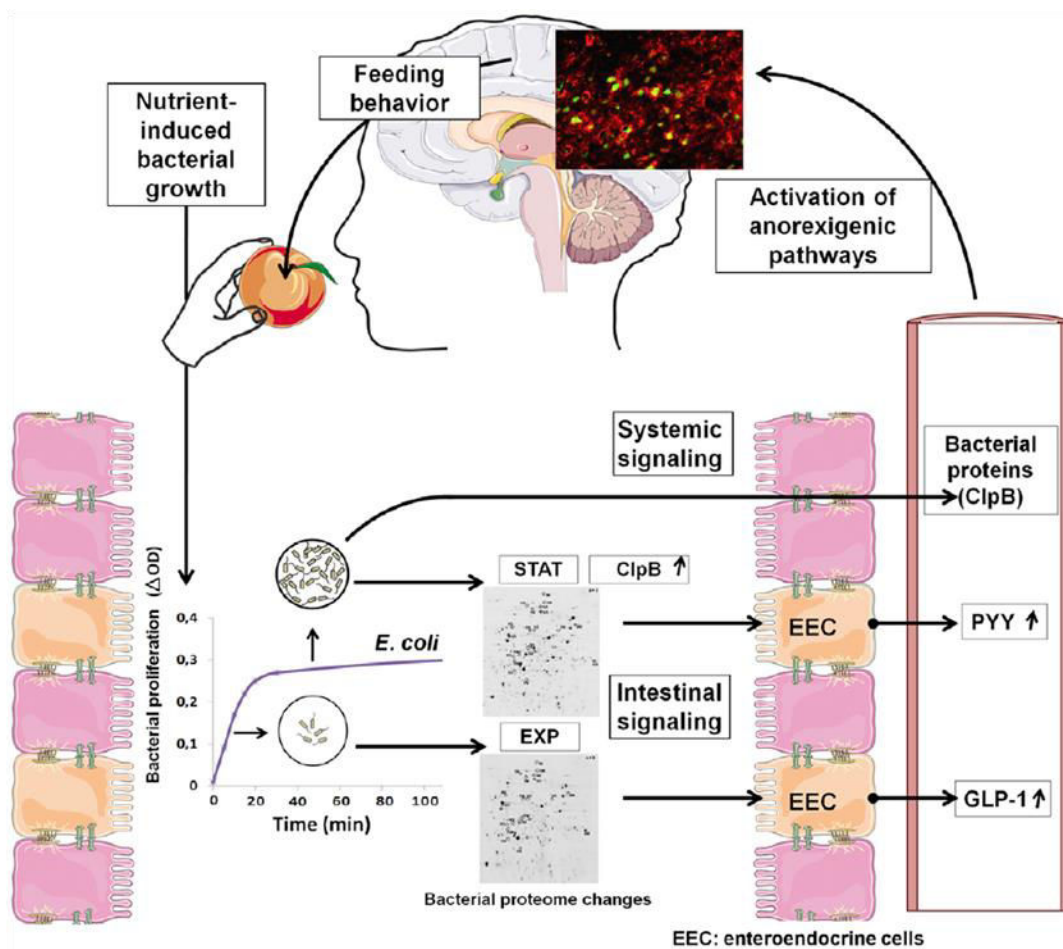


Figure 33. Voies mécanistiques par lesquelles la dynamique de la population intestinale d'*Escherichia coli* module le comportement alimentaire de l'hôte. Il existe une voie directe par laquelle la protéine membranaire bactérienne entre en contact avec les récepteurs MCR de l'ARC, et une voie indirecte dans laquelle la sécrétion de peptides intestinaux satiétogènes par les CEE est stimulée. Ces deux voies sont humorales. OD : densité optique ; STAT : phase stationnaire ; EXP : phase exponentielle de croissance bactérienne ; ClpB : caseinolytic protease B. Issue de Breton et al. (2016a)

L'injection intra-péritonéale ponctuelle de cette protéine à des rats réduit leur prise alimentaire et active non seulement les neurones ARC^{POMC/CART}, mais aussi les neurones du VMN et du PBN^{CGRP} (Breton et al., 2016a). Chez la souris, l'injection intra-péritonéale chronique de ClpB réduit également la taille des repas, mais tend à augmenter leur nombre, ce qui ne module pas la quantité totale de nourriture consommée par rapport aux souris non injectées (Breton et al., 2016a).

Un autre effet anorexigène de la protéine bactérienne ClpB serait médié par l'immunité croisée avec un peptide issu de sa dégradation et mimétique de l' α -MSH de l'hôte (Oldstone, 2005; Fetissoff et al., 2008; Tennoune et al., 2014; Dominique et al., 2019). Ces études dans des modèles de rongeurs sont confirmées chez l'Homme. La concentration plasmatique de ClpB est significativement plus élevée chez les patients atteints de troubles du comportement alimentaire (Breton et al., 2016b). De plus, la concentration d'IgG anti- α -MSH dans le plasma et l'hypothalamus de patients atteints d'anorexie ou de boulimie nerveuses (Fetissoff et al., 2002; Tennoune et al., 2014) est significativement corrélée à l'importance des troubles comportementaux (Fetissoff et al., 2005; Tennoune et al., 2014).

Chez le rat, l'abondance d'*Escherichia coli*, les concentrations plasmatiques d'IgG anti- α -MSH, ainsi que l'impact de ClpB sur le poids et la prise alimentaire sont différents entre mâles et femelles chez qui l'effet anorexigène du couple IgG/ α -MSH est significativement plus important que chez les mâles (Tennoune et al., 2015). Ces résultats confirment l'existence de différences de composition de microbiote intestinal entre mâles et femelles et des réponses immunitaires qui y sont associées. Ces données chez le rat sont à relier avec la participation du système immunitaire dans l'étiologie des troubles du comportement alimentaire (Raevuori et al., 2014; Hommer et Swedo, 2017) chez l'Homme et la prévalence plus élevée de ces troubles chez les femmes (Kinasz et al., 2016; Di Girolamo et al., 2017).

Une autre étude récente chez l'Homme *via* se basant sur la construction d'un modèle statistique prenant en compte l'âge, le sexe, l'indice de masse corporelle des individus, leur consommation de fibres/1000 kcal et l'heure de la journée, a identifié plusieurs taxa particuliers du microbiote intestinal corrélés avec le comportement alimentaire (Kaczmarek et al., 2017) (tableau 8).

Tableau 9. Items relatifs au comportement alimentaire modulés par le microbiote intestinal. Le pourcentage de variation correspond à l'écart observé par rapport à la valeur prédite par le modèle statistique si l'ensemble des autres paramètres reste constant. D'après Kaczmarek et al. (2017)

	Diminution du comportement		Augmentation du comportement	
	Taxon	Variation (%)	Taxon	Variation (%)
Fréquence des repas	<i>Veillonella</i> <i>Egghertella</i> <i>Dialister</i> <i>Anaerotruncus</i> <i>Actinomyces</i> Ruminococaceae	- 60,0 - 49,5 - 35,5 - 34,9 - 33,2 - 8,3	aucun	aucune
Quantité de calories ingérée avant 14h00	<i>Veillonella</i> <i>Haemophilus</i> <i>Turicibacter</i> <i>Lachnospira</i> <i>Coproccocus</i>	- 8,6 - 6,7 - 5,7 - 4,0 - 3,0	<i>Megamonas</i> <i>Oscillospira</i> Erysipelotrichaceae <i>Holdemia</i> <i>Coprobacillus</i>	+ 6,0 + 0,6 + 0,6 + 0,2 + 0,2
Durée du jeûne nocturne	<i>Turicibacter</i> <i>Holdemia</i>	- 62,9 - 24,0	Propionate <i>Coprococcus</i>	+ 7,5 + 2,0

Les bactéries appartenant au genre *Veillonella* semblent associées à une diminution des apports caloriques (repas moins fréquents et apports caloriques moins élevés). L'effet satiétogène du propionate identifié dans plusieurs études est vérifié ici puisque sa concentration et les bactéries du genre *Coprococcus*, productrices de propionate, augmentent la durée du jeûne nocturne. A l'inverse, le genre *Holdemia* semble associé à un effet orexigène, puisqu'elle est associée à un jeûne nocturne plus court et une quantité de calories ingérée supérieure. Cependant, il reste à démontrer sur le long terme qu'une variation statistiquement significative de l'ordre de 0.2% dans la quantité de calories ingérées le matin, a un sens au plan physiologique.

L'ensemble de ces résultats indique que le microbiote intestinal est capable d'influencer divers comportements de l'hôte, comme le comportement social, d'anxiété ou encore alimentaire. Cependant, les effets observés sont dépendants du fond génétique, du sexe des modèles animaux, et du protocole employé. Très peu d'études ont à ce jour identifié un lien entre microbiote intestinal et comportement alimentaire. L'influence du microbiote sur ce comportement passerait en partie par un effet direct au niveau cérébral de composés membranaires, ou indirect par une stimulation des CEE ou du système immunitaire. Cette influence pourrait également se produire durant une période temporelle critique de neurodéveloppement et ainsi induire des conséquences (positives ou négatives) à long terme sur le comportement de l'hôte.

2. Le microbiote intestinal influence la structure et le fonctionnement cérébral de l'hôte

L'utilisation d'animaux axéniques a permis de mettre en évidence le rôle du microbiote intestinal dans la morphologie de certaines zones du cerveau et des neurones qui en font partie (van de Wouw et al., 2017; Vuong et al., 2017) tels que l'hypothalamus, l'amygdale et le tronc cérébral impliqués dans la régulation du comportement alimentaire, mais également dans la régulation de l'expression de certains gènes (Schwartz et al., 2000; Schwartz, 2006; Heijtz et al., 2011; Erny et al., 2015; Kanoski and Grill, 2015). Ces altérations de la structure et du fonctionnement cérébral sont résumées dans la figure 34.

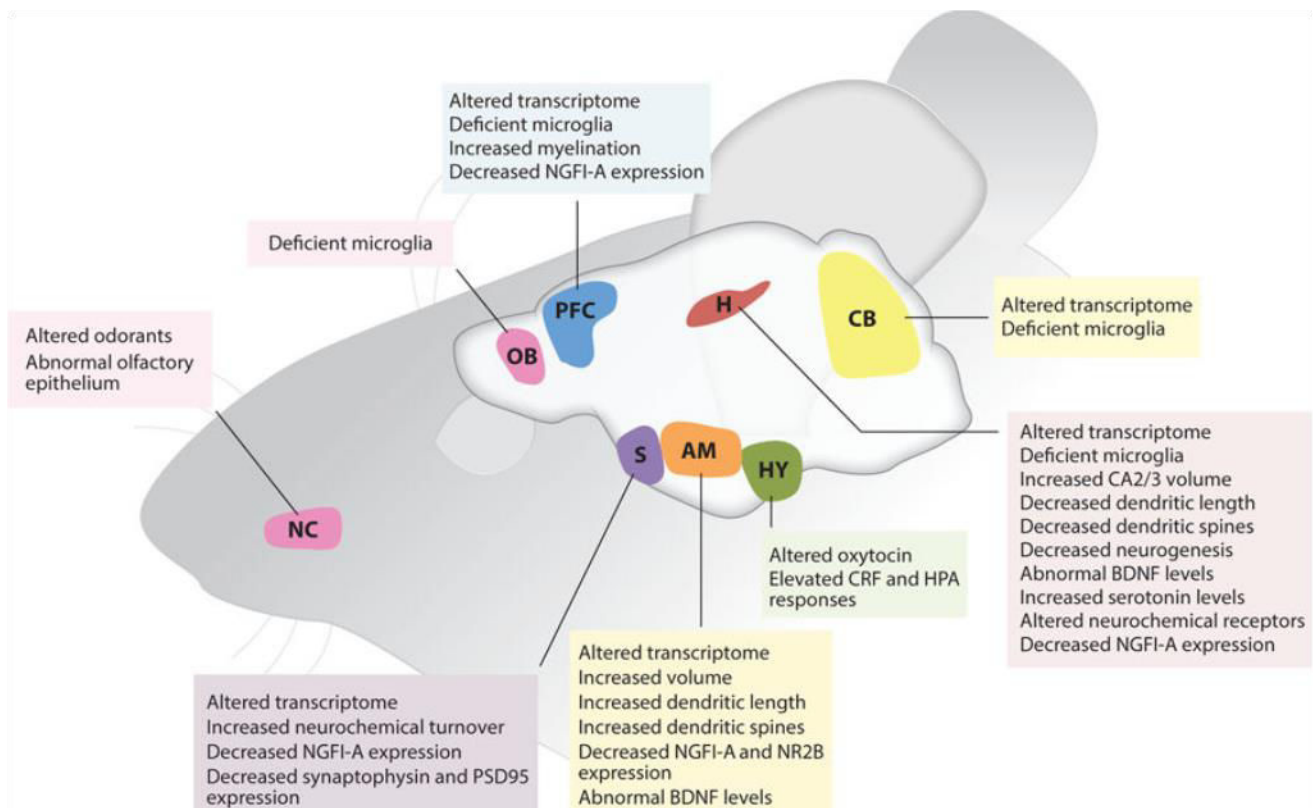


Figure 34. Résumé des anomalies cérébrales identifiées chez les rongeurs axéniques et donc imputées au microbiote intestinal. NC : cavité nasale ; OB : bulbe olfactif ; PFC : cortex préfrontal ; S : striatum (NAc) ; AM : amygdale ; HY : hypothalamus ; H : hippocampe ; CB : cervelet ; NGFI-A : nerve growth factor-inducible protein A ; NR2B : N-methyl-D-aspartate receptor subtype 2B ; PSD95 : postsynaptic density protein 95. Issue de Vuong et al. (2017)

2.1. Le microbiote influe sur le fonctionnement de l'hypothalamus

En présence d'un microbiote l'expression de nombreux gènes codant pour des neurotransmetteurs est altérée. Chez la souris, Schéle chiffre à respectivement -34% et -35% la diminution de l'expression des gènes orexigènes *npy* et *agrp*, et à +46% et +19%

l'augmentation de l'expression des gènes anorexigènes *pomc* et *cart* (Schéle et al., 2013). L'expression de *bdnf*, anorexigène, est modulé dans les troubles du comportement alimentaire (Rosas-Vargas et al., 2011; Rios, 2013), et diminuée de -23% en comparaison à l'expression chez des souris axéniques (Schéle et al., 2013).

Les rats axéniques ont également une diminution significative de l'histamine au niveau cérébral (Hegstrand and Hine, 1986), neurotransmetteur ayant des effets anorexigènes *via* l'inhibition des neurones du PVN (Kurose et Terashima, 1999). Dans ce noyau, il a été démontré que le nombre de neurones produisant de l'ocytocine, un neurotransmetteur impliqué dans la régulation de la prise alimentaire et du métabolisme général (pour revue voir Lawson, 2017), pouvait être augmenté à court terme par l'apport d'une souche de *Lactobacillus reuteri* durant 4 semaines à partir du sevrage à des animaux conventionnels (Buffington et al., 2016). L'étude du métabolome cérébral de souris axéniques a permis de quantifier qu'environ 20% des métabolites étaient significativement modulés par la présence du microbiote intestinal (Matsumoto et al., 2013). De plus, l'apport d'une souche de *Bifidobacterium infantis* à des rongeurs axéniques altère des métabolites particuliers impliqués dans la voie de signalisation de la sérotonine connue pour son rôle dans le comportement alimentaire et le circuit de la récompense (Desbonnet et al., 2008; Voigt and Fink, 2015). L'ensemble de ces résultats indique que la présence d'un microbiote diminue la prise alimentaire de l'hôte. Cependant, la sur-expression (+33%) du gène *socs3* dans l'hypothalamus de rat adultes axéniques (Schéle et al., 2013) suggère une augmentation de la résistance à la leptine et à l'insuline, délétère pour le métabolisme de l'hôte.

Chez l'Homme, la richesse en taxa du microbiote intestinal serait corrélée à la densité de neurones dans l'hypothalamus et le noyau caudé (en contact avec le noyau accumbens), le diamètre de ces axones ou encore leur degré de myélinisation (Fernandez-Real et al., 2015).

2.2. Le microbiote influe sur le fonctionnement de l'hippocampe

De façon similaire aux altérations identifiées précédemment, le microbiote intestinal influe également sur l'expression du gène *bdnf* dans l'hippocampe, mais les résultats de ces études restent contradictoires (Sudo et al., 2004; Heijtz et al., 2011; Neufeld et al., 2011; Clarke et al., 2013). Le niveau de transcrits du BDNF est diminué chez les souris axéniques mâles (Heijtz et al., 2011a) ou après un traitement antibiotique chez des souris conventionnelles (Fröhlich et al., 2016). Ce lien entre absence/appauvrissement du microbiote et diminution de l'expression du BDNF est uniquement trouvé chez les mâles (Clarke et al., 2013). *A contrario*, Bercik et al. ont mesuré une augmentation de cette

expression chez les souris mâles axéniques (Bercik et al., 2011). Une des explications pourrait être le fond génétique des souris, puisque Clarke et al. ont utilisé des souris Swiss Webster, tandis que Bercik et al. ont utilisé des Balb/c. Lorsque le microbiote intestinal est modifié par un traitement antibiotique ou l'apport de fibres alimentaires non digestibles par l'hôte, le ratio Firmicutes/Bacteroides augmente parallèlement à la quantité de BDNF dans l'hippocampe (Bercik et al., 2011; Savignac et al., 2013). Le métabolisme de la sérotonine est également altéré dans l'hippocampe des animaux axéniques (Neufeld et al., 2011a; Clarke et al., 2013). Le microbiote intestinal influence aussi l'expression de certains récepteurs à la dopamine et au glutamate (Heijtz et al., 2011a; Savignac et al., 2013). En l'absence de microbiote, la neurogenèse à l'âge adulte est diminuée dans l'hippocampe (Möhle et al., 2016) et sa structure même est altérée, associée à une dysmorphie des neurones (Luczynski et al., 2016).

2.3. Le microbiote influe sur le fonctionnement de l'amygdale

L'amygdale est connue pour jouer un rôle positif dans la régulation de la prise alimentaire par le circuit de la récompense, notamment en envoyant un signal de renforcement positif (Douglass et al., 2017). Chez la souris axénique, le microbiote influence le volume de cette structure et la morphologie des neurones. Il impacte également la transcription d'un ensemble de gènes régulant les synapses (positivement), les projections neuronales et la réponse immunitaire (négativement), ainsi que le *bdnf* (positivement ou négativement) (pour revue, voir Vuong et al., 2017).

2.4. Le microbiote influe sur le fonctionnement du tronc cérébral

L'absence de microbiote diminue la quantité de monoamines telles que la dopamine et la noradrénaline, de même que l'acide 5-hydroxyindoleacétique, un des métabolites du métabolisme de la sérotonine, particulièrement dans le tronc cérébral (Nishino et al., 2013). La présence du microbiote diminue de -54% l'expression des gènes *gcg* (codant pour le glucagon et le GLP-1) et *bdnf* (Schéle et al., 2013) au niveau central, qui ont tous deux des effets anorexigènes. L'expression de certains récepteurs au neurotransmetteur GABA est également modulée suite à une supplémentation en une souche de *Lactobacillus rhamnosus* (Bravo et al., 2011). Contrairement aux modulations provoquées par le microbiote intestinal dans l'hypothalamus, celles relevées dans le tronc cérébral seraient potentiellement en faveur d'une augmentation de la prise alimentaire.

2.5. Le microbiote influe sur le fonctionnement d'autres populations cellulaires cérébrales

Le cortex préfrontal fait partie du circuit cérébral régulant la récompense, l'addiction ou encore l'humeur. Chez les animaux axéniques, les neurones de cette zone cérébrale sont hypermyélinisés (Hoban et al., 2016). Une altération de la myélinisation de ces neurones, perturbe le comportement des animaux, notamment leurs interactions sociales (Bonnefil et al., 2019). Ce lien entre altération de la myélinisation des neurones et microbiote semble être différent chez les mâles et les femelles. Dans un modèle de démyélinisation auto-immune (sclérose en plaques) chez la souris, les mâles sont protégés tandis que les femelles déclenchent spontanément cette pathologie (Miller et al., 2015). En l'absence de microbiote, celles-ci restent en bonne santé. L'explication avancée par les auteurs reposerait sur la différence de composition du microbiote intestinal entre mâles et femelles. En effet, les mâles ont une abondance plus élevée en *Akkermansia muciniphila*, tandis que les bactéries des genres *Bacteroides* et *Parabacteroides* sont retrouvées de façon plus abondante chez les femelles (Miller et al., 2015).

En l'absence de microbiote, la structure de la microglie, ensemble des cellules immunitaires au niveau central, est altérée avec une morphologie de type immature et une densité de cellules microgliales plus importante (Erny et al., 2015). Ces cellules jouent un rôle important dans le neurodéveloppement et à l'âge adulte dans la prolifération des neurones et le status inflammatoire central. En plus de la structure, le fonctionnement est également perturbé avec une sous-expression de nombreux gènes dont ceux responsables de l'activation de ces cellules, mais aussi ceux en lien avec les voies de production des cytokines et chimiokines, aboutissant à une réponse immunitaire très réduite (Erny et al., 2015).

Des travaux chez l'individu adulte montrent que le microbiote intestinal impacte la physiologie générale de l'hôte ainsi que son fonctionnement cérébral et son comportement (fig.35). Cependant, peu d'études existent à ce jour sur l'influence du microbiote intestinal sur le comportement alimentaire de l'hôte. La période péri-natale, avec la mise en place du microbiote intestinal conjointement à l'ontogenèse des structures cérébrales, est une période temporelle critique durant laquelle des facteurs environnementaux peuvent programmer la physiologie et le comportement du descendant.

Parmi ces facteurs, le métabolisme et l'état de santé de la mère comme la composition de ses microbiotes intestinal, vaginal et associé au lait, en lien avec le régime alimentaire et la génétique, ont été identifiés comme facteurs déterminants dans la mise en place du microbiote intestinal néonatal et le neurodéveloppement du descendant. D'autres facteurs nutritionnels comme les bactéries probiotiques ou les oligosides prébiotiques modulent également la composition du microbiote intestinal de l'adulte comme du nouveau-né (fig.36). Cependant, peu d'études permettent de définir précisément le rôle des microbiotes maternels dans le développement du descendant, sans facteurs confondants tels que la génétique, un régime alimentaire ou un métabolisme maternel différents.

Si les modèles de rongeurs sont généralement plus facile d'utilisation que la réalisation de travaux directement chez l'Homme, diverses difficultés techniques inhérentes à ces modèles font que peu ou prou de travaux ont porté sur le rôle et la caractérisation des microbiotes maternels intestinal, vaginal et associé au lait, au cours de la gestation et de la lactation, ainsi que sur les impacts de ces compositions sur la programmation du comportement alimentaire chez le rat.

Des pistes mécanistiques par lesquelles le microbiote intestinal programmerait le comportement alimentaire de l'hôte ou interagit avec lui à l'âge adulte commencent à être identifiées (fig.34). Toutefois, d'autres travaux sont nécessaires pour approfondir les connaissances à ce sujet. Par exemple, la modulation directe du neurodéveloppement par la composition du microbiote intestinal néonatale est de plus en plus étayée, tandis qu'une programmation de la composition du microbiote intestinal, si l'idée est souvent reprise, n'a jamais été clairement démontrée.

Enfin, il est important dans les travaux à venir d'étudier à la fois les descendants mâles et femelles, puisque de nombreuses différences dues au sexe ont pu être identifiées, notamment en regard de la composition du microbiote intestinal, de la réponse immunitaire, ou encore du comportement.

Ce travail de thèse, permettra d'apporter des éléments de réponse à ces nombreuses questions, en modulant la composition du microbiote intestinal de rats mâles et femelles en période néonatale, soit par l'apport direct de bactéries maternelles, soit par une supplémentation en prébiotiques, avant de caractériser leur comportement alimentaire et leur microbiote intestinal à l'âge adulte.

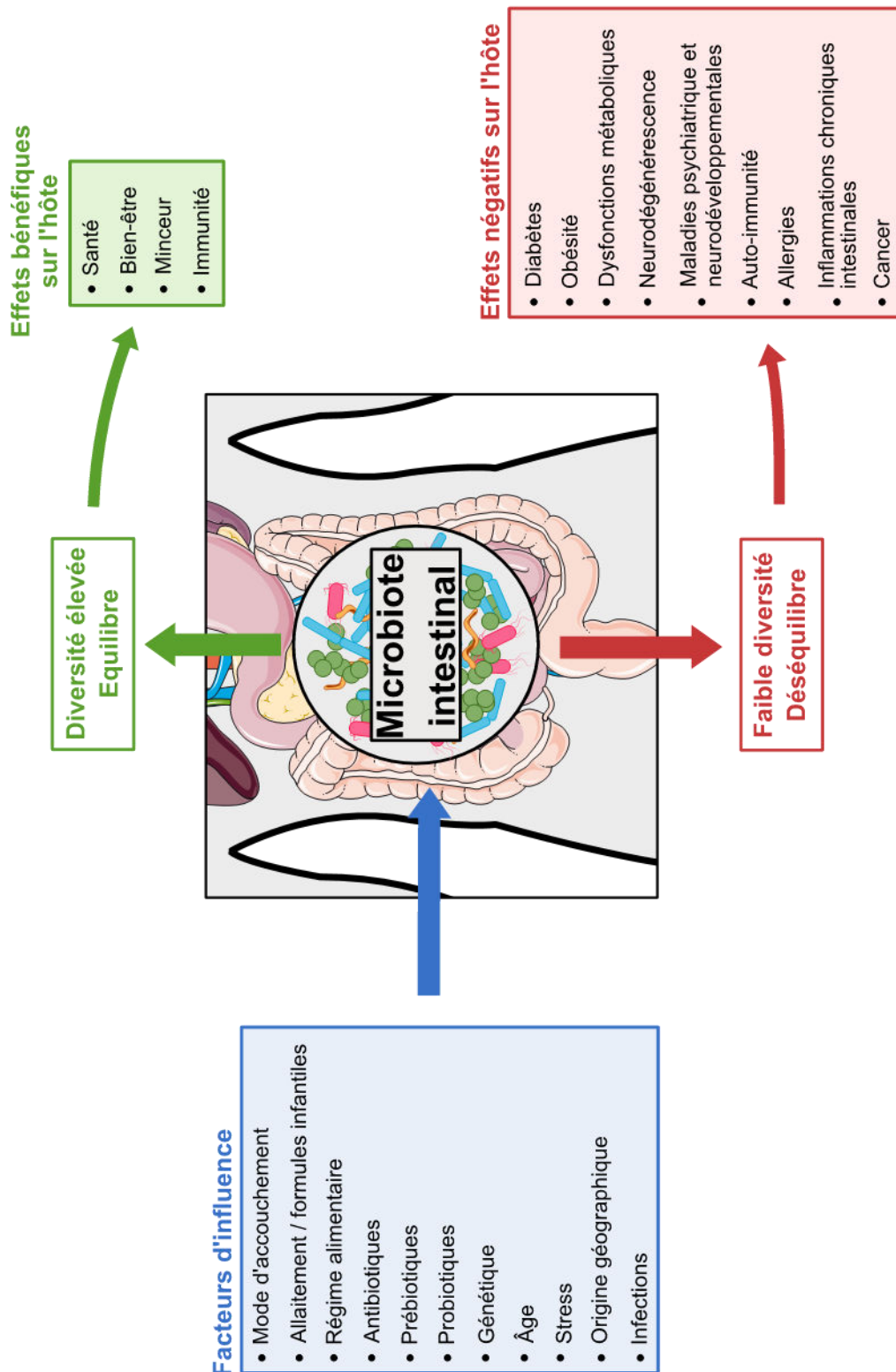


Figure 35. Facteurs modulant la composition du microbiote intestinal et les effets bénéfiques et délétères de cette composition sur l'hôte. D'après Doré et al. (2011)

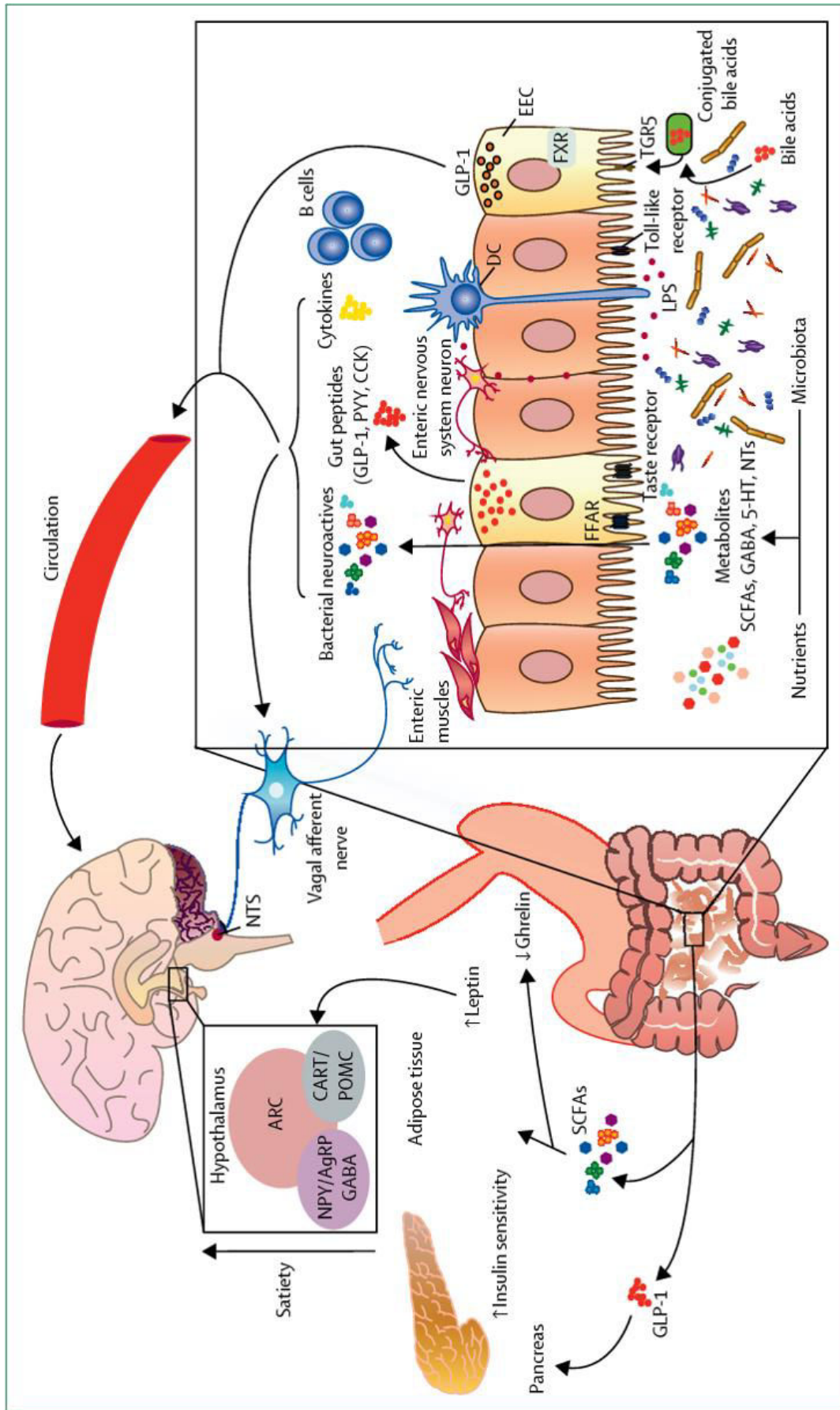


Figure 36. Représentation schématique de l'axe intestin-cerveau et des nombreuses voies qui le compose. SCFAs : AGCC ; AGCC ; 5-HT : sérotonine ; NTs : neurotransmetteurs ; B cells : lymphocytes B ; TGR5 et FXR : récepteurs aux acides biliaires ; EEC : cellule entéroendocrine ; DC : cellule dendritique ; FFAR : récepteurs GPR aux AGCC. Issue de Torres-fuentes et al. (2017)

Stratégie

L'hypothèse générale de ce travail de thèse est que la **modulation de la composition du microbiote intestinal en période néonatale induirait des modifications du comportement alimentaire à l'âge adulte chez le rat, via des altérations du fonctionnement des circuits cérébraux régulant la prise alimentaire.**

Pour tester la validité de cette hypothèse, nos **objectifs** ont donc été :

- de moduler le microbiote intestinal de façon précoce après la naissance des ratons
- de caractériser le comportement alimentaire de ces ratons à l'âge adulte
- de rechercher un lien avec des anomalies du développement cérébral

Pour ce faire, nous avons utilisé en parallèle deux approches différentes permettant de moduler la composition du microbiote intestinal.

A) La supplémentation en oligosides prébiotiques en période néonatale

Cette première partie de notre stratégie se base sur le fait que :

- le comportement alimentaire est programmable par la nutrition périnatale
- certains oligosides prébiotiques sont connus pour moduler le comportement alimentaire
- le microbiote intestinal module le comportement alimentaire
- le microbiote influence la production de peptides gastro-intestinaux par les CEE
- la production de peptides gastro-intestinaux par les CEE joue un rôle dans la régulation de la prise alimentaire

L'hypothèse de cette première étude est que **la modulation précoce du microbiote intestinal par des oligosides prébiotiques pourrait programmer le microbiote et le comportement alimentaire.**

Pour tester la validité de cette hypothèse, nos **objectifs** ont donc été :

- de moduler de façon précoce la composition du microbiote intestinal
- de caractériser le comportement alimentaire des descendants à l'âge adulte
- de rechercher des liens avec le fonctionnement des CEE à l'âge adulte

- de rechercher des pistes mécanistiques, dont la programmation des CEE et/ou du microbiote, et/ou encore le métabolisme de l'hôte

La stratégie mise en place a été :

- la supplémentation postnatale en différents oligosides prébiotiques présents dans les formules infantiles et connus pour moduler le microbiote intestinal et l'homéostasie énergétique.

B) L'apport direct dès la naissance de bactéries provenant de mères ayant des phénotypes métaboliques différents

Cette deuxième partie de notre stratégie se base sur le fait que :

- les microbiotes maternels sont les déterminants majeurs de la colonisation du tractus digestif de l'enfant
- ces microbiotes maternels sont différents selon l'indice de masse corporel maternel
- le microbiote intestinal influence le neurodéveloppement et le comportement alimentaire de l'hôte adulte.

L'hypothèse de cette deuxième étude est que **la transmission de microbiotes maternels influencerait le comportement alimentaire des descendants à l'âge adulte selon qu'ils proviennent de mères obèses ou normopondérales, via des altérations du développement des circuits cérébraux impliqués dans la régulation de la prise alimentaire.**

Pour tester la validité de cette hypothèse, nos **objectifs** ont donc été :

- de transférer à la naissance des microbiotes maternels associés à l'obésité
- de caractériser le comportement alimentaire des descendants à l'âge adulte
- de rechercher des liens avec des altérations du fonctionnement du système nerveux central.
- de rechercher des pistes mécanistiques, dont une potentielle programmation du neurodéveloppement et/ou du microbiote, et/ou encore des altérations du métabolisme

La stratégie mise en place a été :

- l'utilisation de rates gestantes du modèle Obese-Prone (OP) / Obese-Resistant (OR) nourries avec un régime hyper-énergétique et présentant des microbiotes intestinaux différents, un métabolisme différent, et une prise alimentaire différente.
- le transfert de microbiotes vaginal, fécal et associé au lait, issus de ces rates donneuses OP ou OR à des ratons dans les 2h après leur naissance.
- l'utilisation pour ces ratons receveurs du modèle de rat consanguin conventionnel

F344

PARTIE EXPERIMENTALE

**La composition du microbiote intestinal
néonatal peut-elle influencer la
programmation du comportement
alimentaire chez le rat ?**

Chapitre 4

La supplémentation en oligosides prébiotiques n'impacte pas le comportement alimentaire à l'âge adulte



Article

Neonatal Consumption of Oligosaccharides Greatly Increases L-Cell Density without Significant Consequence for Adult Eating Behavior

Gwenola Le Dréan ^{1,2,3,*}, Anne-Lise Pocheron ^{1,2,3}, Hélène Billard ^{1,2,3}, Isabelle Grit ^{1,2,3}, Anthony Pagniez ^{1,2,3}, Patricia Parnet ^{1,2,3}, Eric Chappuis ⁴, Malvyne Rolli-Derkinderen ^{2,3,5} and Catherine Michel ^{1,2,3}

¹ Nantes Université, INRA, UMR1280, PhAN, F-44000 Nantes, France

² IMAD, F-44000 Nantes, France

³ CRNH-Ouest, F-44000 Nantes, France

⁴ Olygose, parc Technologique des Rives de l'Oise, F 60280 Venette, France

⁵ Nantes Université, INSERM, UMR 1235, TENS, F-44000 Nantes, France

* Correspondence: gwenola.ledrean@univ-nantes.fr; Tel.: +33-244-768-076



Received: 30 May 2019; Accepted: 14 August 2019; Published: 21 August 2019

Abstract: Oligosaccharides (OS) are commonly added to infant formulas, however, their physiological impact, particularly on adult health programming, is poorly described. In adult animals, OS modify microbiota and stimulate colonic fermentation and enteroendocrine cell (EEC) activity. Since neonatal changes in microbiota and/or EEC density could be long-lasting and EEC-derived peptides do regulate short-term food intake, we hypothesized that neonatal OS consumption could modulate early EECs, with possible consequences for adult eating behavior. Suckling rats were supplemented with fructo-oligosaccharides (FOS), beta-galacto-oligosaccharides/inulin (GOS/In) mix, alpha-galactooligosaccharides (α GOS) at 3.2 g/kg, or a control solution (CTL) between postnatal day (PND) 5 and 14/15. Pups were either sacrificed at PND14/15 or weaned at PND21 onto standard chow. The effects on both microbiota and EEC were characterized at PND14/15, and eating behavior at adulthood. Very early OS supplementation drastically impacted the intestinal environment, endocrine lineage proliferation/differentiation particularly in the ileum, and the density of GLP-1 cells and production of satiety-related peptides (GLP-1 and PYY) in the neonatal period. However, it failed to induce any significant lasting changes on intestinal microbiota, enteropeptide secretion or eating behavior later in life. Overall, the results did not demonstrate any OS programming effect on satiety peptides secreted by L-cells or on food consumption, an observation which is a reassuring outlook from a human perspective.

Keywords: prebiotic; gut-brain; programming; microbiota; L-cell; eating behavior

1. Introduction

Preventing unhealthy feeding behavior is highly desirable since deleterious eating habits are associated with health problems, including a higher risk of overweight and obesity [1]. Since eating behavior is the result of integrated central and peripheral biological systems that are influenced by genetic, psychological, and environmental factors [2], its optimization is highly complex and requires the full elucidation of the mechanisms that control eating behavior. Central regulation of appetite is mediated by peripheral inputs generated by stomach distension, through signals from the gut epithelium when it senses the availability of nutrients, such as satiety-regulating peptides synthesized and released by enteroendocrine cells (EECs), as well as by long-term energy signals released by adipose tissue and cerebral inputs generated by hedonics and rewards circuits [2,3].

In addition to the evident progress in understanding these interconnections, recent advances include two major findings: first, eating behavior may be programmed very early in life, and second, it could be regulated by intestinal microbiota.

According to the developmental origin of health and disease (DOHaD) theory, adverse early-life conditions may predispose a person to disordered eating [4]. Among the environmental stressors that may have an effect, it is suggested in both animal and human studies that perinatal nutrition could program the appetite (see [5,6] for reviews). In rodents, experiments based on restricting maternal nutrition and/or manipulating litter size have demonstrated that both pre- and post-natal nutrition may alter food intake [7–9] and/or food preference [10] in offspring, with subsequent repercussions in adulthood. In humans, although controversial results have been observed concerning the influence of prenatal nutrition on later eating behavior (see [11] for review), some observational evidence suggests that early nutrition/growth affects appetite regulation [12–14] and food preference programming, as demonstrated after repeated exposure to new flavors [15].

With regard to the involvement of intestinal microbiota in feeding behavior, although it has been known for several years that fermentation catalyzed by intestinal microbiota stimulates the expression of satiety peptides by EECs [16,17], it is only recently, in connection with the growing appreciation of the role that intestinal microbiota play in regulating host physiology, that this topic has generated renewed interest [18,19]. As pointed out in these reviews, some observations objectively support the involvement of intestinal microbiota in the regulation of feeding behavior. Thus, in ascending order of convincing power, we can quote: (i) the differences observed in microbiota composition or diversity in patients with anorexia nervosa (see [18] for review, [20]); (ii) the fact that feeding behavior differs between germ-free and conventional animals (see [21] for an example), (iii) the ability of certain microbiota modulating agents—e.g., certain prebiotic oligosaccharides [22,23]—to affect feeding behavior, and (iv) the delineation of mechanistic pathways that link microbiota with central and peripheral neuroendocrine systems responsible for feeding behavior, a finding which supports the existence of a causative link. For example, EECs that secrete appetite-regulating peptides can be mentioned since they have a large diversity of receptors enabling them to sense microbial inputs such as fermentation-derived short chain fatty acids (SCFA), secondary biliary salts or pathogen-associated molecular patterns [see 18 for review].

Reconciling these two emerging issues related to the regulation of feeding behavior, i.e., its possible programming in early life and its control by intestinal microbiota, we hypothesized that early modifications to microbiota may program adult feeding behavior. This programming could stem from either the programming of intestinal microbiota (e.g., [24]) or the early impacts of microbial changes with long-lasting consequences for the peripheral neuroendocrine systems that control adult feeding behavior and/or the central sensing of it. In this respect, it is worth mentioning the ability of microbiota-modulating agents to affect the hypothalamic expression of neurogenic factor (BDNF)

during the neonatal stage [25], and the potential programmable character of both the EECs [26] and the vagal sensitivity [9]. In addition, the putative ability of the gut microbiota to act through epigenetic mechanisms (see [27] for review) as well as the ability of the microbiota presence [28] and certain microbiota modulating agents [e.g., in the case of prebiotics [29,30]] to modulate some behaviors in adults mice can be cited, assuming that they are transposable in the neonatal period.

Using the rat as a model, we therefore evaluated whether neonatal modulation of the microbiota induced by prebiotics could program eating behavior and the secretion of gastrointestinal peptides in adulthood. We first verified that the presuppositions underlying our hypothesis were present in our case, by investigating the immediate impact of the neonatal prebiotic supplementation on both the intestinal microbiota and the maturation and functioning of EEC in suckled rats. We decided to use indigestible oligosaccharides (OS) to modify the intestinal microbiota of the neonatal rats for two reasons: first, OS are recognized as intensively-fermented prebiotics [31], which are also operant in neonatal rats [24] and infants (see [32] for review) and have been shown to stimulate EEC proliferation and activity in adult animals [33,34]; second, they represent relevant nutrients in neonatal nutrition since they are commonly added to infant formula to better mimic maternal milk [35].

2. Materials and Methods

2.1. Ethics Statement

All experiments were conducted in accordance with the European Union Directive on the protection of animals used for scientific purposes (2010/63/EU). The protocols were approved by the Ethics Committee for Animal Experiments for the Pays de la Loire region (France) and the French Ministry of Research (APAFIS#3652-20 160 1 1910192893 v3). The animal facility is registered by the French Veterinary Department as A44276.

2.2. Animal Experiment

Primiparous female Sprague-Dawley rats ($n = 16$) were obtained on day one of gestation (G1) from Janvier-labs (le Genest Saint Isle, France) and housed individually (22 ± 2 °C, 12:12-h light/dark cycle) with free access to water and chow (A03, Safe Diet, Augy, France). At birth, 8 litters were culled to 8 male pups per mother with systematic cross fostering as previously described [24]. From day 5 to day 14/15 of life (PND5 to PND14/15), the pups were given various solutions of FOS, GOS/In mix (9:1), α GOS or a mix of the monomers present in the OS solutions (Table 1) by oral gavage. These OS were selected either because they are already used in infant formula (GOS/In, FOS [35]) or because they constitute a new source of OS, the physiological properties of which are to be characterized (α GOS). Two pups from each litter were given one of the 4 solutions daily.

The pups were weighed daily and the administered volume was adapted to body weight to reach 3.2 g/kg in order to approximate the dosage actually consumed by babies fed with prebiotic enriched formula, taking into account both the difference in metabolic rate between rats and humans and the true prebiotic content of infant formula [35].

Four of the 8 litters were used for our main objective, i.e., to assess eating behavior programming: rats from these 4 litters ($n = 8$ per group) were weaned at PND21 onto standard chow (A03, Safe Diet, Augy, France) in individual cages until PND124/126, when they were sacrificed by decapitation after induction of deep anesthesia (isoflurane/O₂, 5 L·min⁻¹). During the follow-up, food consumption was measured 3 times a week. Rats from the 4 remaining litters ($n = 8$ per group except for FOS where $n = 7$ as explained below) were sacrificed at PND14/15 by the method described above to investigate the immediate impact of the neonatal prebiotic supplementation on both intestinal microbiota and the maturation and functioning of EECs.

Table 1. Composition of solutions administered by gavage to pups from PND5 to PND14/15 (g·mL⁻¹).

	CTL	FOS	GOS/In	αGOS
GOS syrup (VivinalGOS, FrieslandCampina Domo, LE Amersfoort, The Netherlands)			0.65	
Inulin powder (Raftiline HP, BENEEO-Orafti S.A., Tienen, Belgium)			0.03	
FOS powder (Beneo P95, BENEEO-Orafti S.A., Tienen, Belgium)		0.34		
αGOS powder (Olygose, Venette, France)				0.32
α-Lactose monohydrate (L3625, Sigma-Aldrich, St. Quentin Fallavier, France)	0.096	0.096		0.096
D(+)-glucose monohydrate (108342, Merck Santé SAS, Fontenay sous Bois, France)	0.087	0.082		0.087
D(+)-galactose monohydrate (104058, Merck Santé SAS, Fontenay sous Bois, France)	0.005	0.005		0.004
D(-)-fructose (F0127, Sigma-Aldrich, St. Quentin Fallavier, France)	0.015		0.015	0.015
Saccharose (S9378, Sigma-Aldrich, St. Quentin Fallavier, France)	0.002		0.002	0.002
Total oligosaccharides [§]		0.30	0.30	0.30
Total digestible sugars ^{§!!}	0.20	0.20	0.20	0.20

CTL, control; FOS, fructo-oligosaccharides; 93.2% dry matter composed of 90.4% oligomers and 6.6% monomers, providing 0.015 g·mL⁻¹ of fructose, 0.005 g·mL⁻¹ of glucose and 0.002 g·mL⁻¹ of saccharose; GOS/In, mix (9:1) of galacto-oligosaccharides and long chain fructo-oligosaccharides (In, inuline). For GOS: 75% dry matter composed of 59% oligomers and 41% monomers; for inulin: 97% dry matter composed of 99.5% oligomers, the mix was providing 0.095 g·mL⁻¹ of lactose, 0.086 g·mL⁻¹ of glucose and 0.005 g·mL⁻¹ of galactose; αGOS: alpha galacto-oligosaccharides (95.9% dry matter composed of 99.4% oligomers, providing 0.001 g·mL⁻¹ of galactose. ^{!!, §} These calculations take into account the dry matter of the components, their purity, and the amount of digestible sugars they contain.

This experimental set-up was designed to form 8 supplemented males, originating from 4 different litters, per group at each studied age. Due to the death of one of the pups during the supplementation period (this pup was then replaced by an untreated one to equilibrate the litter size), the number of pups in the FOS group at PND14/15 was reduced to 7. These values are maximum numbers that are not always found in each of the analyses (see the illustration legends). This stemmed from either physiological reasons (e.g., 2 animals did not eat at all during the fasting-refeeding test), or because of quality requirements (e.g., reliable data from in physiological cages could only be obtained for $n = 7$ in CTL and GOS/In groups; $n = 6$ in FOS group and $n = 5$ in αGOS group), or statistical inconsistency (e.g., outliers identified by the Dixon's Q test were excluded in RT-qPCR analysis as well as food/beverage consumption follow-ups), or technical problems (e.g., accidental spillage of supernatant before analysis of bacterial end-products or sequencing failure during 16S rDNA analysis or poor quality of some tissue sections in the case of immunochemical analysis). Nevertheless, in all analyses, the 4 different litters were always represented.

2.3. Tissue Collection

Under anesthesia, intracardiac blood was collected in a tube containing EDTA (Microtubes 1.3 mL K3E, Sarstedt MG & Co, Marnay, France) and plasma collected after centrifugation 2000× *g*, 15 min, 4 °C) was frozen at -20 °C for further analysis. The contents of the most distal 15 cm of the ileum were harvested by flushing, using 1 mL of Hanks' Balanced Salt Solution (HBSS, Thermo Fisher Scientific, St-Herblain, France), and the cecocolonic (PND14/15) or cecal (PND124/126) content was collected, weighed, mixed with 5-fold or 2-fold their volume of sterile water (PND14/15 and PND124/126,

respectively). After complete homogenization, these cecocolonic/cecal suspensions were centrifuged $7800\times g$, 20 min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$) then both supernatants and pellets were frozen at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ for analysis of the fermentation end-products (SCFA and lactate) and microbiota, respectively. Intestinal tissues (ileum and proximal colon) were rapidly collected and frozen in liquid nitrogen for RNA analysis. Additional tissue samples were fixed in 4% paraformaldehyde for immunofluorescence analysis.

2.4. Eating Behavior

2.4.1. Meal Pattern

Between PND74 and PND99, eating behavior was analyzed in physiological cages (Phecomb cages, Bioseb, Vitrol, France) as previously described [8]. Briefly, the rats were housed individually and following 24 h of acclimatization to the cage and refilling with fresh food between 9.00 a.m. and 11.00 a.m., data were recorded every 5 s over a 20-h period. Due to the intervention during the diurnal phase, the analysis was reduced to 8 h whereas the nocturnal phase was 12 h. The exact feeding pattern was defined with a minimal size of 0.1 g, a minimum duration of 10 s and a minimum inter-meal interval of 10 min. Events such as large vibrations (contact with the feed tray without eating) were filtered by the Phecomb system monitoring software (Compulse v1.1.01). The reliability percentage of the quality signal was calculated by the software and only experiments with a percentage $>80\%$ were used. Meal parameters extracted from Compulse software included number of meals, meal size and duration, inter-meal intervals and satiety ratio.

2.4.2. Taste Preference

Preference for sweet taste was measured at PND110 using the bottle test experiment [36]. After a two-day habituation to the presence of two bottles in their own cages, the animals had the choice of the two bottles, one containing tap water and the other 0.05% saccharin (Sigma-Aldrich, St. Quentin Fallavier, France). Drink intake was measured daily for three days. The position of the two bottles was reversed each day to prevent position preference bias. The sweet preference score was calculated as the ratio between the volume of saccharin solution consumed and the total drink intake in 24 h, then multiplied by 100. Preference was defined as a percentage greater than 50.

2.5. Fasting-Refeeding Test, Kinetics of GLP-1 and PYY Release and Response to Glucose

At PND105, a 4 h kinetic of GLP-1 and PYY release in plasma was carried out. Rats were not fed for 16 h to induce hunger and then fed for 20 min with a calibrated quantity of chow (A03, safe Diet). Food intake was weighed at the end of the 20 min period. Any crumbs that fell in the cage were weighed and deducted from the food intake. Blood samples were collected from the tail vein in tubes containing EDTA (Microvette CB300 EDTA 3K, Sarstedt, Marnay, France) at 0 (15 min before refeeding), 30, 60, 120, and 180 min after the beginning of the meal.

At PND124/126, the rats were not fed for 16 h, and 2 h before being sacrificed they were given an oral bolus of glucose (2 kg/kg BW) in order to challenge glucose sensing in GLP-1/PYY-producing EECs.

2.6. Plasma Gastrointestinal Peptides

The plasma concentration of total GLP-1 and total PYY was assayed by the ELISA technique using kits from Millipore (Merck-Millipore, Molsheim, France) and Phoenix Pharmaceutical (Phoenix France S.A.S, Strasbourg, France), respectively.

2.7. Fermentation End-Products

Ileal and cecal supernatants were centrifuged $8000\times g$, 20 min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, diluted (1/10) with 0.5 M oxalic acid and SCFA (acetate, propionate, butyrate, isobutyrate, valerate and isovalerate) were

analyzed by gas chromatography as previously described [37]. The D- and L-lactates were measured in the supernatants after heating to 80 °C for 20 min with a D/L-lactic acid enzymatic kit following the manufacturer's instructions (Biosentec, Toulouse, France).

2.8. Immunohistochemistry

Tissue sections (4–5 µm) of fixed ileum and proximal colon were double-stained with a goat polyclonal antibody raised against GLP-1 diluted at 1/200 (Santa Cruz Biotechnology Inc, Santa Cruz, USA) and a rabbit anti-chromograninA (chrgA, diluted at 1/1000 (ImmunoStar Inc, Hudson, USA), followed by incubation with anti-goat and anti-rabbit fluorescent secondary antibodies (1/1000). Nuclei were counterstained with 4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride (DAPI, Sigma-Aldrich, St. Quentin Fallavier, France). Tissue sections were mounted in Prolong Gold anti-fading medium (Molecular Probes, Thermo Scientific, Courtaboeuf, France). Three sections per sample were analyzed with a Nanozoomer (×20) (Hamamatsu Photonics France, Massy, France). The number of fluorescent cells along the crypt-villus axis unit was counted twice by a blind operator, using the NDP view software (Hamamatsu, Photonics France, Massy, France). A total of 40 to 60 crypt-villus units per section were counted.

2.9. Quantitative Real-Time PCR

Total RNA extraction from the ileum and colon was carried out using a QIAamp RNA Blood Mini kit (Qiagen, Courtaboeuf, France) following the manufacturer's instructions. Two micrograms of RNA were reverse-transcribed using M-MLV reverse transcriptase (Promega, Charbonnières-les-Bains, France). Five microliters of 1/40 dilution of cDNA solution were subjected to RT-qPCR in a Bio-Rad iCycler iQ system (Biorad, Marnes-la-Coquette, France) using a qPCR SYBR Green Eurobiogreen® Mix (Eurobio, Les Ulis, France). The quantitative PCR consisted of 40 cycles, 15 s at 95 °C, 15 s at 60 °C and 15 s at 72 °C each. Primers sequences are shown in Table S1 of the Supplementary Material. For quantification of Neurog3, rat PrimePCR™ SYBR® Green Assay Neurog3 (Biorad, Marnes-la-Coquette, France) was used. Relative mRNA quantification was expressed using the $2^{-\Delta\Delta C_q}$ method with actin gene as a reference.

2.10. Bacterial 16S rDNA Sequencing of Cecal Contents

DNA was extracted from pellets of ceco-colonic content (max 250 mg) using the QIAamp Fast DNA Stool Mini kit (Qiagen, Courtaboeuf, France) after enzymatic and mechanical disruptions as described previously [37] except that homogenization was carried out at 7800 rpm for 3 × 20 s intervals with 20 s rest between each interval in a Precellys® "evolution" bead-beater (Bertin, Montigny-le-Bretonneux France). The V4 hyper-variable region of the 16S rDNA gene was amplified from the DNA extracts during the first PCR step using composite primers (5'-CTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTGTGY CAGCMGCCGCGGTAA-3' and 5'-GGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTGGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') based on the primers adapted from Caporaso et al. (i.e., 515F and 806R) [38]. Amplicons were purified using a PP201 PCR Purification Kit (Jena Bioscience, Jena, Germany). Paired-end sequencing was performed on a HiSeq 2500 System (Illumina, San Diego, CA, USA) with v3 reagents, producing 250 bp reads per end, following the manufacturer's instructions by the GeT+-PlaGe platform (INRA, Toulouse, France). The 16S rDNA raw sequences were analyzed with FROGS v2 pipeline (<http://frogs.toulouse.inra.fr/>) [39]. After de-multiplexing, quality filtering and chimera removing, the taxonomic assignments were conducted for OTUs with abundance >0.005% with Blast using Silva 128 database containing sequences with a pintail score at 80 to determine the bacterial compositions. FROGSSTAT Phyloseq tools were used to normalize raw abundances by rarefaction and to calculate alpha and beta diversity indices.

2.11. Statistical Analysis

Statistical analyses were carried out using GraphPad Prism 6 software (GraphPad Software Inc., San Diego, USA) or R (libraries "stats v3.5.1" and "corrplot v0.84", [40]). Differences between

treatments were searched using one-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparison tests for most data, with the exception of growth and food consumption data which were subjected to multiple t-tests with correction for multiple comparison using the Holm-Sidak method. Sweet taste preference test was analyzed by the one sample t-test to compare data against the 50% (no preference) value. A p value < 0.05 was considered statistically significant.

3. Results

3.1. Neonatal OS Supplementation Did Not Substantially Affect Rat Growth

Both FOS and α GOS supplementation was associated with a significant transitory reduction of pup growth in the first days of intervention (PND7 to PND10 and PND6 to PND8 respectively, Figure S1). When compared with body weights from the CTL group, the differences observed were only 9.1 to 11.5% and did not significantly affect the cumulative weight gains measured either from birth until the end of supplementation or for the whole lactation period (Table 2).

Table 2. Bodyweight gain (g) during lactation.

Treatment	BW Gain PND0-14	BW Gain PND0-20
CTL	30.4 \pm 4.2	50.5 \pm 6.0
FOS	28.0 \pm 3.4	45.7 \pm 4.6
GOS/In	29.4 \pm 3.3	49.6 \pm 5.8
α GOS	27.9 \pm 2.7	46.8 \pm 5.1

¹ Data are means \pm SD collected from the total effective of rats ($n = 15-16$ per group during PND0-14 and $n = 8$ during PND0-20). BW, bodyweight.

No significant differences in bodyweight were observed between groups after weaning (Figure S2).

3.2. Neonatal OS Supplementation Exerted a Marked Immediate Impact on Intestinal Environment

3.2.1. OS Supplementation Modified Both Composition and Activity of Neonatal Intestinal Microbiota

Following 16S rDNA sequencing, no significant differences were noticed in raw sequence numbers between cecocolonic samples collected at PND14/15 (355,245 \pm 10,367, 30,306 \pm 13,817, 40,275 \pm 18,343 and 31,808 \pm 10,101 for CTL, FOS, GOS/In and α GOS, respectively) or in percentages of sequences kept after quality filtering (83.8 \pm 4.0, 76.4 \pm 18.4, 83.9 \pm 4.2, and 81.7 \pm 7.1). The cecocolonic contents of animals supplemented with OS exhibited similar reductions in richness ($p < 0.001$) compared with CTL animals (Chao1 values: 66.2 \pm 21.0, 72.9 \pm 28.1, and 73.9 \pm 35.3 for FOS, GOS/In and α GOS, respectively *versus* 180.0 \pm 35.7 for CTL). The cluster dendrogram generated using weighed UniFrac metric which illustrates beta or between-sample diversity, highlighted an obvious dissimilarity between the microbiotas of the OS-supplemented animals and those of animals from the CTL group (Figure 1) but did not reveal any effect of the nature of the OS.

When considering bacterial families occurring at more than 0.01% of the total sample abundances (Table 3), the OS impact was typified by significant decreases in Lactobacillaceae, Bacteroidales S24-7 group, Prevotellaceae, Streptococcaceae, Peptococcaceae, Coriobacteriaceae, Aerococcaceae, Family XIII, and Rikenellaceae. In addition, OS supplementation decreased Ruminococcaceae abundance but this impact only reached statistical significance for FOS and α GOS. These decreases in relative abundance were differently compensated according to the OS: increases in Bifidobacteriaceae reached statistical significance following FOS and α GOS supplementations, Enterobacteriaceae increased following α GOS supplementation and Lachnospiraceae increased following GOS/In supplementation.

Significant differences between OS were scarce and only occurred between GOS/In and α GOS in their impact on Lachnospiraceae (Table 3).

Concurring with these compositional changes, the 10-day supplementation greatly affected fermentation end-product concentrations in both ileal and colonic contents at PND14/15.

In the ileum, lactate concentration was below the detection limit (0.22 mM) in all animals, and the concentration of acetate—the sole SCFA present at this age in this intestinal segment—was significantly increased ($p < 0.005$) through FOS supplementation (6.9 ± 3.6 mM) compared to CTL (0.3 ± 0.4 mM), GOS/In (1.6 ± 2.0 mM) and α GOS (0.6 ± 0.8 mM).

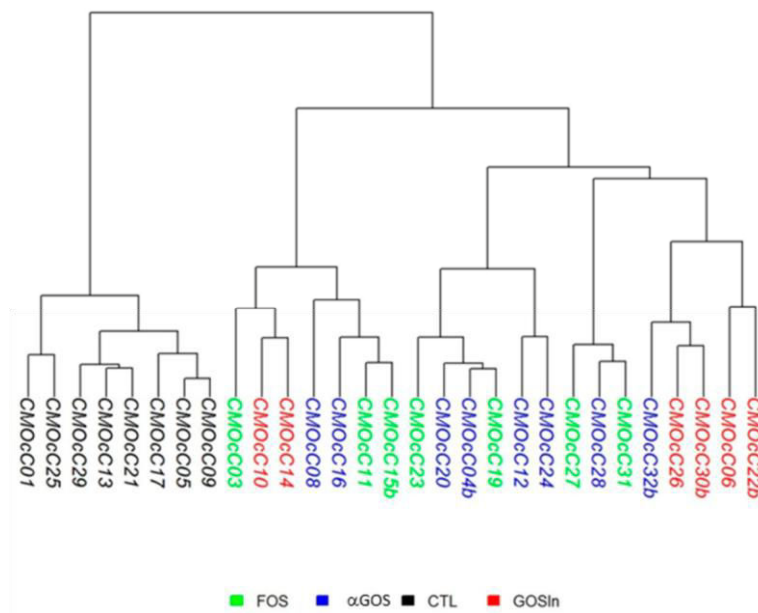


Figure 1. Hierarchical clustering based on the Ward's method of phylogenetically informed distance matrix computed using the weighted UniFrac metric for cecocolonic contents collected at postnatal day (PND) 14/15 ($n = 6$ to 8 per group).

Table 3. Relative abundances (%) for families with abundances > 0.01% at PND14/15 according to the postnatal OS supplementation.

Family	CTL	FOS	GOS/In	αGOS
Actinomycetaceae	0.095 ± 0.084	0.028 ± 0.032	0.076 ± 0.056	0.068 ± 0.058
Aerococcaceae	0.086 ± 0.029 ^{a,2}	0.011 ± 0.011 ^b	0.015 ± 0.012 ^b	0.020 ± 0.019 ^b
Alcaligenaceae	0.020 ± 0.041	0.030 ± 0.047	0.378 ± 0.576	0.036 ± 0.053
Bacteroidaceae	2.352 ± 0.991	6.510 ± 10.047	6.837 ± 5.729	3.719 ± 5.492
Bacteroidales.S24.7 group	6.812 ± 2.953 ^a	0.053 ± 0.080 ^b	0.098 ± 0.094 ^b	0.084 ± 0.103 ^b
Bifidobacteriaceae	0.624 ± 0.45 ^a	17.188 ± 12.735 ^b	7.894 ± 7.947 ^{ab}	13.577 ± 10.631 ^b
Campylobacteraceae	0.009 ± 0.024	0.093 ± 0.220	0.066 ± 0.151	0.294 ± 0.546
Clostridiaceae.1	0.273 ± 0.146	2.413 ± 3.231	5.509 ± 8.749	5.044 ± 4.581
Coriobacteriaceae	0.108 ± 0.039 ^a	0.039 ± 0.034 ^b	0.036 ± 0.041 ^b	0.023 ± 0.018 ^b
Corynebacteriaceae	0.032 ± 0.023	0.007 ± 0.011	0.020 ± 0.030	0.012 ± 0.023
Desulfovibrionaceae	0.098 ± 0.182	0.000 ± 0.000	0.003 ± 0.008	0.006 ± 0.014
Enterobacteriaceae	13.86 ± 5.97 ^a	23.48 ± 12.23 ^{ab}	19.51 ± 6.69 ^b	33.42 ± 11.99 ^b
Enterococcaceae	0.435 ± 0.707	0.145 ± 0.203	2.892 ± 6.293	0.542 ± 0.771
Erysipelotrichaceae	0.682 ± 0.387	4.080 ± 3.988	3.774 ± 4.950	2.766 ± 3.002
Family.XIII	0.062 ± 0.030 ^a	0.004 ± 0.008 ^b	0.000 ± 0.000 ^b	0.001 ± 0.003 ^b
Lachnospiraceae	6.327 ± 2.300 ^a	9.787 ± 6.180 ^{ab}	15.298 ± 9.544 ^b	4.962 ± 4.587 ^b
Lactobacillaceae	57.47 ± 8.72 ^a	28.74 ± 10.84 ^b	24.47 ± 5.71 ^b	31.13 ± 11.24 ^b
Micrococcaceae	0.140 ± 0.064	0.075 ± 0.074	0.071 ± 0.053	0.110 ± 0.105
Pasteurellaceae	0.582 ± 0.581	0.236 ± 0.235	0.456 ± 0.297	0.394 ± 0.446
Peptococcaceae	0.396 ± 0.182 ^a	0.006 ± 0.015 ^b	0.015 ± 0.019 ^b	0.007 ± 0.021 ^b
Peptostreptococcaceae	0.747 ± 0.485	0.471 ± 0.262	0.543 ± 0.108	0.640 ± 0.379
Porphyromonadaceae	1.242 ± 1.153	5.924 ± 9.747	9.826 ± 15.228	2.055 ± 5.475
Prevotellaceae	2.136 ± 1.540 ^a	0.014 ± 0.016 ^b	0.011 ± 0.018 ^b	0.028 ± 0.060 ^b
Rikenellaceae	0.034 ± 0.039 ^a	0.001 ± 0.004 ^b	0.000 ± 0.000 ^b	0.001 ± 0.003 ^b
Ruminococcaceae	3.242 ± 0.743 ^a	0.135 ± 0.147 ^b	1.610 ± 2.622 ^b	0.406 ± 0.665 ^b
Streptococcaceae	2.118 ± 0.620 ^a	0.510 ± 0.316 ^b	0.586 ± 0.156 ^b	0.643 ± 0.450 ^b

¹ Data are means ± SD (*n* = 6 to 8 per group). ² Within a row, values followed by different letters (a,b,ab) differ significantly (*p* < 0.05).

In the cecum, the concentration of total end products increased in all OS groups compared to CTL (Figure 2). This was mainly due to an increase in SCFA concentration, which only reached statistical significance in the case of FOS and also an increase in lactate concentration in the case of αGOS.

Increases in total SCFA reflected acetate increases which were significant for both FOS and GOS/In groups, and paralleled significant decreases in pH values (Table 4). In addition, OS supplementation shifted microbial activity, as evidenced by significant changes in the relative proportions of acetate (93.8 ± 4.6, 93.1 ± 4.1, and 95.4 ± 2.9% for FOS, GOS/In and αGOS, respectively *versus* 86.3 ± 4.5% for CTL) and propionate (5.4 ± 4.6, 5.2 ± 3.4, and 3.6 ± 2.9% for FOS, GOS/In and αGOS, respectively *versus* 10.7 ± 3.0% for CTL). Concentration and relative proportions of butyrate—which is scarcely produced in the neonatal stage—were not affected significantly by supplementation.

Table 4. Concentration (mM) of major short chain fatty acids (SCFA) in cecocolonic contents at PND 14/15.

Treatment	Acetate	Propionate	Butyrate	pH
CTL	3.17 ± 1.05 ^{1,a,2}	0.39 ± 0.16	0.07 ± 0.04	6.9 ± 0.3 ^a
GOS/In	5.82 ± 1.32 ^b	0.33 ± 0.21	0.10 ± 0.09	6.3 ± 0.2 ^b
αGOS	5.69 ± 1.77 ^{ab}	0.28 ± 0.27	0.05 ± 0.00	6.1 ± 0.2 ^b
FOS	8.00 ± 2.94 ^b	0.47 ± 0.37	0.06 ± 0.04	6.2 ± 0.2 ^b

Data are means ± SD ($n = 7$ to 8 per group). ² Within columns, values followed by different letters (a,b,ab) differ significantly at $p < 0.05$.

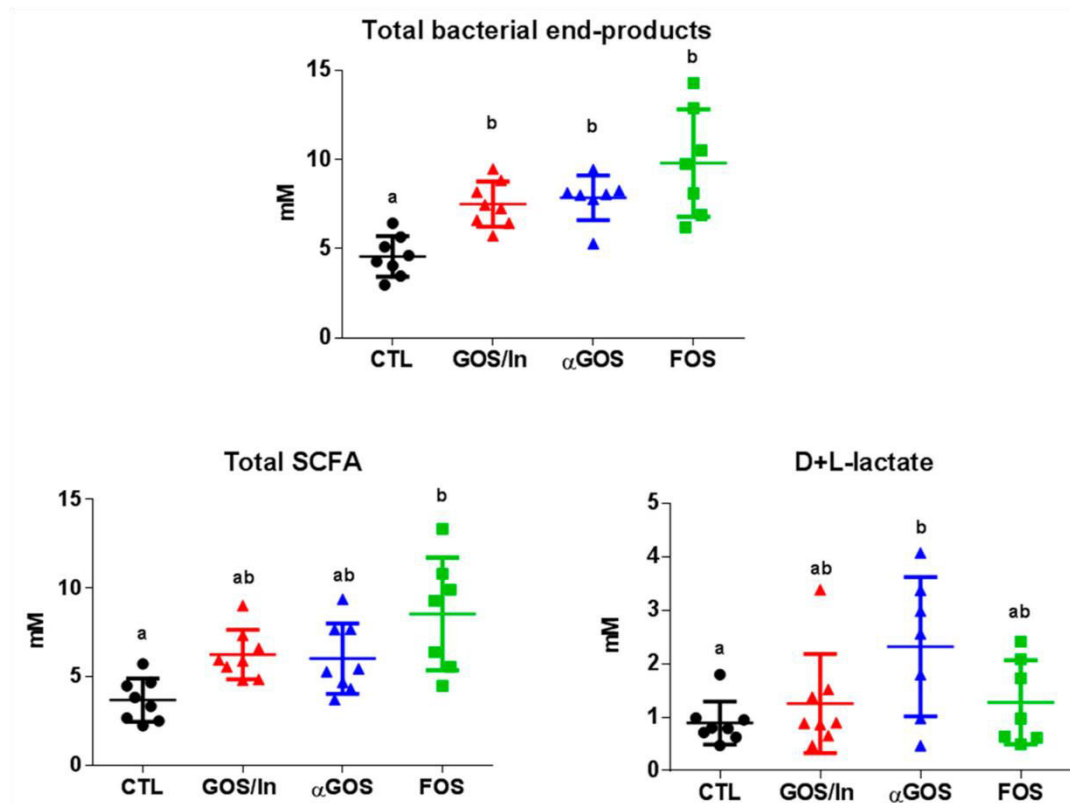


Figure 2. Cecocolonic concentrations of fermentation end-products. Individual, mean and SD values are plotted ($n = 7$ to 8 per group). Different letters indicated significant difference ($p < 0.05$) between groups.

3.2.2. OS Supplementation Modified both Differentiation and Activity of the Neonatal EEC

In the ileum, a profound effect on the enteroendocrine lineage was induced by neonatal OS supplementation, as revealed by a significant decrease in *Neurog3* expression in the OS groups compared to CTL, whereas, an early expressed marker in the commitment secretory lineage (*Atoh1*) was not affected significantly (Figure 3). The related expression of genes specifically implied in the differentiation of EECs (*Pax4* and *Pax6*) decreased significantly in OS supplemented groups compared to CTL, whereas expression of *Foxa1* did not vary between the groups. Similar to *Pax4* and *Pax6*, *Neurod1* expression decreased in OS groups compared with CTL, but this did not reach statistical significance for FOS. Regarding the expression of gene coding for peptides produced by mature L-cells, *Pyy* increased significantly in OS groups compared to CTL. At the same time, despite a 2-fold increase in *Gcg* expression in the OS groups compared to CTL, this effect was not statistically significant due to the widely varying expression between samples.

In the proximal colon, the impact of OS supplementation was much more moderate and their only significant effect was a decrease in the expression of *Pax4* (Figure S3).

Along with this profound remodeling in the expression of markers of L-cell differentiation, the number of GLP-1/ChgrA positive cells, i.e., mature EECs, was higher in the ileum of pups from OS groups compared to CTL but only reached statistical significance for villi (Figure 4A–C).

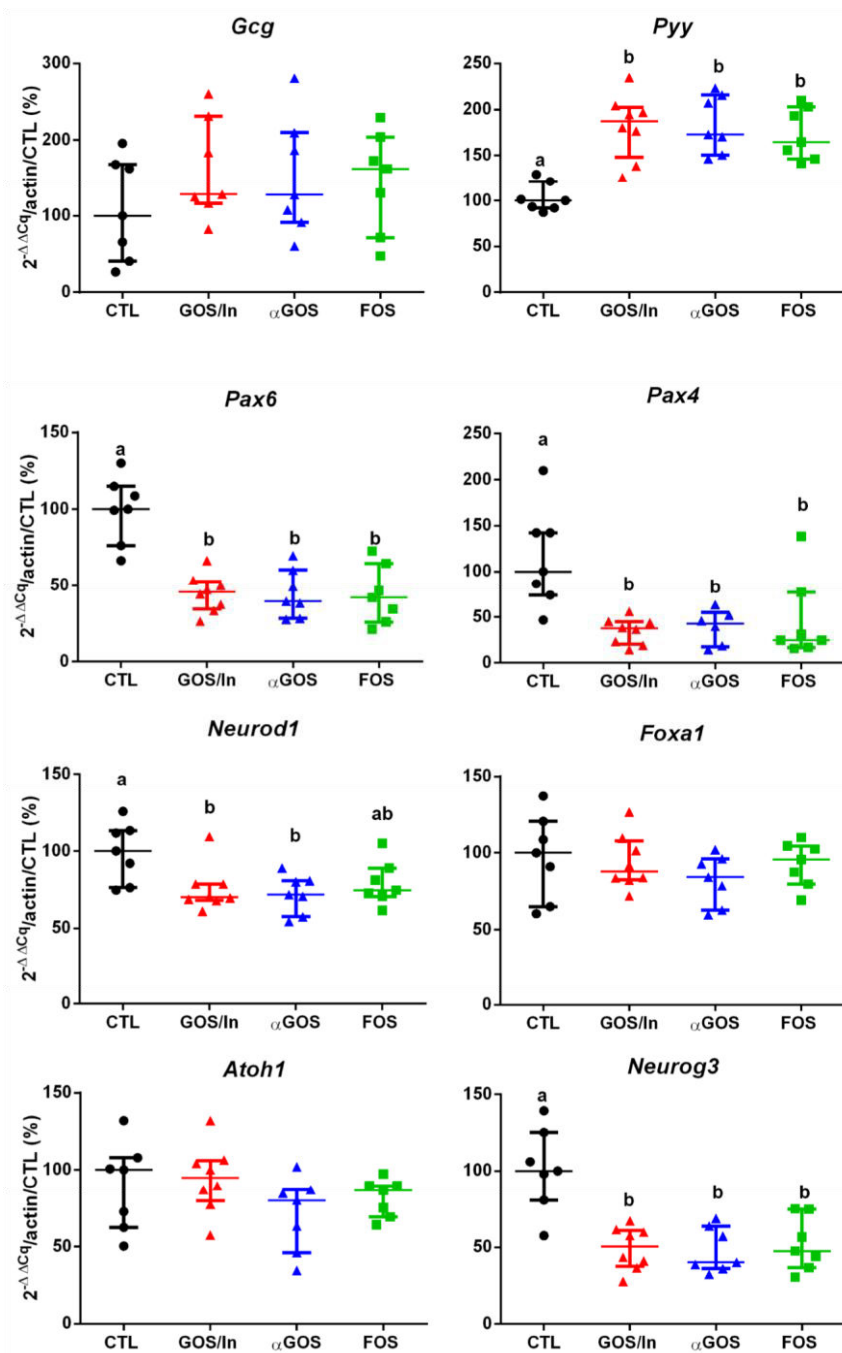


Figure 3. Relative expression of genes implied in the endocrine lineage and in L-cells differentiation in the ileum. Different letters indicate significant difference between groups ($p < 0.05$). Data are fold-change expressed in % of CTL group. Individual values, median with interquartile range are plotted ($n = 7$ to 8 per group).

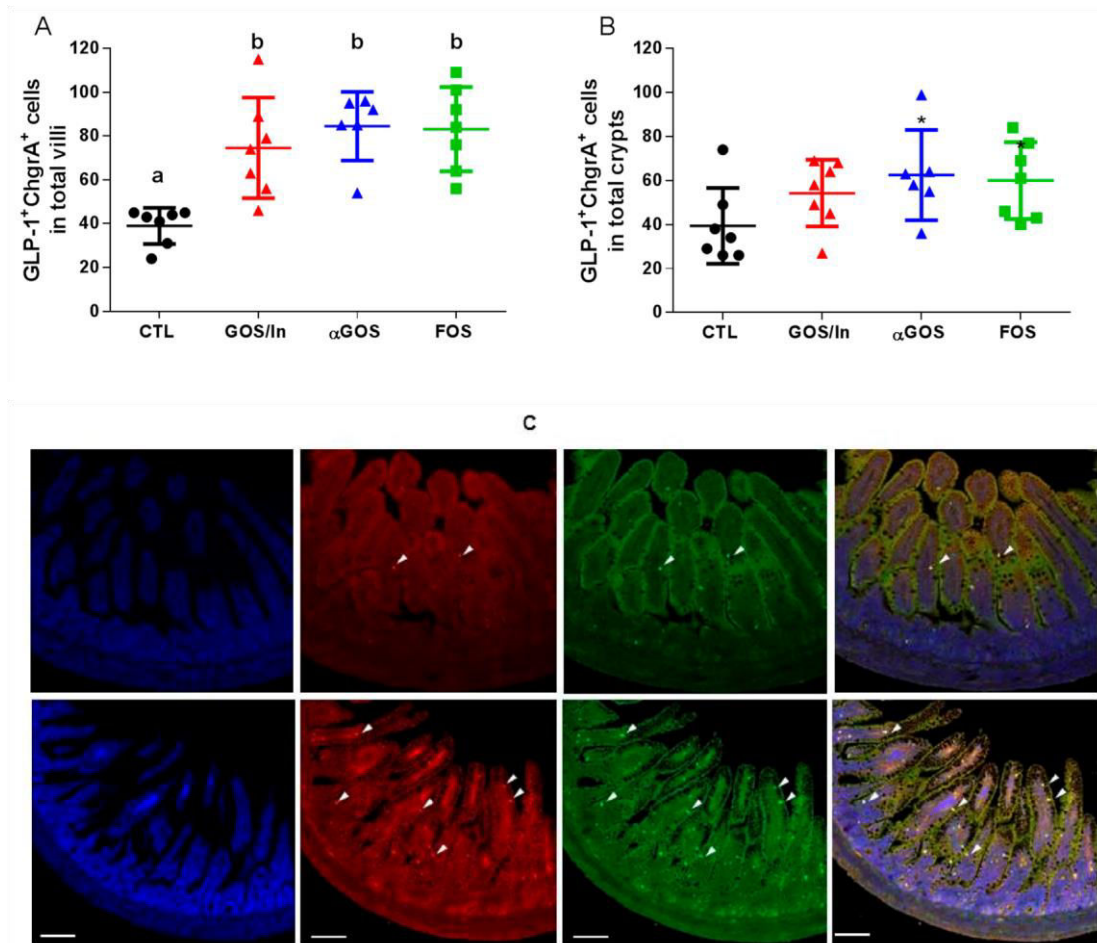


Figure 4. Effect of oligosaccharides (OS) supplementation on the density of GLP-1 cells in ileum: (A) in villi (B) in crypts. Different letters indicate significant differences among groups ($p < 0.05$); Individual, mean and SD values are plotted ($n = 6$ to 7 per group). (C) Representative images of immunofluorescence in ileal sections from a control solution (CTL) (top) and αGOS groups (down), arrows indicate positive fluorescence in cells: blue (DAPI, nuclei staining), red (GLP-1 cells), green (ChrgA cells) and merge (GLP-1/ChrgA cells). Bars indicate 100 μm.

In agreement with this rise in the number of mature enteroendocrine cell (EEC), plasma concentrations of GLP-1 (Figure 5A) and PYY (Figure 5B) were significantly increased by all the neonatal OS supplementations, as compared with CTL.

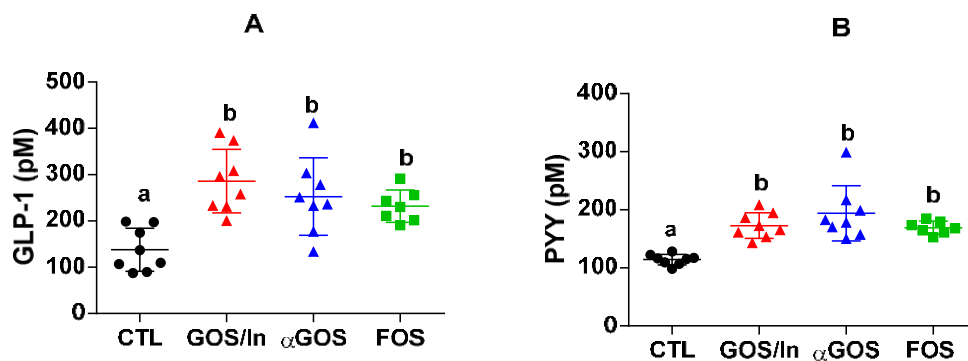


Figure 5. Plasma concentration of (A) Total GLP-1; (B) Total PYY at PND 14/15. Different letters indicate significant differences among groups ($p < 0.05$). Individual, mean and SD values are plotted ($n = 7$ to 8 per group).

Significant positive associations between plasma concentrations of GLP-1 and PYY and the ileal expression of their respective genes were evidenced (Figure 6A). Conversely, these plasma concentrations as well as the density of GLP-1 secreting cells, were inversely correlated with expressions of *Neurog3*, *Neurod1*, *Pax4*, and *Pax6*. With respect to associations between microbiota and EEC descriptors (Figure 6B), only some of the differentiating factors (*Pax4*, *Neurod1*, *Pax6* and *Neurog3*) exhibited significant positive correlations with the abundance of some bacterial families corresponding to those the abundance of which was significantly reduced by OS, except for Prevotellaceae. For these factors, the sole negative correlation was that between *Neurod1* and abundance of Clostridiaceae.1. Conversely, the PYY and GLP-1 plasmatic concentrations, EEC densities and *Pyy* expression, but not *Gcg* expression, were negatively correlated with the same families including Prevotellaceae.

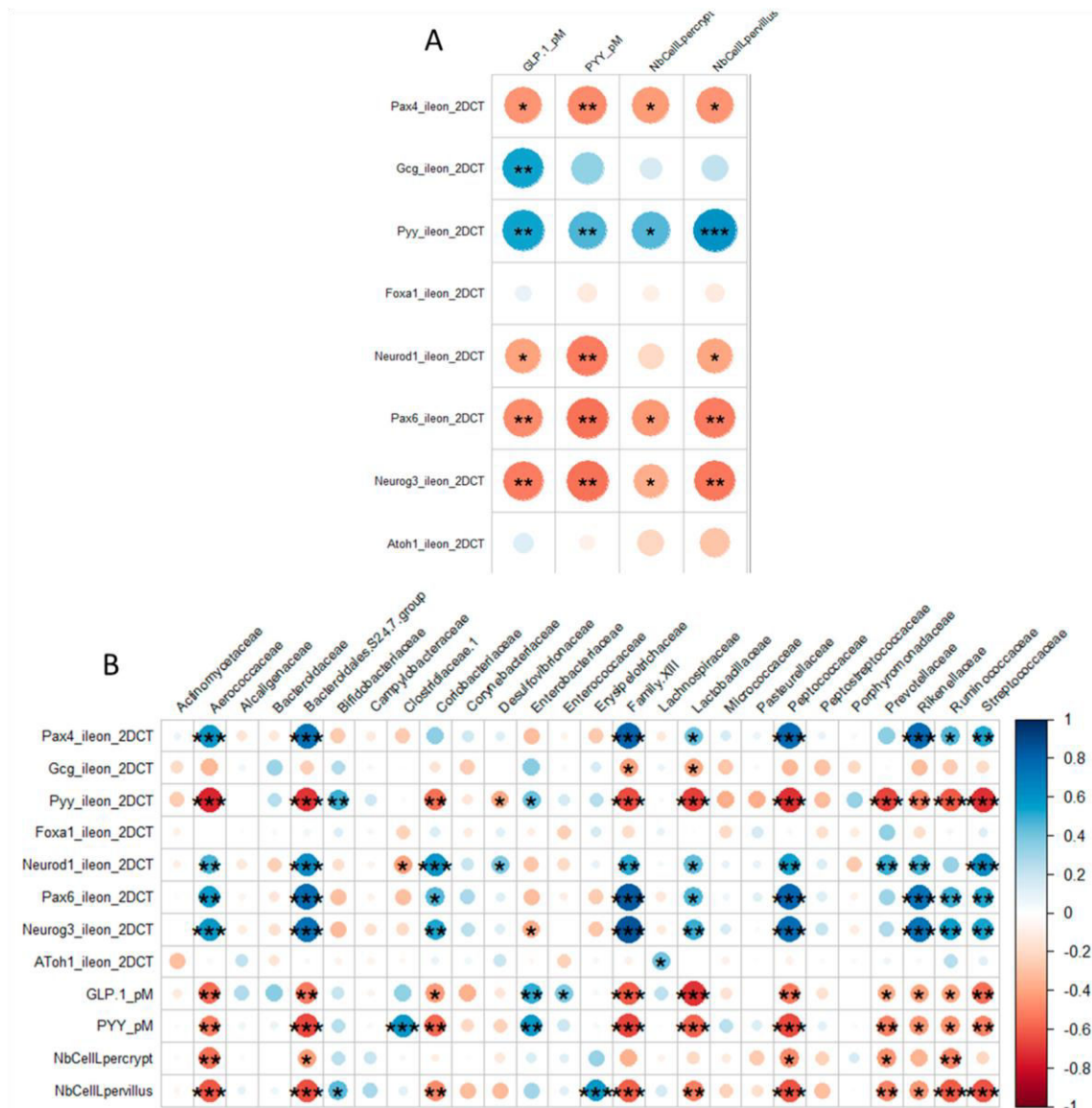


Figure 6. Correlograms within EEC descriptors (A) or between these descriptors and the relative abundances of main bacterial families (B). Positive correlations are displayed in blue and negative correlations in red. The intensity of the color and the size of the circles are proportional to the correlation coefficients. Asterisks indicate the level of significance (*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$). On the right of the correlogram, the color legend shows the correspondence between correlation coefficients and colors.

Overall, these results indicate that OS supplementation profoundly modulates neonatal microbiota in terms of both its composition and its fermentative activity, with repercussions not only

in the cecocolon but also, as exemplified with FOS, in the ileum. An increased density of ileal L-EECs and their secreted anorectic hormones, GLP-1 and PYY, were observed and unexpectedly the expression of transcription factors beyond the stage of secretory cell engagement (Atoh1) was inhibited at the same time. Whether this strong impact of early OS supplementation on satiety peptide-related EECs could last into later life and affect eating behavior was investigated further.

3.3. Neonatal OS Supplementation Had No Significant Long-Term Consequences

3.3.1. Neonatal OS Supplementation Did Not Significantly Program Enteropeptide Production or Eating Behavior in Adulthood

To investigate the long-term effect of neonatal supplementation of OS on nutrient sensing in EECs, once pups reached adulthood, we studied the release of GLP-1 and PYY in response to both a 20-min test meal (PND 74/76) and an oral bolus of glucose (PND 124/126) after 16 h of fasting.

No significant differences were observed between groups in the amount of food consumed during the 20-min test meal (Figure 7A). In response to this meal, the plasma concentration of GLP-1 increased immediately after refeeding and returned to pre-prandial level 120 and 180 min later (Figure 7B). The total amount of GLP-1 secreted during this period, quantified by AUC, did not differ significantly between the groups (Figure 7C). PYY secretion did not show any postprandial peak or significant differences between the groups (data not shown).

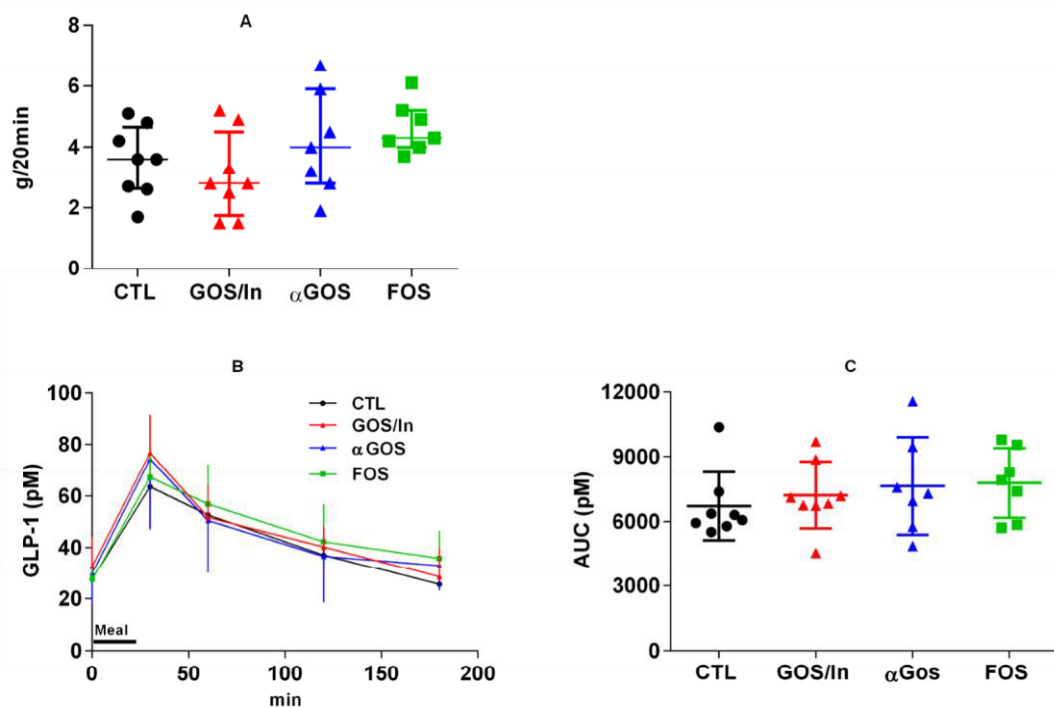


Figure 7. Fasting-refeeding test. (A) Food intake measured during refeeding (20 min-meal); (B) Plasma concentration of total GLP-1 measured during the 3h-kinetic follow-up (means \pm SD); (C) Total amount of GLP-1 secreted during the 0-180min period expressed as AUC. Individuals, means and SD are plotted. ($n = 7$ to 8 per groups).

Similarly, at PND 124/126, plasma concentrations of GLP-1 (CTL: 34.4 ± 13.5 ; GOS/In: 38.6 ± 28.6 ; αGOS: 28.9 ± 10.0 and FOS: 37.9 ± 20.6 pM) and PYY (CTL: 84.7 ± 4.0 ; GOS/In: 88.7 ± 7.8 ; αGOS: 91.4 ± 7.3 and FOS: 91.5 ± 5.8 pM) measured 2h after an oral bolus of glucose did not show any significant difference between groups.

To investigate the long-term effect of a neonatal supplementation of OS on subsequent eating behavior, we followed up the food consumption from weaning to adulthood, performed a refined

analysis of feeding pattern using physiological cages from PND75 to PND100 and assessed the preference for sugar taste between PND109 and PND111.

The analysis of food consumption during development, expressed per Kg of body weight to allow for strict comparison, only revealed a single significant difference which occurred at PND32 between animals from the FOS and CTL groups (Figure 8), an observation which indicates that neonatal supplementation with OS did not greatly influence the subsequent food intake in our experimental conditions.

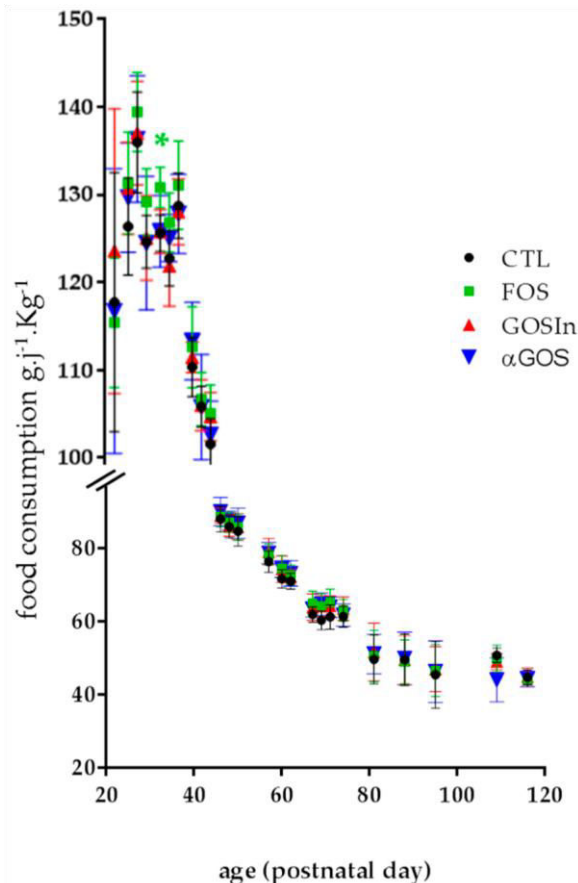


Figure 8. Daily consumption of food in the post-weaning stage, expressed as kilograms of bodyweight. The asterisk indicates a significant difference between FOS and CTL groups ($p < 0.05$). Data are means \pm SD ($n = 7$ to 8 by group and day).

This absence of effect on daily food consumption was confirmed by a detailed analysis of food consumption: we observed no significant difference in meal patterns among the groups (food intake, food intake per meal, number and duration of meals, latency to eat the first nocturnal meal, satiety ratio and ingestion rate), whatever the period of measurement (total 20 h period of measurement, diurnal period (8 h) or nocturnal period (12 h) (Figure 9 and Figure S4).

In the sweet taste preference test, there was no significant difference between groups in terms of the consumption of saccharin solution expressed as a percentage of daily beverage intake, regardless of the day of testing (Figure 10). Strikingly, the preference for sweet taste for the GOS/In group did not reach statistical significance on the first day of the test, in contrast to the FOS and α GOS groups. However, this preference did not persist on day 2, contrary to what was observed for the CTL group. This suggests that neonatal supplementation with OS slightly reduced the persistence of sweet preference in adulthood.

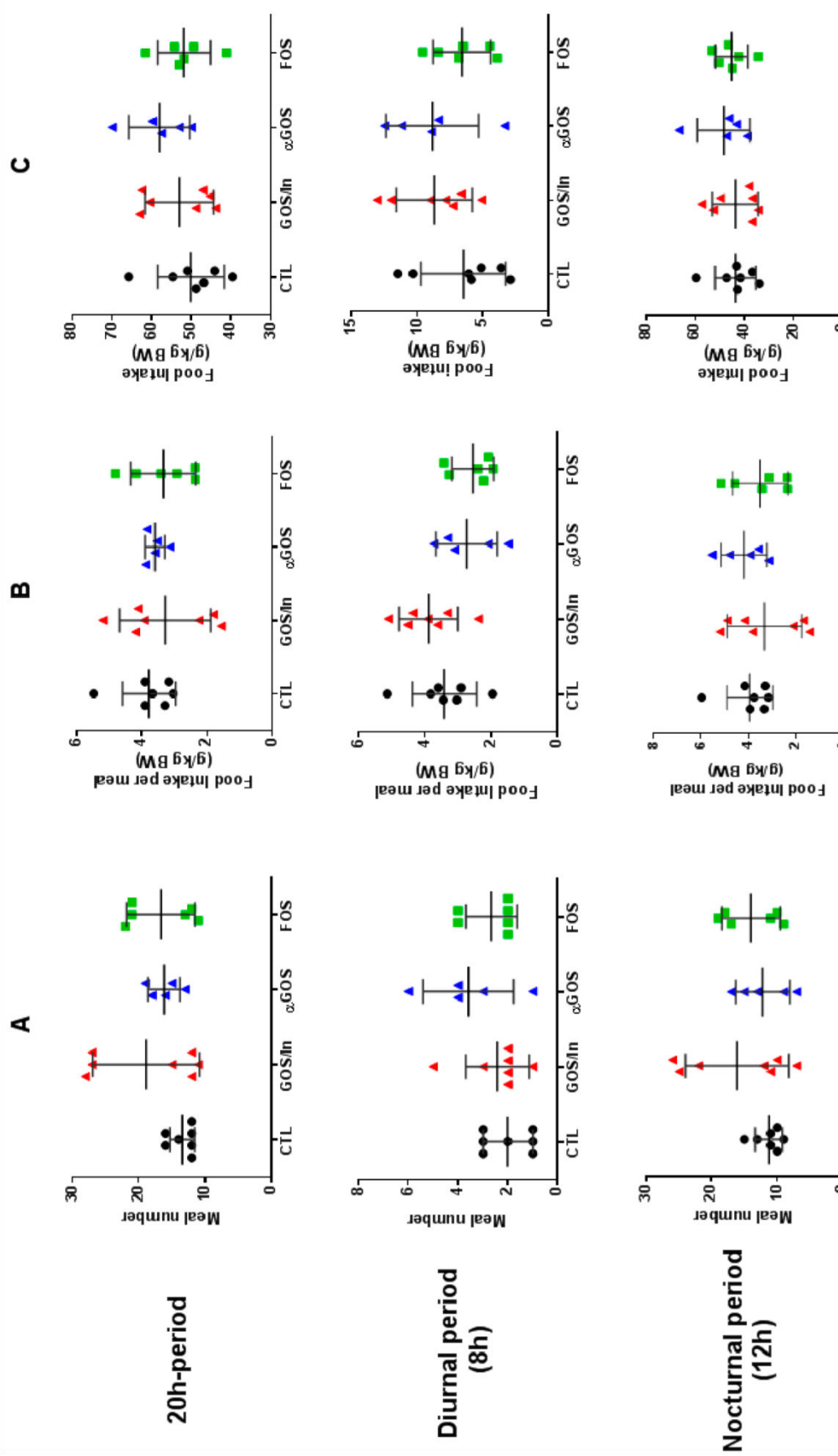


Figure 9. Feeding patterns illustrated by (A) Meal number; (B) Food intake per meal; (C) Food intake during the considered period analyzed in physiological cages at PND 75–100 (n = 5–7 per group). BW, bodyweight. Individuals, means and SD are plotted (n = 5 to 7 per groups).

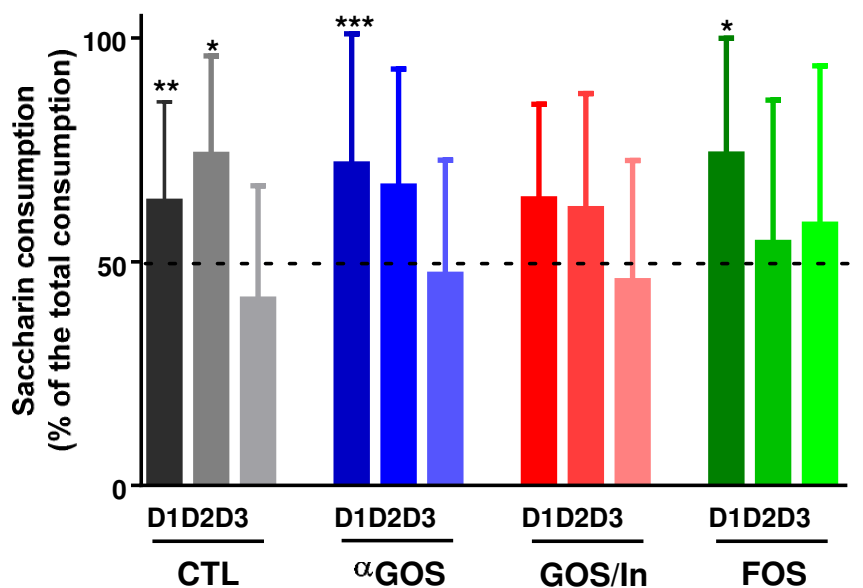


Figure 10. Preference for sweet taste. Datas are means \pm SD ($n=7$ to 8). Asterisks represent significant preference as compared with no preference (i.e., 50%, dotted line): *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$.

3.3.2. Neonatal OS Supplementation Did Not Significantly Program Adult Intestinal Microbiota

At adult age (PND 124/126), no significant differences were observed between treatments with respect to the raw number of sequences obtained, percentages of sequences kept after quality filtering, or alpha-diversity indexes (data not shown). Similarly, β -diversity analysis (Figure S5), principal component analysis on OTU abundances (Data not shown) and comparisons of the cumulated relative abundances at family level (Figure 11) failed to show any significant difference between cecal samples with respect to neonatal supplementation. Finally, neither ileal nor cecal concentrations of SCFA showed significant differences between the groups (Table S2).

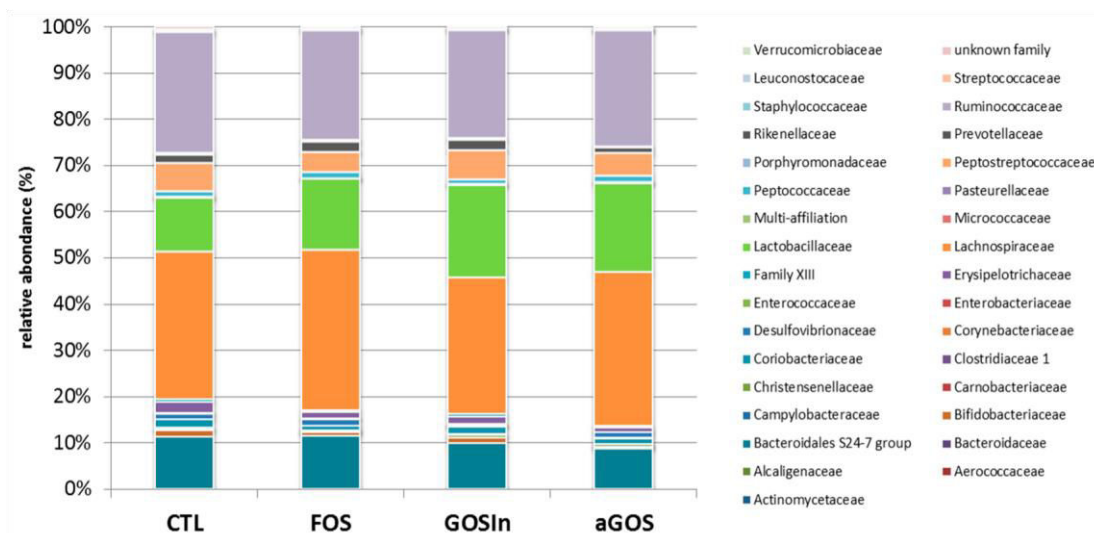


Figure 11. Impact of postnatal OS-supplementation on cecal microbiota composition at PND124/126: families distribution expressed as the average of cumulated relative abundances ($n = 7$ to 8 per group).

Overall, these data did not reveal that neonatal OS supplementation had any programming effect on adult microbiota.

4. Discussion

Considering that the regulation of feeding behavior could be programmed from the beginning of life and controlled by intestinal microbiota, we hypothesized that modifications to the neonatal microbiota could program adult feeding behavior. We therefore checked the ability of prebiotic-induced intestinal microbiota modulations to affect the maturation and functioning of L-EECs in suckled male rats, then assessed whether this resulted in delayed alterations in eating behavior and the secretion of GI peptides in adulthood. The observed effects are specifically attributable to OS since we adjusted the compositions of the administered solutions by taking into account the digestible sugar contents of commercial OS sources. In this study, we show that neonatal supplementation with 3 different OS strongly impacts cecocolonic microbiota, GLP-1 cell density in the ileum, and the production of satiety-related peptides during the neonatal period, but does not induce any significant enduring effect in adulthood on either eating behavior or gut peptide secretion.

The validity of this statement is obviously limited to our operating conditions which represent both strengths and limitations for our study.

Limitations include the fact that we only studied males in order to avoid the already described fluctuations in food intake throughout the estrous cycles [41], and did not characterize every components of eating behaviour such as motivation. However, we believe that the numerous components investigated allow for consideration of both its homeostatic and hedonic elements. We did not investigate immediate impact of OS supplementations on feeding behavior to avoid the recognized stress induced in pups by separation from the mother which would have been required to quantify milk intake either by gravimetric [42] or deuterated water turnover methods [43]. We did consider moreover whether neonatal prebiotic supplementation having an impact on the pups' eating behavior was beyond the scope of the programming of adult eating behavior. Nevertheless, we reported a transitory reduction in BW gain in FOS and GOS/In groups between PND6 and PND10 which suggests that the reducing impact of OS on food intake may also operate in the neonatal period.

Inversely, our study has three major advantages: the combination of hormonal, behavioral and microbiological analyzes; the minimizing of the influence of lactating mother influence by supplementing pups from the same litters with the different OS, and finally the use of OS doses comparable to those actually consumed by toddlers.

4.1. Neonatal OS Supplementation Affected Intestinal Microbiota Despite Its Immaturity

Corroborating our previous findings based on a non-exhaustive analysis of the microbiota [24], and in concurrence with several in vivo and in vitro studies investigating the impact in adulthood of OS (including those of the α GOS [44]) on intestinal microbiota, in humans and animals (e.g., [45,46]) and in human infants (see [32] for review), all the oligosaccharides used here dramatically affected neonatal microbiota in rat pups. This confirms that the prebiotic properties previously demonstrated in adult rodents (e.g., [30,45,46]), also operate in neonatal pups despite the immaturity of the microbiota at this stage of development [37].

In addition to these changes in composition and the reduction in microbiota richness, our neonatal OS supplementations also modified the activity of the microbiota by stimulating the production of acetate and lactate at the expense of that of propionate. This decrease in propionate concentration stands out from what is observed in adult rats, for which GOS and FOS are frequently reported as being particularly stimulating for propionate and/or butyrate production (e.g., [34,47]) and could be related to the known progressive maturation of the microbial capacity to synthesis the different SCFAs in neonates [37,48]. The production of butyrate is therefore barely detectable before the day 16 of life in rats [37]. In any case, the neonatal OS supplementation we performed resulted in microbiota that differed greatly from that of unsupplemented animals, an observation which was a

prerequisite for investigating the ability of neonatal microbiota modulation to program adult eating behavior or gut peptide response.

4.2. OS Supplementation May Stimulate Ileal EECs to Produce GLP-1/PYY While Acting in Feedback on Endocrine Precursors

Our results showed that neonatal OS supplementation had immediate effects on mature ileal GLP-1-cells by increasing the density in villi and the mRNA expression of *Gcg* and *PYY* leading to enhanced plasma concentrations in these two anorectic peptides. These new observations in neonatal rats are consistent with those reported in adult rats for FOS and GOS/In [33,34,49–51] and are, to our knowledge, reported here for the first time for α GOS. In one of these previous studies, this increased production of GLP-1 was related to a higher differentiation of *Neurog3*-expressing EEC progenitors into L-cells in the colon [50]. Here, we demonstrate a drastic down-regulation of endocrine lineage-devoted genes during OS supplementation, mainly in the ileum. This unexpected result is difficult to reconcile as an effect of OS on early endocrine precursors leading to the production of more L-cell subtypes.

Neurog3 marks the endocrine progenitors and is essential for generating new EECs [52]. Post-*neurog3* differentiation and maturation of EECs is controlled by dynamics in transcriptional factors such *Neurod1*, *Pax4* and *Pax6* and many others (*Arx*, *Pdx1*, *Foxa1* and *Foxa2*). The hierarchy of these events is still poorly understood [53] and the extrinsic factors that may interplay remain largely unknown. For this study, the well-known effect of OS prebiotics in stimulating L-cells cannot simply be explained by the impact on endocrine precursors, as suggested in the above-mentioned study [50]. Since we know that *Neurog3* expression is restricted to immature proliferative cells, the decreased in *Neurog3* expression we observed in the ileum may instead reflect a feedback regulation to limit new EEC generation in response to OS supplementation. A similar observation (decreased duodenal *Neurog3* and increased EEC density) was reported in a model of maternal deprivation [26]. These data and our own suggest that the postnatal environment affects the differentiation of EEC precursors but not the proliferation of progenitors, leading to increased EEC density. High levels of circulating GLP-1 have been previously attributed to the increased number of ileal L-cells in *Gcgr*-deleted mice, and this effect involved up-regulation of post-*neurog3* transcription factors, affecting the proliferation of L-cells precursors [54]. Here, the expression of these factors, i.e., *Neurod1*, *Pax4* and *Pax6*, was reduced in OS-supplemented groups with high circulating levels of GLP-1, suggesting a different mechanism in the increased density of L-cells. In this respect, it should be noted that although EECs are still classified according to their major/unique hormone product (as for example GLP-1 for L-cells), it is now acknowledged that EECs are multihormonal [53,55]. In particular, more recent data has demonstrated that mature differentiated EECs display hormonal plasticity, allowing them to change their hormonal products in response to extrinsic factors, such as bone morphogenic proteins (BMP) during their migration along the crypt-villus axis [56,57]. Thus, the increased L-cell density observed here may be the result of the direct effect of OS on this plasticity to produce more GLP-1, independently of early markers of EEC proliferation and differentiation. Interestingly, in this study, the production of CCK—a key early-satiety peptide—was not affected by the OS supplementation at PND14/15 (data not shown) reinforcing the specificity of the effect of OS on EECs in producing GLP-1 and PYY in a segment of gut where CCK is not predominantly produced. How OS can modulate both the identity of EEC subtypes and/or the expression of GI peptides by acting on extrinsic factors (such as villus-produced BMP) needs further investigation.

4.3. What are the Putative Mediators of the Massive Effect of Neonatal OS Supplementation on Ileal L-Cells?

Identification of the small intestine rather than the colon as a privileged site for the action of OS on transcriptional activity has been previously reported in studies involving adult animals [58,59]. Conventionalization of germ-free mice led to similar observations (e.g., [60]). However, a nutritional modulation by OS supplementation may have a different impact on ileal epithelium compared to the absence or presence of microbiota. For example, in the Arora's study [60], conventionalization of

germ-free mice led to the down-regulation of GLP-1 secreting vesicle process in L-cells, whereas we observed an increase in GLP-1 and PYY production. These contrasting results may stem from either inter-individual variability, or more likely the great differences in age between the animals studied.

Nevertheless, our data raise the question of how OS modulation of microbiota could act on ileal L-cells. The well-known capacity of SCFA (mainly butyrate but also propionate or even, non-consensually, acetate) to stimulate PYY and/or GLP-1 production [61–63] seems inconsistent with our observation of an OS-impact mainly localized in the ileum, within the context of no propionate/butyrate synthesis.

Others potential mechanisms include acidification of the luminal milieu or changes in the pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). Zhou et al. [61] showed that changes in pH from 7.5 to 6.5 induce *per se* an increase in *Gcg* expression by STC-1 cells in vitro. Apart from this, it is known that EECs have receptors for PAMPs (i.e., Toll-like receptors) (see [18] for review). This is of particular interest since it has been demonstrated that some bacterial strains elicit GLP-1 secretion through signaling agents of the Toll-like receptor system, as illustrated by the fact that a MyD88 blockade triggers GLP-1 secretion induced by bacteria [64].

4.4. OS impact on Eating Behavior, Usually Observed Simultaneously with Their Consumption, Does Not Seem to Be Programmable

Despite a certain disparity in the literature, possibly related to the heterogeneity in dosage or methodology, several studies have reported the beneficial effect of OS prebiotics—mainly fructans but also α GOS, on the eating habits of healthy adults [65,66] or overweight adults [67,68], such as feelings of reduced hunger, increased satiety or reduced energy consumption. Note that the existing literature does not establish whether this is also true in infants, who are frequently given prebiotic supplements. In concurrence with human data, decreased food/energy intake has been evidenced in adult rodents supplemented with fructans [49,51] or β GOS [34]. In both models, these effects have been related to SCFA production by colonic bacteria during OS supplementation. For each of the 3 main SCFAs, i.e., acetate, propionate and butyrate, it has been demonstrated that they reduce energy intake, particularly in rodent models of diet-induced obesity [69–71], although conflicting results are reported [72], probably dependent on the mode (orogastric [71,72], intraperitoneal [70], intracerebroventricular [70], colonic delivery via fermentable fibers [69,71], etc.) and duration (acute [69,70] vs. chronic [69,72]) of SCFA or SCFA precursors administration. In humans, this hypothesis has been substantiated for both acetate and propionate by numerous studies focusing on appetite-related parameters (see [73] for review) as well as observations of reduced hedonic response to high-energy foods regulated in striatum [74] or reduced energy intake following the administration of propionate precursors in overweight adults [75]. How these SCFA regulate appetite directly at hypothalamic level [70] or via a vagal-dependent mechanism [71,72], whether or not implicating an enhanced intestinal satiety peptide (GLP-1 and PYY) secretion following SCFA interaction with FFAR receptors on L-cells is still a matter of experimental research in animal models and clinical trials in humans [18].

Since the perinatal environment [6,9,24,26] appears to have a long-lasting impact on each of the microbiota-EEC-brain axis actors, we had assumed that early modulation of the microbiota associated with changes in EECs could program eating behavior, a hypothesis which has remained unexplored until now. However, this hypothesis could not be corroborated in this study as adult feeding behavior did not seem to be significantly affected by early supplementation with OS, which nonetheless increased total SCFA, along with increased release of GLP-1 and PYY and L-cell density at the end of supplementation. This lack of eating behavior programming indicates that none of the presupposed events (i.e., programming of EEC or vagal sensitivity and/or microbiota programming) occurred under the test conditions. In fact, no difference in the expression of *c-Fos* was observed in the nucleus of the solitary tract in the rat's brainstem 2 h after administering a bolus of glucose in adult rats (data not shown). It therefore seems that depending on the nature and intensity of the perinatal stressor

(maternal protein restriction [9], maternal deprivation [26] or postnatal modulation of microbiota by OS) the long-lasting impact is not systematic. For the microbiota, the lack of programming could be related to an inadequacy in the timing for applying the modulation, as discussed below.

4.5. *Is Programming of the Microbiota Subject to Particular Timing?*

In this study, we did not observe any programming effect of neonatal OS supplementation on adult microbiota. This result is in line with what we had previously observed for FOS [24] but contradicts the small-scale programming found after neonatal supplementation with GOS/In in this same study. This discrepancy may result from the difference in methods used to analyze the composition of the microbiota, even if it is counterintuitive, since the 16S rDNA sequencing used here is more exhaustive than the qPCR used previously. As this impact was minor, it may also not have been possible to reproduce under our new experimental conditions, i.e., a new batch of animals, a different room at our animal facility, or even a slight difference in the composition of the semi-purified diets we used, since all these parameters are known to affect the microbiota of laboratory animals (see [76] for review).

The disappearance of this nonetheless drastic effect in our animals at the end of supplementation raises the question of what is the most favorable period for sustainable modulation of the composition of the microbiota. In our experimental protocol, prebiotic supplementation was applied for a short postnatal period and ended before the onset of solid food consumption, whereas studies reporting programming effects for early supplementation with OS on the subsequent composition of the microbiota were based on longer-term supplementation, ranging from the prenatal period (i.e., supplementation of gestating mothers) to complete weaning and even beyond [77,78]. Whether the supplementation we applied was either not early enough, not late enough or not for a long enough time is difficult to establish on the sole basis of this comparison. However, in a study by Fujiwara et al. [77], a difference in adult microbiota composition was observed only in mice offspring that were supplemented with FOS beyond weaning. Whether this was also true in the Le Bourgot et al. study [78] cannot be evaluated since all piglets were supplemented with FOS for a few weeks after weaning. From this, it can be assumed that to be lastingly effective, prebiotics must be able to exert their microbial effect after full weaning, thereby controlling the impact of new bacterial sources and changes in dynamics of bacterial populations that result from the switch from maternal milk to solid food. Such a switch has been associated with dramatic changes in microbiota composition and activity both in humans [79] and rats [37]. This hypothesis would explain why the early-life events that are known to affect neonatal microbiota composition (i.e., birth mode, infant feeding etc.) are not associated with significant variations in adult microbiota composition [80], but strict comparisons between the time windows for supplementation are required for this to be validated.

4.6. *All OS Studied Performed Similarly Despite Differences in Their Chemical Characteristics*

In our study, the 3 OS studied led to comparable results in terms of both microbial impact and physiological repercussions. With regard to microbial changes, the observed modifications, in particular the acidification of the contents, the less diversified production of SCFA and the reduced richness of microbiota suggest that OS delays bacterial diversification. This is similar to what is supposed to happen in breast-fed babies compared with babies fed with unsupplemented formula [81]. The similarity is quite surprising in that the chemical nature of the constituent monomers and the pattern of glycoside linkages in different OS products are expected to influence the ability of individual bacteria to grow on them (see [31,82] for reviews). However, our results are consistent with Harris et al.'s findings [83] that the orientation of glycoside linkage is not a main driver of the SCFA production profile. When this chemical difference could act, it would primarily modulate the proportion of butyrate, an SCFA weakly produced in our immature animals. In addition, they also agree with the similarities of microbial impacts reported between β GOS and FOS on the one hand [30], and between α GOS and β GOS on the other [44].

Thus, our study confirms the prebiotic character of α GOS and, in addition, extends the well-known activity of FOS and GOS/In as secretagogues of satiety enteropeptides to this new prebiotic, a finding which is in accordance with the satietogenic effect described in humans [67].

5. Conclusions

In conclusion, our study depicts that the ability of the OS to modulate EECs as previously described in adults also operates in the neonatal period, despite the immaturity of the microbiota at this time. This observation therefore calls into question the nature of the mediators actually involved, as supposed so far. In addition, our in-depth study of the impacts of the OS on the genes regulating the differentiation of EEC precursors queries the current understanding of the ontogenesis of these cells.

Finally, our results do not demonstrate any programming impact of OS either on EECs and food consumption or on the constitution of the adult microbiota. If this holds true for humans, it is reassuring since this study concerns types and dosages of OS mimicking some of those commonly prescribed in formula for toddlers.

Supplementary Materials: The following are available online at <http://www.mdpi.com/2072-6643/11/9/1967/s1>, Figure S1: Postnatal growth of suckling rats in the different groups of OS supplementation, Table S1: Primer sequences, Figure S2: Growth of weaned rats until adulthood, Figure S3: Relative expression of gene implied in the endocrine lineage and in L-cells differentiation in the colon. Figure S4: Supplemental parameters of meal pattern. Figure S5: Hierarchical clustering of phylogenetically informed distance matrix computed using the unweighted UniFrac metric for cecal contents collected at PND 124/126. Table S2: Concentration of SCFA in ileal and cecal contents at PND 124/126.

Author Contributions: C.M., G.L.D. and M.R.-D. conceived and designed the experiments with the help of P.P.; C.M., M.R.-D., G.L.D. and A.-L.P. performed the experiments; A.-L.P., A.P. and I.G. contributed to biological analyses; C.M., G.L.D. and H.B. analyzed the data and prepared figures; G.L.D. and C.M. drafted the manuscript. E.C. and P.P. revised the manuscript.

Funding: The present study was partly funded by OLYGOSE.

Acknowledgments: Authors thank Vincent Paillé and Fanny Morel for their scientific advices; Edith Gouyon, Aurélie Reufflet, Agnès David-Sochard, Martine Rival, Guillaume Poupeau and Elise Beneteau for their technical assistance. They are also grateful to the Genotoul platforms (GetPlaGe, Genotoul-bioinfo and Sigenae, INRA, Toulouse-Midi-Pyrénées, France) for 16S rDNA sequencing and for providing help in computing and storage resources thanks to Galaxy instance.

Conflicts of Interest: The authors declare that they had a financial relationship with the organization that partly sponsored the research. E.C. is employee of Olygose.

Supplementary data

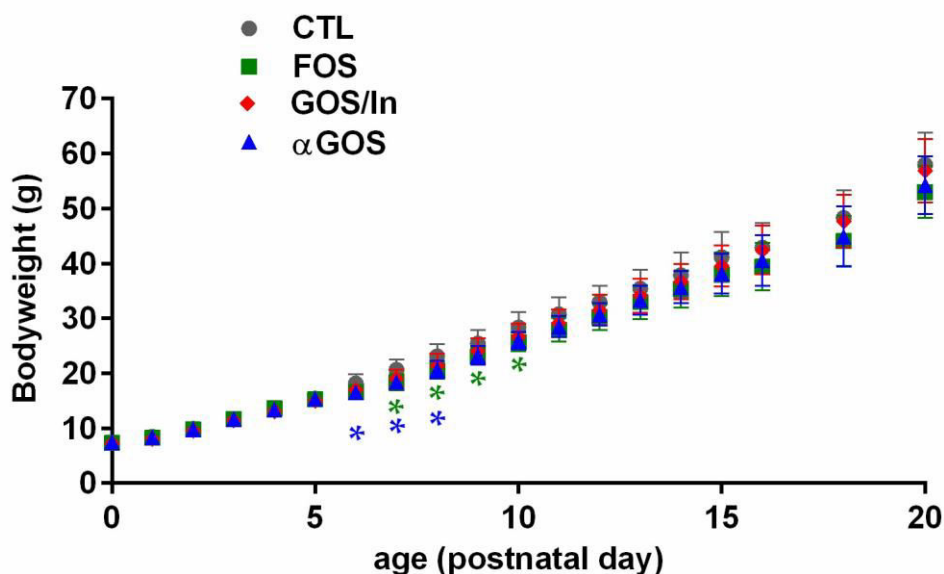


Figure S1. Postnatal growth of suckling rats in the different groups of OS supplementation. Data are means \pm SD collected from the total effective of rats ($n = 15-16$ per group from PND0 to PND14 then $n = 8$ per group). Asterisks indicate significant difference compared with CTL, their color refers to the treatment received between PND 5-14/15.

Table S1. Primer sequences.

Target	Forward Primer	Reverse Primer	Accession Number
<i>β-actin</i>	CTATCGGCAATGAGCGGTTCC	GCACTGTGTTGGCATAGAGGTC	NM_031144
<i>Atoh1</i>	TGTTAGCAACG TGTGACTTC	CAGACCAGAGACAGAGAT ACG	NM_001109238
<i>Gcg</i>	CTAATGCTGGTACAAGGCAG	GTGAATGTGCCCTGTGAATG	NM_012707
<i>Neurod1</i>	CACGCAGAAGGCAAGGTGTC	TGGTCATGTTTCCACTTCCTGT	NM_019218
<i>Foxa1</i>	GTTCCGCACAGGGTTGGATA	CTGACCGGGACAGAGGAGTA	NM_012742
<i>Neurog3</i>	Not available	Not available	NM_021700
<i>Pax4</i>	CCCAAGGGTATTGGGGGAAG	GGATACACTGGGAGCCTTGTC	NM_031799
<i>Pax6</i>	ATACCTACACCCTCCGCAC	TGAGTCCTGTTGAAGTGGTTCC	NM_013001
<i>PYY</i>	AGCGGTATGGGAAAAGAGAAGTC	ACCACTGGTCCACACCTTCTG	NM_001034080

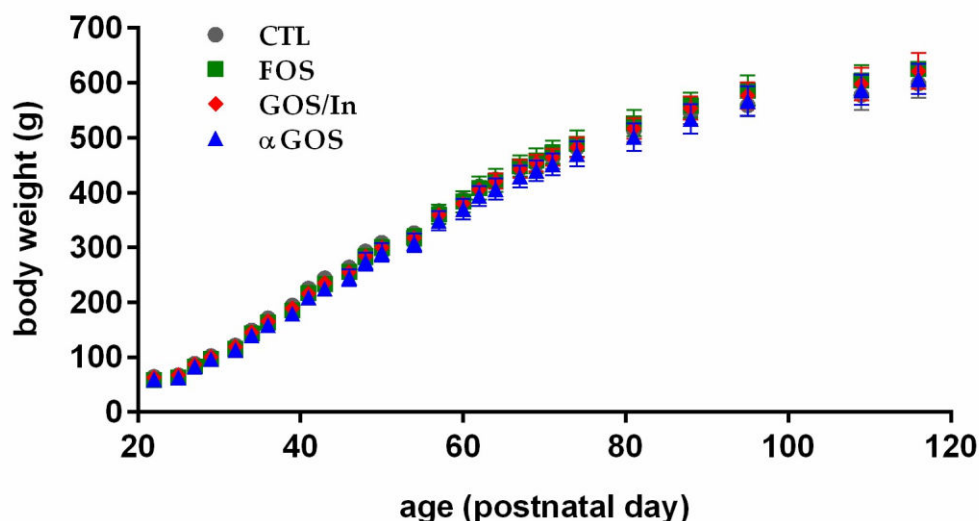


Figure S2. Growth of weaned rats until adulthood. Data are means \pm SD ($n = 8$ per group).

Table S2. Concentration of SCFA in ileal and cecal contents at PND 124/126. . ND, non-detectable. Data are means \pm SD ($n = 8$ per groups).

Treatment	Ileal Concentrations (mM)			Ceco-Colonic Concentrations (mM)			
	Acetate	Propionate	Butyrate	Acetate	Propionate	Butyrate	Minors
CTL	2.1 \pm 1.0	0.1 \pm 0.1	ND ¹	13.5 \pm 3.3	3.5 \pm 0.8	2.7 \pm 1.1	1.4 \pm 0.5
FOS	2.2 \pm 1.6	0.1 \pm 0.1	ND	11.1 \pm 1.9	2.9 \pm 0.5	2.1 \pm 0.7	1.2 \pm 0.2
GOS/In	2.7 \pm 1.5	0.2 \pm 0.2	ND	11.7 \pm 3.1	3.3 \pm 0.9	1.9 \pm 0.7	1.3 \pm 0.5
α GOS	2.9 \pm 1.4	0.1 \pm 0.1	ND	10.7 \pm 1.9	2.9 \pm 0.5	1.7 \pm 0.5	1.2 \pm 0.3

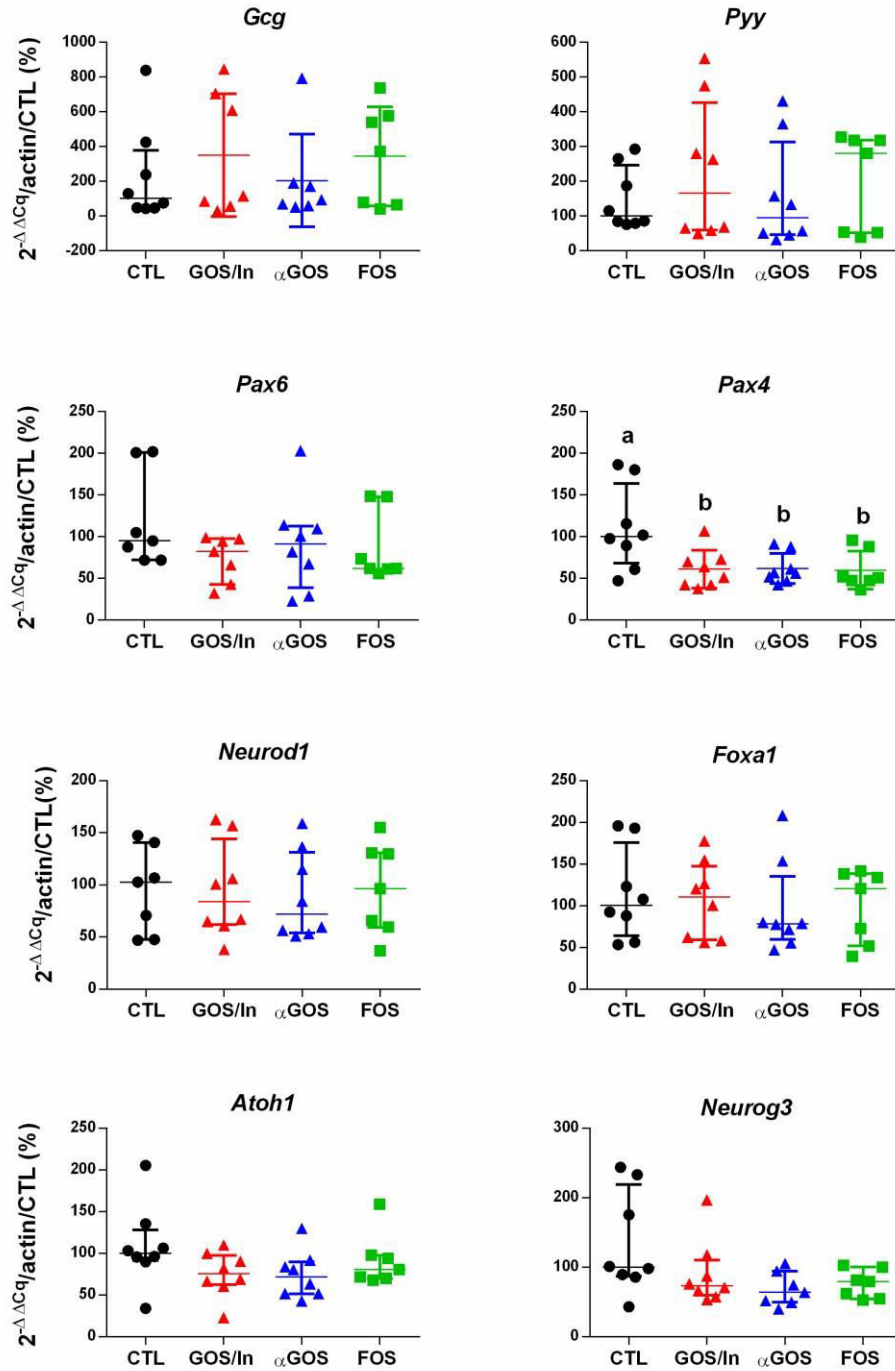


Figure S3. Relative expression of gene implied in the endocrine lineage and in L-cells differentiation in the colon. Different letters indicate significant difference between groups ($p < 0.05$). Data are foldchange expressed in % of CTL group. Individual values, median with interquartile range are plotted ($n = 7$ to 8 per group).

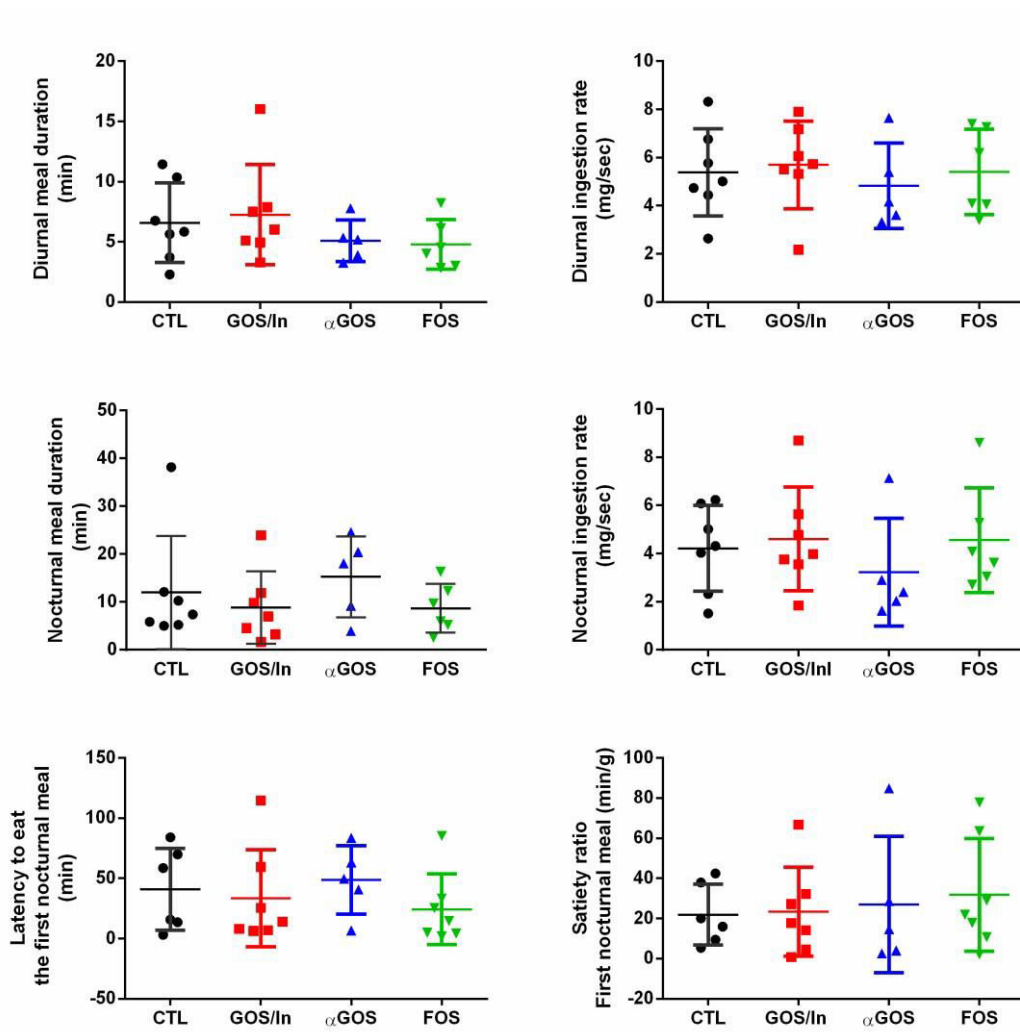


Figure S4. Supplemental parameters of meal pattern: meal duration and ingestion rate (mean of total meals per phase) during the diurnal and nocturnal phases. Latency to eat and satiety ratio are represented for the first meal at the beginning of the nocturnal phase. Individuals, means and SD are plotted ($n = 5$ to 7 per group).

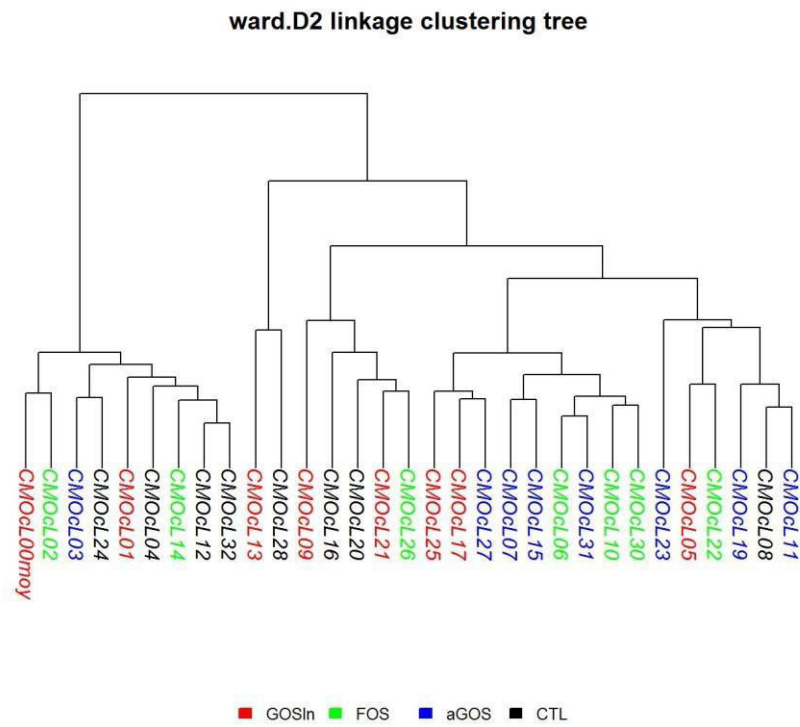


Figure S5. Hierarchical clustering of phylogenetically informed distance matrix computed using the unweighted UniFrac metric for *cecal* contents collected at PND 124/126.

References

1. Lindsay, A.C.; Sittisongkram, S.; Greaney, M.L.; Wallington, S.F.; Ruengdej, P. Non-Responsive Feeding Practices, Unhealthy Eating Behaviors, and Risk of Child Overweight and Obesity in Southeast Asia: A Systematic Review. *Int. J. Env. Res. Public Health* **2017**, *14*, 436. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. MacLean, P.S.; Blundell, J.E.; Mennella, J.A.; Batterham, R.L. Biological control of appetite: A daunting complexity. *Obesity* **2017**, *25*, S8–S16. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Berthoud, H.-R.; Sutton, G.M.; Townsend, R.L.; Patterson, L.M.; Zheng, H. Brainstem mechanisms integrating gut-derived satiety signals and descending forebrain information in the control of meal size. *Physiol. Behav.* **2006**, *89*, 517–524. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Gaetani, S.; Romano, A.; Provensi, G.; Ricca, V.; Lutz, T.; Passani, M.B. Eating disorders: From bench to bedside and back. *J. Neurochem.* **2016**, *139*, 691–699. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Cripps, R.L.; Martin-Gronert, M.S.; Ozanne, S.E. Fetal and perinatal programming of appetite. *Clin. Sci.* **2005**, *109*, 1–11. [[CrossRef](#)]
6. Ross, M.G.; Desai, M. Developmental programming of appetite/satiety. *Ann. Nutr. Metab.* **2014**, *64*, 36–44. [[CrossRef](#)]
7. Desai, M.; Gayle, D.; Han, G.; Ross, M.G. Programmed hyperphagia due to reduced anorexigenic mechanisms in intrauterine growth-restricted offspring. *Reprod. Sci.* **2007**, *14*, 329–337. [[CrossRef](#)]
8. Coupé, B.; Delamaire, E.; Hoebler, C.; Grit, I.; Even, P.; Fromentin, G.; Darmaun, D.; Parnet, P. Hypothalamus integrity and appetite regulation in low birth weight rats reared artificially on a high-protein milk formula. *J. Nutr. Biochem.* **2011**, *22*, 956–963. [[CrossRef](#)]
9. Ndjim, M.; Poinsignon, C.; Parnet, P.; Le Dréan, G. Loss of Vagal Sensitivity to Cholecystokinin in Rats Born with Intrauterine Growth Retardation and Consequence on Food Intake. *Front. Endocrinol.* **2017**, *8*, 65. [[CrossRef](#)]
10. Martin Agnoux, A.; Alexandre-Gouabau, M.-C.; Le Dréan, G.; Antignac, J.-P.; Parnet, P. Relative contribution of foetal and post-natal nutritional periods on feeding regulation in adult rats. *Acta Physiol.* **2014**, *210*, 188–201. [[CrossRef](#)]
11. Van Deutekom, A.W.; Chinapaw, M.J.M.; Jansma, E.P.; Vrijkotte, T.G.M.; Gemke, R.J.B.J. The Association of Birth Weight and Infant Growth with Energy Balance-Related Behavior—A Systematic Review and Best-Evidence Synthesis of Human Studies. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0168186. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Lussana, F.; Painter, R.C.; Ocke, M.C.; Buller, H.R.; Bossuyt, P.M.; Roseboom, T.J. Prenatal exposure to the Dutch famine is associated with a preference for fatty foods and a more atherogenic lipid profile. *Am. J. Clin. Nutr.* **2008**, *88*, 1648–1652. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Perälä, M.-M.; Männistö, S.; Kaartinen, N.E.; Kajantie, E.; Osmond, C.; Barker, D.J.P.; Valsta, L.M.; Eriksson, J.G. Body size at birth is associated with food and nutrient intake in adulthood. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e46139. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. van Deutekom, A.W.; Chinapaw, M.J.M.; Vrijkotte, T.G.M.; Gemke, R.J.B.J. The association of birth weight and postnatal growth with energy intake and eating behavior at 5 years of age—A birth cohort study. *Int. J. Behav. Nutr. Phys. Act.* **2016**, *13*, 15. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. De Cosmi, V.; Scaglioni, S.; Agostoni, C. Early Taste Experiences and Later Food Choices. *Nutrients* **2017**, *9*, 107. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Reimer, R.A.; McBurney, M.I. Dietary fiber modulates intestinal proglucagon messenger ribonucleic acid and postprandial secretion of glucagon-like peptide-1 and insulin in rats. *Endocrinology* **1996**, *137*, 3948–3956. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Kok, N.N.; Morgan, L.M.; Williams, C.M.; Roberfroid, M.B.; Thissen, J.P.; Delzenne, N.M. Insulin, glucagon-like peptide 1, glucose-dependent insulinotropic polypeptide and insulin-like growth factor I as putative mediators of the hypolipidemic effect of oligofructose in rats. *J. Nutr.* **1998**, *128*, 1099–1103. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Van de Wouw, M.; Schellekens, H.; Dinan, T.G.; Cryan, J.F. Microbiota-Gut-Brain Axis: Modulator of Host Metabolism and Appetite. *J. Nutr.* **2017**, *147*, 727–745. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Glenny, E.M.; Bulik-Sullivan, E.C.; Tang, Q.; Bulik, C.M.; Carroll, I.M. Eating Disorders and the Intestinal Microbiota: Mechanisms of Energy Homeostasis and Behavioral Influence. *Curr. Psych. Rep.* **2017**, *19*, 51. [[CrossRef](#)]
20. Morita, C.; Tsuji, H.; Hata, T.; Gondo, M.; Takakura, S.; Kawai, K.; Yoshihara, K.; Ogata, K.; Nomoto, K.; Miyazaki, K.; et al. Gut Dysbiosis in Patients with Anorexia Nervosa. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0145274. [[CrossRef](#)]

21. Rabot, S.; Membrez, M.; Bruneau, A.; Gérard, P.; Harach, T.; Moser, M.; Raymond, F.; Mansourian, R.; Chou, C.J. Germ-free C57BL/6J mice are resistant to high-fat diet-induced insulin resistance and have altered cholesterol metabolism. *FASEB. J.* **2010**, *24*, 4948–4959. [CrossRef] [PubMed]
22. Cani, P.D.; Neyrinck, A.M.; Maton, N.; Delzenne, N.M. Oligofructose promotes satiety in rats fed a high-fat diet: Involvement of glucagon-like Peptide-1. *Obes. Res.* **2005**, *13*, 1000–1007. [CrossRef] [PubMed]
23. Maurer, A.D.; Chen, Q.; McPherson, C.; Reimer, R.A. Changes in satiety hormones and expression of genes involved in glucose and lipid metabolism in rats weaned onto diets high in fibre or protein reflect susceptibility to increased fat mass in adulthood. *J. Physiol.* **2009**, *587*, 679–691. [CrossRef] [PubMed]
24. Morel, F.B.; Oozeer, R.; Piloquet, H.; Moyon, T.; Pagniez, A.; Knol, J.; Darmaun, D.; Michel, C. Preweaning modulation of intestinal microbiota by oligosaccharides or amoxicillin can contribute to programming of adult microbiota in rats. *Nutrition* **2015**, *31*, 515–522. [CrossRef] [PubMed]
25. Williams, S.; Chen, L.; Savignac, H.M.; Tzortzis, G.; Anthony, D.C.; Burnet, P.W.J. Neonatal prebiotic (BGOS) supplementation increases the levels of synaptophysin, GluN2A-subunits and BDNF proteins in the adult rat hippocampus. *Synapse* **2016**, *70*, 121–124. [CrossRef] [PubMed]
26. Estienne, M.; Claustre, J.; Clain-Gardechaux, G.; Paquet, A.; Taché, Y.; Fioramonti, J.; Plaisancié, P. Maternal deprivation alters epithelial secretory cell lineages in rat duodenum: Role of CRF-related peptides. *Gut* **2010**, *59*, 744–751. [CrossRef] [PubMed]
27. Mischke, M.; Plösch, T. More than just a gut instinct—the potential interplay between a baby’s nutrition, its gut microbiome, and the epigenome. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **2013**, *304*, R1065–R1069. [CrossRef]
28. Forsberg, H. Microbiome programming of brain development: Implications for neurodevelopmental disorders. *Dev. Med. Child. Neurol.* **2019**, *61*, 744–749. [CrossRef]
29. Savignac, H.M.; Couch, Y.; Stratford, M.; Bannerman, D.M.; Tzortzis, G.; Anthony, D.C.; Burnet, P.W.J. Prebiotic administration normalizes lipopolysaccharide (LPS)-induced anxiety and cortical 5-HT_{2A} receptor and IL1- β levels in male mice. *Brain Behav. Immun.* **2016**, *52*, 120–131. [CrossRef]
30. Burokas, A.; Arboleya, S.; Moloney, R.D.; Peterson, V.L.; Murphy, K.; Clarke, G.; Stanton, C.; Dinan, T.G.; Cryan, J.F. Targeting the Microbiota-Gut-Brain Axis: Prebiotics Have Anxiolytic and Antidepressant-like Effects and Reverse the Impact of Chronic Stress in Mice. *Biol. Psych.* **2017**, *82*, 472–487. [CrossRef]
31. Macfarlane, G.T.; Steed, H.; Macfarlane, S. Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. *J. Appl. Microbiol.* **2008**, *104*, 305–344. [CrossRef]
32. Skórka, A.; Piesćik-Lech, M.; Kołodziej, M.; Szajewska, H. Infant formulae supplemented with prebiotics: Are they better than unsupplemented formulae? An updated systematic review. *Br. J. Nutr.* **2018**, *119*, 810–825. [CrossRef]
33. Delzenne, N.M.; Cani, P.D.; Neyrinck, A.M. Modulation of glucagon-like peptide 1 and energy metabolism by inulin and oligofructose: Experimental data. *J. Nutr.* **2007**, *137*, 2547S–2551S. [CrossRef]
34. Overduin, J.; Schoterman, M.H.C.; Calame, W.; Schonewille, A.J.; Ten Bruggencate, S.J.M. Dietary galactooligosaccharides and calcium: Effects on energy intake, fat-pad weight and satiety-related, gastrointestinal hormones in rats. *Br. J. Nutr.* **2013**, *109*, 1338–1348. [CrossRef]
35. Sabater, C.; Prodanov, M.; Olano, A.; Corzo, N.; Montilla, A. Quantification of prebiotics in commercial infant formulas. *Food Chem.* **2016**, *194*, 6–11. [CrossRef]
36. Silva, M.T. Saccharin aversion in the rat following adrenalectomy. *Physiol. Behav.* **1977**, *19*, 239–244. [CrossRef]
37. Faça-Berthon, P.; Hoebler, C.; Mouzet, E.; David, A.; Michel, C. Intrauterine growth restriction not only modifies the cecocolonic microbiota in neonatal rats but also affects its activity in young adult rats. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2010**, *51*, 402–413. [CrossRef]
38. Caporaso, J.G.; Lauber, C.L.; Walters, W.A.; Berg-Lyons, D.; Lozupone, C.A.; Turnbaugh, P.J.; Fierer, N.; Knight, R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 4516–4522. [CrossRef]
39. Escudié, F.; Auer, L.; Bernard, M.; Mariadassou, M.; Cauquil, L.; Vidal, K.; Maman, S.; Hernandez-Raquet, G.; Combes, S.; Pascal, G. FROGS: Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution. *Bioinformatics* **2018**, *34*, 1287–1294. [CrossRef]
40. R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2018; Available online: <https://www.R-project.org/> (accessed on 10 May 2019).
41. Sample, C.H.; Davidson, T.L. Considering sex differences in the cognitive controls of feeding. *Physiol. Behav.* **2018**, *187*, 97–107. [CrossRef]

42. Pueta, M.; Abate, P.; Haymal, O.B.; Spear, N.E.; Molina, J.C. Ethanol exposure during late gestation and nursing in the rat: Effects upon maternal care, ethanol metabolism and infantile milk intake. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2008**, *91*, 21–31. [CrossRef]
43. Sevrin, T.; Alexandre-Gouabau, M.C.; Darmaun, D.; Palvadeau, A.; André, A.; Nguyen, P.; Ouguerram, K.; Boquien, C.Y. Use of water turnover method to measure mother's milk flow in a rat model: Application to dams receiving a low protein diet during gestation and lactation. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0180550. [CrossRef]
44. Fehlbaum, S.; Prudence, K.; Kieboom, J.; Heerikhuisen, M.; van den Broek, T.; Schuren, F.H.J.; Steinert, R.E.; Raederstorff, D. In Vitro Fermentation of Selected Prebiotics and Their Effects on the Composition and Activity of the Adult Gut Microbiota. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 3097. [CrossRef]
45. Liu, F.; Li, P.; Chen, M.; Luo, Y.; Prabhakar, M.; Zheng, H.; He, Y.; Qi, Q.; Long, H.; Zhang, Y.; et al. Fructooligosaccharide (FOS) and Galactooligosaccharide (GOS) Increase Bifidobacterium but Reduce Butyrate Producing Bacteria with Adverse Glycemic Metabolism in healthy young population. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 11789. [CrossRef]
46. Wang, L.; Hu, L.; Yan, S.; Jiang, T.; Fang, S.; Wang, G.; Zhao, J.; Zhang, H.; Chen, W. Effects of different oligosaccharides at various dosages on the composition of gut microbiota and short-chain fatty acids in mice with constipation. *Food Funct.* **2017**, *8*, 1966–1978. [CrossRef]
47. Le Blay, G.; Michel, C.; Blottière, H.M.; Cherbut, C. Prolonged intake of fructo-oligosaccharides induces a short-term elevation of lactic acid-producing bacteria and a persistent increase in cecal butyrate in rats. *J. Nutr.* **1999**, *129*, 2231–2235. [CrossRef]
48. Midtvedt, A.C.; Midtvedt, T. Production of short chain fatty acids by the intestinal microflora during the first 2 years of human life. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **1992**, *15*, 395–403. [CrossRef]
49. Cani, P.D.; Dewever, C.; Delzenne, N.M. Inulin-type fructans modulate gastrointestinal peptides involved in appetite regulation (glucagon-like peptide-1 and ghrelin) in rats. *Br. J. Nutr.* **2004**, *92*, 521–526. [CrossRef]
50. Cani, P.D.; Hoste, S.; Guiot, Y.; Delzenne, N.M. Dietary non-digestible carbohydrates promote L-cell differentiation in the proximal colon of rats. *Br. J. Nutr.* **2007**, *98*, 32–37. [CrossRef]
51. Parnell, J.A.; Reimer, R.A. Prebiotic fibres dose-dependently increase satiety hormones and alter Bacteroidetes and Firmicutes in lean and obese JCR:LA-cp rats. *Br. J. Nutr.* **2012**, *107*, 601–613. [CrossRef]
52. Li, H.J.; Ray, S.K.; Singh, N.K.; Johnston, B.; Leiter, A.B. Basic helix-loop-helix transcription factors and enteroendocrine cell differentiation. *Diabetes Obes. Metab.* **2011**, *13*, 5–12. [CrossRef]
53. Engelstoft, M.S.; Egerod, K.L.; Lund, M.L.; Schwartz, T.W. Enteroendocrine cell types revisited. *Curr. Opin. Pharm.* **2013**, *13*, 912–921. [CrossRef]
54. Grigoryan, M.; Kedees, M.H.; Charron, M.J.; Guz, Y.; Teitelman, G. Regulation of mouse intestinal L cell progenitors proliferation by the glucagon family of peptides. *Endocrinology* **2012**, *153*, 3076–3088. [CrossRef]
55. Habib, A.M.; Richards, P.; Cairns, L.S.; Rogers, G.J.; Bannon, C.A.M.; Parker, H.E.; Morley, T.C.E.; Yeo, G.S.H.; Reimann, F.; Gribble, F.M. Overlap of endocrine hormone expression in the mouse intestine revealed by transcriptional profiling and flow cytometry. *Endocrinology* **2012**, *153*, 3054–3065. [CrossRef]
56. Beumer, J.; Artegiani, B.; Post, Y.; Reimann, F.; Gribble, F.; Nguyen, T.N.; Zeng, H.; Van den Born, M.; Van Es, J.H.; Clevers, H. Enteroendocrine cells switch hormone expression along the crypt-to-villus BMP signalling gradient. *Nat. Cell Biol.* **2018**, *20*, 909–916. [CrossRef]
57. Gehart, H.; van Es, J.H.; Hamer, K.; Beumer, J.; Kretschmar, K.; Dekkers, J.F.; Rios, A.; Clevers, H. Identification of Enteroendocrine Regulators by Real-Time Single-Cell Differentiation Mapping. *Cell* **2019**, *176*, 1158–1173.e16. [CrossRef]
58. Everard, A.; Lazarevic, V.; Derrien, M.; Girard, M.; Muccioli, G.G.; Muccioli, G.M.; Neyrinck, A.M.; Possemiers, S.; Van Holle, A.; François, P.; et al. Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice. *Diabetes* **2011**, *60*, 2775–2786. [CrossRef]
59. Cani, P.D.; Possemiers, S.; Van de Wiele, T.; Guiot, Y.; Everard, A.; Rottier, O.; Geurts, L.; Naslain, D.; Neyrinck, A.; Lambert, D.M.; et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut* **2009**, *58*, 1091–1103. [CrossRef]
60. Arora, T.; Akrami, R.; Pais, R.; Bergqvist, L.; Johansson, B.R.; Schwartz, T.W.; Reimann, F.; Gribble, F.M.; Bäckhed, F. Microbial regulation of the L cell transcriptome. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 1207. [CrossRef]

61. Zhou, J.; Martin, R.J.; Tulley, R.T.; Raggio, A.M.; McCutcheon, K.L.; Shen, L.; Danna, S.C.; Tripathy, S.; Hegsted, M.; Keenan, M.J. Dietary resistant starch upregulates total GLP-1 and PYY in a sustained day-long manner through fermentation in rodents. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2008**, *295*, E1160–E1166. [[CrossRef](#)]
62. Tolhurst, G.; Heffron, H.; Lam, Y.S.; Parker, H.E.; Habib, A.M.; Diakogiannaki, E.; Cameron, J.; Grosse, J.; Reimann, F.; Gribble, F.M. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes* **2012**, *61*, 364–371. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Larraufie, P.; Martin-Gallausiaux, C.; Lapaque, N.; Dore, J.; Gribble, F.M.; Reimann, F.; Blottiere, H.M. SCFAs strongly stimulate PYY production in human enteroendocrine cells. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 74. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Panwar, H.; Calderwood, D.; Gillespie, A.L.; Wylie, A.R.; Graham, S.F.; Grant, I.R.; Grover, S.; Green, B.D. Identification of lactic acid bacteria strains modulating incretin hormone secretion and gene expression in enteroendocrine cells. *J. Funct. Foods* **2016**, *23*, 348–358. [[CrossRef](#)]
65. Cani, P.D.; Lecourt, E.; Dewulf, E.M.; Sohet, F.M.; Pachikian, B.D.; Naslain, D.; De Backer, F.; Neyrinck, A.M.; Delzenne, N.M. Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. *Am. J. Clin. Nutr.* **2009**, *90*, 1236–1243. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Pedersen, C.; Lefevre, S.; Peters, V.; Patterson, M.; Ghatei, M.A.; Morgan, L.M.; Frost, G.S. Gut hormone release and appetite regulation in healthy non-obese participants following oligofructose intake. A dose-escalation study. *Appetite* **2013**, *66*, 44–53. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Morel, F.B.; Dai, Q.; Ni, J.; Thomas, D.; Parnet, P.; Faça-Berthon, P. α -Galacto-oligosaccharides Dose-Dependently Reduce Appetite and Decrease Inflammation in Overweight Adults. *J. Nutr.* **2015**, *145*, 2052–2059. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
68. Reimer, R.A.; Willis, H.J.; Tunnicliffe, J.M.; Park, H.; Madsen, K.L.; Soto-Vaca, A. Inulin-type fructans and whey protein both modulate appetite but only fructans alter gut microbiota in adults with overweight/obesity: A randomized controlled trial. *Mol. Nutr Food Res.* **2017**, *61*. [[CrossRef](#)]
69. Lin, H.V.; Frassetto, A.; Kowalik, E.J., Jr.; Nawrocki, A.R.; Lu, M.M.; Kosinski, J.R.; Hubert, J.A.; Szeto, D.; Yao, X.; Forrest, G.; et al. Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e35240. [[CrossRef](#)]
70. Frost, G.; Sleeth, M.L.; Sahuri-Arisoylu, M.; Lizarbe, B.; Cerdan, S.; Brody, L.; Anastasovska, J.; Ghourab, S.; Hankir, M.; Zhang, S.; et al. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 3611. [[CrossRef](#)]
71. Li, Z.; Yi, C.X.; Katiraei, S.; Kooijman, S.; Zhou, E.; Chung, C.K.; Gao, Y.; van den Heuvel, J.K.; Meijer, O.C.; Berbée, J.F.P.; et al. Butyrate reduces appetite and activates brown adipose tissue via the gut-brain neural circuit. *Gut* **2018**, *67*, 1269–1279. [[CrossRef](#)]
72. Perry, R.J.; Peng, L.; Barry, N.A.; Cline, G.W.; Zhang, D.; Cardone, R.L.; Petersen, K.F.; Kibbey, R.G.; Goodman, A.L.; Shulman, G.I. Acetate mediates a microbiome-brain- β -cell axis to promote metabolic syndrome. *Nature* **2016**, *534*, 213–217. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
73. Darzi, J.; Frost, G.S.; Robertson, M.D. Do SCFA have a role in appetite regulation? *Proc. Nutr. Soc.* **2011**, *70*, 119–128. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Byrne, C.S.; Chambers, E.S.; Alhabeed, H.; Chhina, N.; Morrison, D.J.; Preston, T.; Tedford, C.; Fitzpatrick, J.; Irani, C.; Busza, A.; et al. Increased colonic propionate reduces anticipatory reward responses in the human striatum to high-energy foods. *Am. J. Clin. Nutr.* **2016**, *104*, 5–14. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Chambers, E.S.; Viardot, A.; Psichas, A.; Morrison, D.J.; Murphy, K.G.; Zac-Varghese, S.E.K.; MacDougall, K.; Preston, T.; Tedford, C.; Finlayson, G.S.; et al. Effects of targeted delivery of propionate to the human colon on appetite regulation, body weight maintenance and adiposity in overweight adults. *Gut* **2015**, *64*, 1744–1754. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
76. Tomas, J.; Langella, P.; Cherbuy, C. The intestinal microbiota in the rat model: Major breakthroughs from new technologies. *Anim. Health Res. Rev.* **2012**, *13*, 54–63. [[CrossRef](#)]
77. Fujiwara, R.; Takemura, N.; Watanabe, J.; Sonoyama, K. Maternal consumption of fructo-oligosaccharide diminishes the severity of skin inflammation in offspring of NC/Nga mice. *Br. J. Nutr.* **2010**, *103*, 530–538. [[CrossRef](#)]
78. Le Bourgot, C.; Ferret-Bernard, S.; Apper, E.; Taminiau, B.; Cahu, A.; Le Normand, L.; Respondek, F.; Le Huërou-Luron, I.; Blat, S. Perinatal short-chain fructooligosaccharides program intestinal microbiota and improve enteroinsular axis function and inflammatory status in high-fat diet-fed adult pigs. *FASEB J.* **2019**, *33*, 301–313. [[CrossRef](#)]

79. Koenig, J.E.; Spor, A.; Scalfone, N.; Fricker, A.D.; Stombaugh, J.; Knight, R.; Angenent, L.T.; Ley, R.E. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 4578–4585. [[CrossRef](#)]
80. Falony, G.; Joossens, M.; Vieira-Silva, S.; Wang, J.; Darzi, Y.; Faust, K.; Kurilshikov, A.; Bonder, M.J.; Valles-Colomer, M.; Vandeputte, D.; et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science* **2016**, *352*, 560–564. [[CrossRef](#)]
81. Mackie, R.I.; Sghir, A.; Gaskins, H.R. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am. J. Clin. Nutr.* **1999**, *69*, 1035S–1045S. [[CrossRef](#)]
82. Louis, P.; Flint, H.J.; Michel, C. How to Manipulate the Microbiota: Prebiotics. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2016**, *902*, 119–142. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
83. Harris, H.C.; Edwards, C.A.; Morrison, D.J. Impact of Glycosidic Bond Configuration on Short Chain Fatty Acid Production from Model Fermentable Carbohydrates by the Human Gut Microbiota. *Nutrients* **2017**, *9*, 26. [[CrossRef](#)]



© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Chapitre 5

Le transfert direct de bactéries maternelles influence le comportement alimentaire à l'âge adulte

Maternal microbiota transfer programs offspring eating behaviour

A-L Pocheron¹, G. Le Dréan¹, H. Billard¹, T. Moyon¹, A. Pagniez¹, B. Castellano¹, A. David-Sochard¹, I. Grit¹, M. Rival¹, C. Michel¹, P. Parnet^{1*}

¹ Nantes Université, INRAE, UMR 1280, PhAN, F-44000 Nantes, France

* Correspondence: patricia.parnet@univ-nantes.fr

In preparation for Frontiers in Microbiology

Article collection: Establishment of the microbiota in the context of DOHaD:

Long-term health consequences and possible management.

ABSTRACT

Obesity remains a major public health problem, as its prevalence is still increasing especially among 18-24 year olds. It is of particular concern as being born to an obese mother increases the child's risk of developing excessive adiposity. Understanding the determinants of childhood obesity is a prerequisite for designing effective prevention strategies. The composition of the gut microbiota has been tentatively correlated with obesity as it has been linked to alterations in host feeding behaviour and metabolic functions in several studies. How the microbiota influences host feeding behaviour is not yet explained, but it is clear that dysbiosis and eating habits are often associated. Maternal microbiota is the main determinant of intestinal colonization of the infant and comes at a time when the brain circuits are in full development. We therefore investigated the potential role of maternal microbiota as a pathway for transmitting the risk of eating disorders to the child, based on the assumption that the transmission of a modified microbiota from an obese mother to new-born pups could have an impact on eating behaviour. To test our hypothesis, we collected faecal, vaginal and milk-associated microbiota from obese prone (OP) / obese-resistant (OR) rat dams before transferring them to Fisher pups in order to get three groups (F-OP, F-OR and F-Sham (receiving stock solution)) and compare their growth and their eating behaviour from birth to adulthood. Metabolic markers and food intake varied between OP and OR dams when fed a high energy diet, as the composition of their microbiota, through gestation and lactation. Inocula transfer at birth induced differences in pup intestinal microbiota composition at weaning, and a higher-risk eating behaviour at adulthood for females and males which received OP

bacteria. This study supports the hypothesis that the composition of neonatal intestinal microbiota could influence eating behaviour at adulthood. However, this influence was not exerted by a programming of gut microbiota nor by the modulation of the metabolism, but is related to modifications of various aspects of eating behaviour. This suggests some modifications in the development of brain circuits and gut-brain axis that need to be studied more thoroughly.

keywords: 16S rDNA sequencing, maternal influence, microbiota establishment, food motivation, food preference

1. INTRODUCTION

Obesity remains a major public health concern since its prevalence is still on the rise in specific age groups, particularly in the 18-24 year-old (WHO, 2018), and a third of French women of childbearing age are either overweight or obese (Matta et al., 2016). Obesity in this age range is of particular concern since there is overwhelming evidence that being born to an obese mother increases the risk for the child to develop excessive adiposity (Conolly and Davies, 2018; Juonala et al., 2019). Infant weight and weight gain during infancy are important factors in the subsequent development of obesity: an overweight child is more likely to develop obesity later in adulthood (Ward et al., 2017) and thus to develop various chronic diseases, which are associated with excess of adiposity such as diabetes or cardiovascular disease (GBD 2015 Obesity Collaborators et al., 2017), and eventually expose them to a higher risk of death (Abdelaal et al., 2017). Understanding the determinants of child obesity is a prerequisite for the design of successful preventive strategies.

The gut microbiota composition (Ridaura et al., 2013) or its gene richness (Le Chatelier et al., 2013; Aron-Wisnewsky et al., 2019) have been tentatively correlated with obesity. However, metabolic improvement is not always correlated to changes in microbiota gene richness (Aron-Wisnewsky et al., 2019) and changes in microbiota composition, although associated to reduction in adipose tissue after bariatric surgery, is not always associated with metabolic health improvement (Brahe et al., 2015; Dao et al., 2019). The gut microbiota is involved in several host metabolic functions (Marteau and Doré, 2017) by improving energy yields from food (Flint et al., 2012; Wasielewski et al., 2016), modulating dietary or energy balance (Heiss et Olofsson, 2018), and participating to adipose tissue accretion (Bäckhed et al., 2004, 2007; Le Roy et al., 2019). Intestinal microbiota has been linked to host eating behaviour in several studies. Germ-free mice show an increased food intake compared to conventional ones (Bäckhed et al., 2004)

demonstrating that microbiota may play a significant role in appetite or eating regulation. Again in germ-free rodents, the transfer of microbiota associated to obesity induces hyperphagia in mice (Vijay-Kumar et al., 2010), or the administration of intestinal *Escherichia coli* ClpB protein decreases food intake in mice (Breton et al., 2016a). The lack of microbiota in germ-free mice is associated with an altered expression of several genes involved in food intake regulation, as *bdnf* or *gcg* (Heijtz et al., 2011b; Schéle et al., 2013c) or the hypothalamic inhibitory factor receptor GABA-R, whose expression is restored by *Lactobacillus* supplementation (Bravo et al., 2012). Recently, the balance between limbic and hypothalamic genes expression involved in food reward and food intake have been shown to be modified after prebiotic supplementation (Delbès et al., 2018a). However, data on how microbiota can influence host eating behaviour are scarce, even if dysbiosis and eating habits often co-occurred (Jakobsdottir et al., 2014).

Maternal microbiota is the main determinant of infant gut colonization (Mueller et al., 2015a; Butel et al., 2017a). Bacterial colonization of the human sterile gut begins during passage through the birth canal and evolves rapidly during the first months of life to achieve an adult-like richness and diversity around 3 years (Derrien et al., 2019b). Although a systematic sharing of bacterial strains from maternal vaginal microbiota to infant gut is hardly evidenced (Matsumiya et al., 2002; Martín et al., 2007a), the alterations of intestinal microbiota composition observed in both human and rodents offspring born after Caesarean section (Dominguez-Bello et al., 2016b; Martinez et al., 2017b) testifies of the importance of the vaginal microbiota. This apparent discrepancy illustrates the fact that the final composition of infant intestinal microbiota is not a strict reflection of the early settlers but is determined by them (Eggesbø et al., 2011; Scholtens et al., 2012). Second, breast milk microbiota (Cabrera-Rubio et al., 2012b; Boix-Amorós et al., 2016b) is another natural source of bacteria for infant gut colonization. In this case, vertical transfer has been demonstrated (Martín et al., 2012; Jost et al., 2014b). And finally, mother intestinal microbiota is also regarded as an initial bacterial inoculum for infant gut colonization (Grönlund et al., 2011), either through contact during delivery or because milk microbiota could originate from intestinal microbiota (Fernández et al., 2013b). Few studies revealed that neonatal modulation of gut microbiota has long lasting effects on behaviour, as alterations in social behaviour at adolescence that can be prevented by early *Lactobacillus* supplementation (Leclercq et al., 2017a) in mice, or on lipid hepatic metabolism and fat mass when antibiotherapy has been applied from weaning to 10 weeks of age (Cho et al., 2012). Such studies are however scarce and the ability of the gut microbiota to program adult eating behaviour remains unclear, although a large number of evidences demonstrated that eating behaviour can be programmed in early life by pre- or postnatal nutritional factors (Cripps et al., 2005; Ross and Desai, 2014).

We therefore investigate the potential role of maternal microbiota as a route through which the risk of metabolic disorders could be transmitted from mother to child according to the hypothesis that transmission of an altered microbiota from obese mother to pups could impact feeding behaviour at adulthood. Of particular relevance to our hypothesis, the specific rat model chosen (*i.e.* selectively bred Obese Prone(OP)/Obese Resistant (OR) Sprague Dawley rat) has already been shown to exhibit intestinal microbiota differences according to the phenotype (Obanda et al., 2018). This makes the occurrence of differences in milk and vaginal microbiota likely, which is a prerequisite for testing our hypothesis. To test our hypothesis we collected the microbiota from Obese-Prone (OP) / Obese-Resistant (OR) dams before transferring them to conventional Fischer F344 at birth (F-OP, F-OR groups and litters receiving microbiota stock solution (F-Sham group)), and characterised the growth and eating behaviour of these three groups of rats from birth to adulthood.

Herein, we report that maternal transfer of microbiota differing in composition leads to alterations in pups gut microbiota composition that did not last until adulthood but was associated with pups and adults eating behaviour that differed between groups. These findings highlight the possibility that neonatal gut microbiota programs eating behaviour, without long lasting effect on adulthood microbiota composition.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Ethic statement

All experiments were conducted in accordance with the European Union regulations for the care and use of animals for experimental procedures (2010/63/EU). Protocols were approved by the local Committee on the Ethics in Animal Experiments of Pays de la Loire (France) and the French Ministry of Research (APAFIS#6617-2016072916395797-v6). Animal facility is registered by the French Veterinary Department as A44276.

2.2. Animals

Obtaining maternal microbiota

Virgin female Sprague-Dawley rats, 8 obese-prone (OP) (CrI:OP(CD)) and 8 obese-resistant (OR) (CrI:OR(CD)), were obtained at 7 weeks old from Charles River Labs (Kingston, New-York, USA) and housed individually ($22 \pm 2^\circ\text{C}$, 12:12-h standard light/dark cycle) with free access to tap water and standard diet (SD) (A03, Safe Diet, Augy, France). After 20 days of adaptation on SD, females were fed hyper energetic diet (HED) (58V8, TestDiet, Richmond, USA) (for more details see Supplementary Data fig.S1 and S2) and housed 2 per cage. Mating begun 4 weeks later with 2 CrI:OR(CD) male breeders (Charles

River Labs, Kingston, New-York, USA) for OR females, and 4 standard male breeders Sprague-Dawley (RjHan:SD) (Janviers Labs, Le Genest Saint Isle, France) for OP females due to poor reproductive success of OP male breeders (Levin and Govek, 1998; Choi et al., 2012). Six OP and 8 OR complete gestations and lactations were obtained after mating.

Obtaining pups for maternal microbiota transfer

Primiparous and conventional female Fischer (F344/HanZtmRj) rats (n=18) were obtained at one-day of gestation (G1) from Janvier-labs (le Genest Saint Isle, France) and housed individually ($22 \pm 2^\circ\text{C}$, 12:12-h reversed light/dark cycle) with free access to tap water and SD. This experimental protocol was done in two replicates, for a total number of 9 litters for each experimental group. At birth, litters were culled to 8 pups (4 males and 4 females) per mother. For each replicate, 3 litters received microbiota suspensions from OP dams (F-OP group), 3 litters received microbiota suspensions from OR dams (F-OR group), and 3 litters received the same volume of microbiota stock solution (F-Sham group). Pups weight was monitored every day until the end of the transfer of microbiota (post-natal day (PND) 15). Pups were weaned at PND21 and housed individually ($22 \pm 2^\circ\text{C}$, 12:12-h reversed light/dark cycle) with free access to tap water and SD. Fischer rats were then fed HED from PND100 to the end of the experiment in order to challenge their metabolism and characterise their propensity to obesity. Weight and food intake were regularly monitored from PND21 to PND200, and measured daily during the first week of HED.

2.3. Collecting and handling of maternal microbiota from OP and OR dams

Females OP and OR microbiota were anaesthetised with isoflurane 2.5% + dioxygen ($5\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$). Faeces were collected during SD, then after 7 weeks fed on HED, around 2-3 days before parturition (G3) and at PND10 and 20 of lactation. Vaginal samples were collected around 2-3 days before parturition (G3). Milk was collected at PND1, 5, 10 and 15 of lactation (fig.1A).

Vaginal samples collection and handling

Two to three days before parturition, the ventral part of females (from tail to collar bones) was clipped to reduce bacterial contamination from fur. After cleaning the anogenital area with ethanol 70% and sterile compresses, vaginal fluid was collected (aerobic condition) using a sterile swab (Puritan HydraFlock, Guilford, USA) humidified with sterile NaCl 0.9% and put in a 2mL sealed sterile tube (Sarstedt, Nümbrecht, Germany) containing 2mL of NaCl 0.9%.

Vaginal smears were vigorously vortexed 15s. Five hundred microliters (about $3.5 \cdot 10^4$ ufc (*unit forming colony*)) were stored at -20°C in sterile sealed tube and used for 16S rDNA sequencing. Vaginal suspensions were serially diluted in sterile NaCl 0.9% before being spread on Petri dish containing WC media using sterile spreader (Biologix, Chicago, Illinois, USA). Plates were incubated at 37°C during 48h in anaerobic conditions (GENbox Jar 7.0L Biomérieux, Marcy l'Etoile, France and BD GasPack EZ Anaerobe, Becton, Dickinson & Company, Sparks, Maryland, USA) before counting. Pharmaceutical glycerol (Laboratoire Gilbert, Hérouville-Saint-Clair, France) was added (10% v/v) to the residual volume and stored in sterile sealed tube at -80°C until transfer to pups.

To obtain sufficient amount of identical vaginal suspensions for the three replicates, we decided to pool vaginal suspension in pairs resulting in 3 pools of both OR and OP suspensions. One ice, pools were aliquoted before storage at -80°C to avoid multiple freeze-thaw cycles during microbiota transfer. The remaining volume was centrifuged 15min at 5 400g at 4°C and pellets were stored at -20°C for bacterial DNA sequencing.

Milk collection and handling

Females were injected with 0.3mL of oxytocin intra-peritoneally (Syntocinon®, Sigma-Tau, Ivry-sur-Seine, France) (5 UI/mL) 15min before anaesthesia. The ventral part of the animals was disinfected with ethanol 70% and sterile compresses. A sterile cotton swab (Labelians, Nemours, France) was rubbed on the surface of the skin and rolled on a Petri dish (ThermoScientific, Newport, UK) with Wilkins-Chalgren (WC) media (Pronadisa, Laboratoires Conda, Madrid, Espagne) to control residual bacterial contamination on skin. Milk was collected manually with sterile surgical gloves (Gammex Latex Ansell, Melaka, Malaysia) and sterile cottoned glass Pasteur pipette until mammary glands were empty with a maximum of 30min of anaesthesia.

Fresh raw milk was diluted twice with sterile citrate buffer 2% (w/v) (Merck Grosseron, Nantes) in order to emulsify lipids. Serial dilutions of this solution in sterile NaCl 0.9% was done before being spread on Petri dish containing WC media using sterile spreader. Plates were incubated at 37°C during 48h in anaerobic conditions before counting. After bacterial growth, plates were washed twice with sterile spreader and 2 x 1mL of sterile NaCl 0.9%. After centrifugation 15min at 5400g supernatant was discarded. Pellet was suspended in 220 μL of sterile stock solution composed of NaCl 0.9% and glycerol 10%, and stored at -80°C .

Since vaginal suspensions were pooled, bacterial suspensions from cultivated milk were also pooled (same couples of dams) at each sampling time and stored at -80°C . On ice, bacterial suspensions were completed to 1mL with stock solution and 500 μL were used for pools before 1000-fold dilution in stock solution in order to reduce bacterial density around 10^{5-7} ufc/mL. Pools were aliquoted before storage at -80°C to avoid multiple freeze-

thaw cycles during microbiota transfer. The remaining volume was centrifuged 15min at 5 400g at 4°C and pellets were stored at -20°C for bacterial DNA sequencing.

Faeces collection and handling

Concomitantly to vaginal or milk sampling, fresh faeces were collected (aerobic condition) after anaesthesia and ano-genital disinfection and stored at -20°C in sterile sealed tubes.

Similarly, faeces were also pooled (same couples of dams) for each sampling time. Faeces (100mg) from each dam were pooled before being homogenized in sterile tubes from Precellys lysing kit (Bertin, Ozyme, Saint-Quentin en Yvelines, France) without beads at 2 300g 2*15s with a break of 10s with 3mL sterile stock solution plus L-Cystein 1% (Sigma-Aldrich, #C7880). Faecal pools suspensions were filtered using sterile gauze (Laboratoire Urgo, Chenôve, France) and aliquoted before storage at -80°C to avoid multiple freeze-thaw cycles during microbiota transfer. The remaining volume was centrifuged 15min at 5 400g at 4°C and pellets were stored at -20°C for bacterial DNA sequencing.

2.4. Inocula transfer to Fischer pups

Inocula suspensions were thawed at room temperature (RT) and gently transferred to pups by spontaneous oral intake using a micropipette. The administered volume was adapted to remain under 7 µL/g body-weight. Volumes and ufc numbers of each type of maternal microbiota for each day of transfer are synthesised in Supplementary Data Table S1.

Vaginal inocula transfer

Within 2 hours after birth (PND0), vaginal inocula were transferred first and only once. Using data from previous experiment in our lab (data not shown), the estimated number of vaginal ufc transferred to pups was around $5 \cdot 10^4$ ufc from OR pools and around $4 \cdot 10^3$ ufc from OP pools.

Milk inocula transfer

From PND1 to PND15, pups received daily cultivated milk inocula at the same time of day. Based on the amount of milk consumed by pups through lactation (Bautista et al., 2008; Sevrin et al., 2017) and the concentration of ufc / milk mL obtained in previous experiment in the lab (data not shown), we increased the volume of bacterial milk

suspension to transfer an estimated daily amount of 10^3 ufc from PND0-3, 1.10^4 ufc from PND4-7, 8.10^4 ufc from PND8-11 and 10^5 ufc from PND12-15.

Fecal inocula transfer

From PND1 to PND15, pups received daily faecal inocula at the same time of day. Based on the estimation of 10^{11} ufc / g feces (Sender et al., 2016) the estimated number of fecal ufc transferred to pups was around 10^8 ufc daily.

2.5. Tissues collection

Intestinal microbiota

After death by intracardiac injection of 0.5mL of Exagon® (Richter pharma, Wels, Austria), ileal and caecal contents of Fischer pups were collected from 1 male and 1 female per litter at PND11 and 9 males and 9 females per condition (F-OP, F-OR, F-Sham) at PND21 and 200. At PND11, caecocolic contents were collected, weighted, mixed in 3 times their volume in sterile water. At PND21, ileal contents from the most distal 15cm were harvested by flushing, using 1 mL of Hanks' Balanced Salt Solution (Thermo Fisher Scientific, St-Herblain, France) and caecal (PND21 and 200) contents were collected, weighted, mixed in 3 times their volume in sterile water. After complete homogenization, these caecocolic/caecal suspensions were centrifuged (7800g, 20min, 4°C) then both supernatants and pellets were frozen at -20°C for short chain fatty acid (SCFA) and microbiota analysis, respectively.

Blood collection

Under gaseous anaesthesia (isoflurane 2.5% + dioxygen (5L.min⁻¹)), tail venous blood was collected from overnight fasted OP and OR female rats after 2 weeks of SD (65 days old), after 4, 6 and 22 weeks of HED (110 days old) and at G3 without overnight fast. Venous blood (submandibular and not fasted at PND21, tail and overnight fasted at other times) was collected on conscious animals at PND21 and 160 in EDTA-containing tubes (Sarsted, 1.3mL, K3E, Pfizer-Centravet, Plancoët, France) before centrifugation (15 minutes 1 800 xg +4°C). Plasma was stored at -80°C for further analysis.

2.6. Plasma metabolic markers

Leptin and insulin plasmatic concentrations (ng/mL) were measured with ELISA kits (Millipore, Billerica, USA and AlpcO, Salem, USA respectively). Total cholesterol, non-esterified triglycerides (for Fischer pups only) and glucose concentrations (mg/dL) were

measured using colorimetric kits and standards (Cholesterol FS, NEFA FS, Triglycerides FS, Glucose GOD FS, DiaSys, Holzeim, Allemagne, respectively).

2.7. Microbiota analysis of intestinal contents and inocula

Fermentation end-products

Ileal and caecal supernatants were centrifuged (8000 xg, 20 min, 4°C), diluted (1/10) with oxalic acid 0.5M and SCFA (acetate, propionate, butyrate, isobutyrate, valerate and isovalerate) were analysed by gas chromatography as previously described (Fança-Berthon et al., 2010). D- and L- lactate were measured in the supernatants after heating at 80°C for 20min with Biosentec D/L-lactic acid enzymatic kits according to the manufacturer's instructions (Biosentec, Toulouse, France).

DNA extraction from vaginal inocula

DNA was extracted from vaginal suspensions using QIAmp Fast DNA Mini kit (Qiagen, Hilden, Germany). Protocol was adapted from Neuendorf et al. (2015).

Pellets were suspended in 500µL cold sterile PBS (ThermoFisher Scientific, St-Herblain, France). Enzymatic lysis was performed using a mix of 5µL of lysozyme (10mg/mL) (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France), 3.2µL of lysostaphin (20U/mL in Tris-HCl-NaCl solution) (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France), 13µL of mutanolysin (10000U/mL in potassium phosphate buffer 0.1M solution) (Sigma-Aldrich, Schnellendorf, Germany). After 30min incubation at 37°C with homogenization every 15min, 10µL of proteinase K (20mg/mL) from QIAmp kit, 50µL of SDS 10% and 2µL of DNase and protease free RNase A (10mg/mL) (Fisher Scientific, Illkirch, France) were added. After 45min incubation at 55°C, supernatants were collected in a new sterile tube containing 100mg Zirconium powder beads (0.1mm) (BioSpec products, VWR International, Fontenay-sous-Bois, France) and mechanical lysis was performed using a Precellys® "Evolution" bead-beater (Bertin, Montigny-le-Bretonneux France) during 40s at 5 100g. Supernatants were transferred into a new sterile tube containing 500µL of absolute ethanol and well homogenized, before loading QIAmp kit columns. According to kit protocol, washes were done and DNA was eluted with 50µL of AE buffer (1min at 13000g) after 5min incubation at RT. DNA concentration was quantified with NanoVue (GE Healthcare, Illinois, USA) (between 0.6 and 1.5ng/µL) before storage at -20°C.

DNA extraction from milk inocula

DNA was extracted from pellets from faecal suspensions using QIAmp Fast DNA Mini kit (Qiagen, Hilden, Germany) with extra lysis steps adapted from Neuendorf et al. (2015).

Enzymatic and chemical lysis was firstly performed by adding a mix of 300µL of a lysozyme (20mg/mL), Triton 100 (1.2%), Tris-HCl (20mM, pH8), EDTA (2mM, pH 8), 9.2µL of lysostaphin (1500U/mL solution), 17.3µL of mutanolysin (10000U/mL solution). After 30min incubation at 37°C with homogenization every 15min, mechanical lysis was performed using 5 Zirconium sterile beads (2mm) (Fischer Scientific, Illkrich, France) and a Precellys® "Evolution" bead-beater during 3x20s at 5 600g with 20s breaks.

Thermic lysis was then performed at 95°C for 5min. After lysis solution reached RT, 5µL of DNA and protease-free RNase A (10mg/mL) were added and solution was incubated 15min at RT. Twenty-five microliters of proteinase K and 300µL of AL buffer coming from QIAmp Kit were added and well homogenized before 30min incubation at 56°C. After centrifugation (2min at 13000g), supernatants were collected in new sterile tubes containing 600µL of absolute ethanol and loaded on kit columns. DNA was eluted with 100µL of QIAmp kit AE buffer.

DNA extraction from faecal inocula

DNA was extracted from pellets from fecal suspensions using QIAmp Fast DNA Stool Mini kit (Qiagen, Hilden, Germany) with extra lysis steps.

Enzymatic and chemical lysis was firstly performed by adding a mix of 180µL of a lysozyme (20 mg/mL), Triton 100 (1.2%), Tris-HCl (20mM, pH8), EDTA (2mM, pH 8), 1mL Inhibitex coming from QIAmp kit and 100mg of Zirconium powder (0.1mm) to the pellets. After 30min incubation at 37°C with homogenization every 15min, mechanical lysis was performed using a Precellys® "Evolution" bead-beater during 20s at 5 600g. Thermic lysis was then performed at 95°C for 5min. After centrifugation (1min at 13000g), supernatants were collected in new sterile tubes centrifuged again 6min at 13000g. Height hundred microliters of supernatant were collected in new sterile tubes containing 10µL of DNA and protease-free RNase A (10mg/mL), incubated 15min at RT. Sixty microliters of proteinase K and 800µL of AL buffer were added and well homogenized before 10 min incubation at 70°C. Height hundred microliters of absolute ethanol were added before loading on columns. DNA was eluted with 50µL of ATE buffer.

DNA extraction of intestinal contents

DNA was extracted from pellets of caeco-colonic contents (max 250 mg), using the QIAamp Fast DNA Stool Mini kit. Chemical, enzymatic, mechanical and thermic disruptions were performed as described for DNA extraction of faecal inocula, except that bead-beating was carried out at 5 600g for 3x20s intervals with 20s breaks and 2 elution steps (100 and 50µL).

16S rDNA sequencing of inocula

The V4 hyper-variable region of the 16S rDNA gene was amplified from the DNA extracts by PCR using composite primers (5'-CTTCCCTACACGACGCTCTCCGATCTGTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3' and 5'-GGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTGGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') which were based on the primers adapted from Caporaso et al. (2011) (i.e. 515F and 806R).

PCR mixture was composed of 65µL of DNA diluted at 1ng/µL and 35µL of mix. Mix was composed of 18µL of nuclease-free water, 10µL of 10X buffer, 2µL of each primer at 20µM, 2µL of dNTP at 10mM, and 1µL of MolTaq (MolZym, Plaisir, France) at 5U/µL. DNA template was amplified according to the following thermal conditions: 1min at 94°C, 28 cycles composed by 30s at 94°C, 1min at 56°C, 1min at 72°C, and a final extension step at 72 °C for 10min.

Paired-end sequencing was performed on a MiSeq System (Illumina, San Diego, CA, USA) with v2 reagents, producing 250 bp reads per end, according to manufacturer's instructions at the GeT-PlaGe platform (INRA-Toulouse, France).

16S bio-informatic and statistic process

All samples coming from faecal source (OP/OR faeces and inocula, Fischer faeces) were processed together and separately from other samples. All samples coming from vaginal source (OP/OR vaginal suspension and inocula) were also processed together and separately, as well as samples coming from milk source.

The 16S rDNA raw sequences were demultiplexed by Illumina run software at GeT-PlaGe platform. Reads were then analysed with the FROGS v3 pipeline (Escudié et al., 2018) in Galaxy environment. Reads were merged using VSearch (Rognes et al., 2016) with 10% mismatches authorized in overlapped region of 50pb minimum (amplicon size of 100pb (min) to 450pb (max)). Primers sequences were removed using Cutadapt (Martin, 2011) with 10% mismatches authorized. Merged reads were clustered using Swarm (Mahé et al., 2014) according to Escudié et al. (2018) recommendations, with a first step with an aggregation parameter equal to 1, followed by a second step on previous clusters seeds with an aggregation parameter equal to 3. Chimera detection and removal was performed using VSearch. Clusters were then filtered on abundance with a minimum 0.005% of all sequences and affiliated using blastn+ (Camacho et al., 2009) against 16S Silva v.132 database (Quast et al., 2013) with a pintail of 80. OTUs were filtered according to a minimum of 98% identity and 100% coverage.

Alpha-diversity analysis, rarefaction and beta-diversity analysis were done using FROGS v3 pipeline and R (v.3.6.1) (R Core Team, 2019) under RStudio environment (v.1.2.1335) (RStudio Team, 2016). Alpha-diversity indexes (Observed and Shannon) were done on raw abundances using phyloseq package (McMurdie and Holmes, 2013). Counts were rarefied using FROGS rarefaction tool on the lowest number of sequences

among compared samples. Beta-diversity analysis were then done with R. Using Bray-Curtis distance matrix, samples structure was visualised with ordination plot using MDS method. Permanovas were done in FROGS pipeline with 9999 permutations. Differential abundance analysis was performed with R and the DESeq2 package (v.1.24.0) (Love et al., 2014). Raw counts were normalized using a rlog transformation in base 2 with a pseudo-count of 1. The corresponding graphical visualization was obtained with the R package ggplot2 (v.3.2.0) (Wickham, 2016).

2.8. Eating behaviour assessment

Behavioural tests performed on Fischer pups are summarized in the figure 2, and detailed below.

Early milk intake

At PND15, suckled pups were weighted and separated from their mother during 2h for gastric emptying. Just before return to their mother, we stimulated urine excretion by rubbing urogenital area and pups were weighted to obtain hourly metabolic waste weight. After 1 hour with their mother, pups were weighted again and the hourly difference of body weight was added to hourly metabolic waste weight to obtain the total relative body gain weight relative to the milk intake (adapted from Sevrin et al., 2017).

Liquid taste preference (two bottles choice test)

Preference for sweet and fat tastes was measured at PND70 using the two-bottles choice test experiment adapted from Paradis et al., (2017). After a 2 days adaptation to the presence of 2 bottles in their own cage, rats were free to choose between a bottle of tap water (control for saccharin) or a bottle containing tap water with saccharin (0.01% w/v) for sweet taste, or tap water with xanthan gum 0.3% (control for corn oil) or a bottle with corn oil (0.1% w/v) and xanthan gum 0.3% for fat taste. Taste solutions did not provide any calories or not enough to drive caloric satiety response (Paradis et al., 2017a). For 3 days of each test, bottles were daily inverted to prevent position preference bias. Drink intake was measured daily. The sweet and fat preference scores were calculated as the ratio between the volume of saccharin or fat solution consumed and the total drink intake in 24h and then multiplied by 100. A preference is defined as a percentage above 50%.

Food motivation

From PND110 to 125, food motivation was assessed with the a Straight alley test as described by Wong et al., (2009) and Peciña et al. (2003), under red light with a 2

meters long black plastic apparatus composed of a Starting Box (SB) (20x10x30cm), a central alley (160x10x30cm) and a Goal Box (GB) containing food reward (20x10x30cm). Transparent movable Plexiglas doors separated the SB and the GB from the alley letting the GB being moved anywhere along the apparatus.

In order to choose the most palatable food reward, animals were first tested in an Open Field area with several palatable food (milk chocolate (Milka), chocolate cereals (Chocapic®, Nestlé), ham (Fleury Michon), almond paste (Maître Prunille), potato crisp (Original Pringles®), cheese (Leerdammer®, Bel). The number of nose contacts with each food was counted. Males had a preference for cheese and females for almond paste (data not shown).

Before the beginning of the test, a bit of cheese or almond paste were given for 2 days to males and females Fischer respectively in their own cage to extinguish food neophobia. Animals were then trained to the Straight alley apparatus to extinguish environmental neophobia. During the training period, animals were fasted overnight (16-17h) and trained in the afternoon. At day 1, rats were placed one by one in the SB and after 30s adaptation, Plexiglas door was removed and animals were free to go in the GB containing a Petri dish with reward (5 g) and located 20cm from the Plexiglas door, containing a Petri dish with reward (5 g). After 2min, the rats were put back to their cage and the apparatus was cleaned. Rats were refed within 2 hours after trial. During the next days, the protocol was the same except that the distance between SB door and GB was increased to 60, 100, 140, 160 and 160cm (maximum distance). Before the test (Day 10), animals were not fasted overnight in order to measure motivation rather than hunger.

All trials were video-recorded and position, running, pausing, rearing, and turn-around behaviours of rats as well as latencies to leave the SB, reach GB and eat food reward were measured by « blind » trained experimenter using BORIS software (v.7.7.3) (Friard and Gamba, 2016) (ethogram in Supplementary Data Table S3). An ingestion score was calculated from the latency to ingest the food reward with 1 point removed each 30s (ingestion between 0 and 30s = 3 pts; between 31 and 60s = 2 pts; 61 and 90s = 1 pts; 91 and 120s = 0 pt).

In order to not distract males with females olfactory clues, males performed first and alternatively with females, so that each rat performed a trial every 2 days. The animal order was random to avoid circadian activity bias. Since Straight alley test is based on locomotor activity, a 5 min recorded Open Field test was done the day after the Trial 10 to check locomotor activity or anxiety.

24 hours eating pattern

Between PND137 and PND155, eating behaviour was analysed in physiological cages (Phecomb cages, Bioseb, Vitrol, France) as previously described (Coupé et al.,

2011). Briefly, rats were allowed to adapt individually to physiological cage during 24h before data recording from second day, 3h after light switched off (10:00 a.m.) at each second during 24h. Housing rats in inverted dark/light cycle implies that the dark activity phase were split up on both sides of the light phase, so both dark data records were compiled to obtain 12h dark phase data.

Meal was defined as 0.1 g food intake during minimum 10s with an inter-meal period of minimum 10 min. Meal parameters were extracted from Compulse software (v1.1.01) (PheCOMP, Panlab, Spain) included number of meals, meal size and duration and inter-meal interval. A percentage of reliability of the quality data was calculated by the software and only behavioural items with a percentage >80% have been used.

Behavioural Satiety Sequence

At PND130, Behavioural Satiety Sequence (BSS) was recorded during 1h30 starting from refeeding after an overnight fast. Animals were refed with 90g HED and filmed under red light in their home cage. Total food intake was measured. The number and duration of Eat, Drink, Grooming, Explore, Sleep and Inactive behaviours (ethogram in Supplementary Data Table S4) were added up per 5 minutes by a « blind » trained experimenter using BORIS software (v.4.0). The satiety point, described by Blundell (Blundell and McArthur, 1981; Blundell et al., 1985), was measured at the intersection of Eat and Sleep curves. One female F-Sham and 1 male F-OP were removed for abnormal behaviour (lethargy).

2.9. Statistical analysis

Behavioural z-scoring

In order to reduce the intrinsic variability of single behavioural tests , an integrated behavioural z-score was calculated according to group and gender from several convergent behavioural items (see Supplementary Data Table S3) as described by (Guilloux et al., 2011). Concerning the liquid taste preference test, intake rather than preference percentage was chosen since it was more relevant for this rat strain.

General statistics

All statistical analysis (except 16S sequencing) were performed with GraphPad PRISM® software (v.6.01). Weight, daily food intake and concentration of plasma markers were analysed using multiple T-tests pairwise comparisons. Weight gain, microbiota activity, milk intake at PND15, 3-days liquid consumption during the Two Bottles test, all BSS items and some Straight Alley test items were compared using one-way ANOVA and post-hoc Tukey's pairwise comparisons. For caloric intake during the first 10 days on HED,

Two Bottle test and z-score, one-sample T-tests were used to compare samples values to a reference value.

3. RESULTS

3.1. OP and OR females featured differences in phenotype, food intake and intestinal microbiota

Phenotype and food intake difference between OP and OR females

Bodyweights of OP females were significantly greater than OR ones during both diets, despite a lower food intake (fig.2A and B). Under HED, OP females gained significantly more weight (fig.2C) and, during the first week of HED, ingested significant greater calories compared to OR ones (fig.2B). Under SD, OP females featured greater leptin and triglycerides concentrations, but lower cholesterol and glucose concentration in plasma as compared to OR. Under HED, leptin, insulin, glucose and triglycerides plasma concentrations increased in OP to become significantly higher than in OR. Total cholesterol concentration remained higher in OR females than in OP ones until 6 weeks under HED (Table 1). During gestation and lactation, body weight remained significantly higher in OP than in OR dams, with a higher food intake for OR ones compared to OP (see Supplementary Data fig.S3). No difference was observed in the food intake during lactation between groups (see Supplementary Data fig.S3). Body weight gain was not measured since results may vary according to the pups number and weight. Plasma leptin concentration was significantly higher in OP dams than in OR ones (Supplementary Data Table S5).

Faecal microbiota composition differs between OP and OR females under HED.

Samples ranged from 23 406 to 90 941 reads, with a total of 451 OTUs. For MDS and DESeq2 analysis, counts were rarefied to 23 406 reads per sample. Only 4 (under SD) and 5 (under HED) samples from OR dams, and 5 (under SD) and 7 (under HED) samples from OP dams passed all the quality filters.

On SD, despite 33 OTUs (7 taxonomic families) which abundances were significantly different between OP and OR dams, alpha- or beta-diversities of faecal bacterial communities were not significantly different in (fig.3A, B, D). A significant higher number of sequences ($p < 0.01$) was obtain from samples coming from OR dams than from OP ones on SD. When this bias was taken into account, no difference in richness between OP and OR dams on SD were observed.

After 7 weeks on HED, no change in richness among OP and OR faecal microbiota was observed, but the abundance of 57 OTUs (9 taxonomic families) was significantly different (fig.3A, C, E). This result was linked to different bacterial communities structures

(PerMANOVA, $p=0.001$) (fig.3E). Lachnospiraceae and Ruminococaceae were families which genus were the more expressed both in OP and OR dams under SD and HED (fig.3C). HED increased significantly the abundance of Enterobacteriaceae and Erysipelotrichaceae in OP dams (see Supplementary Data S7 for relative abundances of most dominant phyla).

During gestation and lactation, faecal bacterial communities were still different between groups and according to sampling time (G3, lactation days 10 and 20 (L10, L20)), particularly regarding Proteobacteria and Verrucomicrobia phyla (see Supplementary Data S6).

Vaginal microbiota composition did not differ between OP and OR females under HED.

Samples ranged from 27 878 to 41 216 reads, with a total of 126 OTUs. For MDS and DESeq2 analysis, counts were rarefied to 27 878 reads per sample and no OTUs were lost. No significant difference in the vaginal microbiota composition or structure between OP and OR dams was observed (see Supplementary Data S4).

3.2. Bacterial composition of transferred fecal inocula is different between OP and OR dams

Bacterial suspensions coming from faecal, vaginal and associated to milk microbiota were transferred from OP and OR dams to Fischer pups. Since manipulations and storage were needed before transfers, we aimed to characterise the composition of the bacterial suspensions (inocula) given to pups. By culture, the minimum number of cultivable bacteria given per pup per day were 10^{2-4} ufc in faecal inocula and between 10^{4-6} in milk associated inocula (see Supplementary Data S9).

Fecal inocula

No OTUs were lost after rarefaction at 23 406 reads per samples. When OP and OR inocula were compared depending on genetic only (OP versus OR), no significant difference in alpha-diversity indexes was found despite a difference in microbiota composition and structure (PerMANOVA, $p<0.001$, fig.4A). When inocula were analysed depending on genetic and time of sampling (G3, PND1, PND5, PND10, PND15), significant differences were found for richness and Shannon indexes between OP and OR across time, due to a significant drop in alpha-diversity indexes of OP inocula sampled at PND1 (fig.4B). These indexes decreases were not found in OR inocula. The drop in Shannon index revealed that at PND1, the bacterial communities of OP faecal inocula were mainly composed by only a small number of highly dominants OTUs, correlated to a decrease in the number of OTUs among samples. Significant differences in bacterial communities structures were observed across sampling time among OP inocula (PerMANOVA, $p<0.001$), particularly for PND1

inocula (fig.4C), and a trend was observed among OR ones (fig.4D). Despite a decrease in alpha-diversity indexes between OP and OR faecal inocula sampled at PND1, 21 OTUs were significantly more abundant in OP inocula than in OR one, and 8 OTUs were more abundant in OR ones (fig.4E). At PND1, bacteria most different between OP and OR faecal inocula were Ruminococcaceae family (more in OP), and *Allobaculum* genus (more in OR) (see Supplementary Data Table S6 for Ruminococcaceae genera details).

Vaginal inocula

There was no significant difference between bacterial communities of vaginal inocula from OP and OR collected 2-3 days before parturition (G3) (see Supplementary Data S5).

Cultivated milk inocula

Samples ranged from 29 080 to 60 129 reads, with a total of 52 OTUs. For MDS and DESeq2 analysis, counts were rarefied to 29 080 reads per sample and no OTUs were lost. Alpha-diversity indexes were not significantly different between OP and OR dams (fig.5A). Depending on genetic factor only, significant differences in bacterial communities structures between OP and OR inocula were observed (PerMANOVA, $p < 0.001$) (fig.5B). Depending on genetic and sampling times, significantly more Proteobacteria and less Firmicutes were observed in OR inocula sampled at PND5 and PND15 (fig. 5C). These phyla were the most dominants (see Supplementary Data S8 for most dominant families in Firmicutes and Proteobacteria phyla). Among OP inocula, relative abundance of Proteobacteria significantly decreased at PND5 and PND15 compared to PND1, and Firmicutes significantly increased at PND15 compared to PND1 (fig. 5C). No difference among OR samples were observed across time.

3.3. Maternal bacteria transfer induced different gut microbiota communities in Fischer offspring

Caecocolic contents of Fischer pups (F-OP, F-OR, F-SH) were processed together and separately from others samples. Samples ranged from 20 426 to 84 892 reads, with a total of 458 OTUs. For MDS and DESeq2 analysis, counts were rarefied to 20 426 reads per sample and only one OTUs was lost. At PND11, bacterial communities from F-OP, F-OR and F-Sham pups were not significantly different in terms of alpha- and beta-diversities (data not shown). At PND21, 5 days after the last transfer of bacteria, gut microbiota from female and male F-OP pups featured significant increase in richness compared to F-Sham in both genders (fig.6A). Similarly, diversity of gut microbiota from female F-OR pups were significantly higher than those from females F-Sham pups. The bacterial communities of

the gut microbiota of the female pups and the male pups featured significant differences among the three groups (PerMANOVA, $p=0.005$ and $p=0.029$, fig.6B).

Differences in short-chain fatty acids (SCFAs) production were observed. Intestinal microbiota of F-OP pups (males and females) significantly produced more branched SCFAs (valerate, iso-valerate) than other pups (Table 2). No difference between males and females were observed, as well as for major SCFAs concentrations (acetate, propionate and butyrate).

3.4. Postnatal differences in gut microbiota did not long last

After weaning, the number of rats per group was 9 females F-Sham and F-OP, 7 females F-OR, 9 males F-Sham and F-OP and 11 males F-OR. No difference in gut microbiota composition, structure and fermentative activity was statistically significant between groups in both genders (data not shown). However, significantly more total SCFAs (mainly acetate and butyrate) seemed to be produced by male F-OP rats microbiota compare to F-OP females (see Supplementary Data Table S7). When the total SCFAs production was set to 100%, difference between F-OP males and females were observed for acetate, propionate and valerate, and there was still more acetate produced by male microbiota.

3.5. Maternal microbiota transfer influenced eating behaviour

Pups growth before weaning

Pups bodyweight was monitored from birth until weaning. Growth was not altered by the transfer of microbiota to the immature digestive tract of pups (fig.8A and C). From the second week to the end of lactation, body weight of F-OR pups was significantly greater than F-OP ones, without any difference in relative body weight gain (fig.7C and D). During the third week, females F-OP begun to weight significantly more than F-Sham (PND12-19) (fig.7A), and males F-OR begun to weight more than F-Sham (PND14-20) (fig.7C). These differences are correlated with a tendency to gain more weight during whole lactation for females F-OP and males F-OR compared to F-Sham groups (fig.7B and D respectively).

Early milk intake

Despite similar relative body gain weight, hourly milk intake (as estimated by relative weight gain after suckling) at PND15 was lower for both male and female F-OR pups compared as F-OP ones (fig.8A and B).

Pups growth after weaning

From PND29 to 78 on SD, caloric intake was significantly higher for females F-OP compared to both other groups, but without any greater weight gain (fig.8C-E). During the same period, no difference between male groups was observed (data not shown).

Rats were fed HED from PND100 to the end of the experiment (PND200). Concerning females, no difference was revealed in weight gain or caloric intake between groups during the first 10 days of HED diet (fig.8F and G). Females F-OP regulated their caloric intake in 3 days, as compared to F-Sham and F-OR which regulated food intake in 7 days (fig.8F). Concerning males, males F-OR gained significantly less weight than F-OP ones despite similar caloric ingestion than in other groups during the first 10 days of HED diet (fig.8I). Males F-Sham and F-OR regulated their caloric intake in 7 days, when F-OP males needed 8 days (fig.8H).

During the behavioural tests, from PND110 to PND155, no significant difference in body weight, body weight gain or food intake was measured between groups among females and males Fischer.

Liquid taste preference (two bottles choice test)

From PND75 to 85, taste preference was measured using the *Two Bottles choice test*. All animals significantly preferred sweet and fat tastes solutions, determined as preference percentages above 50%, with no difference between groups (fig.9A). However, the total amount of sweet and fat taste liquids for 3 days was significantly decreased in females and males F-OR respectively (fig.9B).

Significant gender-dependant differences were observed (data not shown). Male F-OR rats had a significant higher preference for sweet taste than female F-OR ones the second and third days of test, despite no difference in total sweet liquid intake through the 3 days test. The total sweet and fat taste liquid intakes were significantly higher in females F-Sham and F-OP than in males F-Sham and F-OP, respectively.

Food motivation

From PND110 to 125, food motivation was assessed by the Straight alley test. During the first path to the Goal Box (GB) containing the food reward, both F-OP and F-OR females and males tended to be more focused than F-Sham groups with less stops and rearing (fig.10A and B). Both males and females F-OP showed an ingestion score significantly differing from zero, and even different from F-Sham concerning females (fig.10C and D). These greater performances (fig.10E and F) were not dependant of the global activity (locomotion or stops) during the first path to the palatable reward (GB) (fig.10G and H).

No significant difference in global pattern of locomotion or anxiety-like behaviour were measured one day after the food motivation test during the Open Field test (data not shown).

24 hours eating pattern

From PND137 to 155, meal pattern was characterized in detail for 24 hours period. During the 24h test, no difference in the food intake was noticed. During the 12h diurnal phase, eating behaviour of Fisher rats was almost inexistent (data not shown). During the 12h nocturnal phase, females F-OR ate significantly less often than F-Sham (fig.11C), but with trend to higher ingestion speed per meal (fig.11E), leading to the same food intake per meal than other females (fig.11G). The amount of calories ingested per meal tended to be higher for males F-OP than F-Sham ones (fig.11H). The first meal of nocturnal phase tended to appear more rapidly for males F-OR compared to F-OP ones (fig.11B). This first nocturnal meal was significantly bigger for males F-OP than F-Sham rats (fig.11A). No difference was revealed concerning the females first nocturnal meal (fig.11A and B).

Behavioural Satiety Sequence (BSS)

Behavioural satiety sequence was determined at PND130, as described by Blundell *et al.* (1985), *i.e.* as an alternation between Eat and Sleep behaviours. Females F-Sham decreased Eat behaviour and increased Sleep behaviour after 30min post-refeeding (fig.12A). This switch between Eat and Sleep behaviours occurred after 55min for F-OP females (fig.12B), and after 40min for F-OR ones (fig.12C). The longer Eat phase featured by females F-OR as compared to F-Sham led to significant increases in "Activity/Sleep" and "Eat/Sleep" ratios (fig.12G and H).

Males F-Sham decreased Eat behaviour and increased Sleep behaviour after 25min post-refeeding (fig.12B). This switch between Eat and Sleep behaviours occurred after 45min for F-OP females (fig.12E), and after 35min for F-OR ones (fig.12F). No significant difference was observed in "Activity/Sleep" and "Eat/Sleep" ratios between males groups (data not shown).

For both males and females, there was no difference in the amount of food intake during the 90min test (data not shown).

Integrated behavioural z-score

In females, F-OP z-score was significantly higher than zero, and tended to be higher than F-Sham (fig.13). In males, F-OP and F-OR had z-score significantly different which were on both sides of males Sham z-score. No significant difference between males and females was observed.

3.6. Maternal microbiota transfer did not influence metabolic parkers

At PND21, no difference in plasmatic leptin, insulin, total cholesterol, triglycerides, and glucose concentrations were measured between groups in both genders (data not shown). No difference between genders was measured.

At PND160, after 2 months feeding HED, female F-OR had significant higher leptin concentration than F-Sham ones, and male F-OR had significant lower total cholesterol concentration than F-Sham ones. Males had significant higher plasmatic concentrations of leptin, insulin and glucose than females independently of groups.

4. DISCUSSION

The aim of this work was to demonstrate the contribution of maternal intestinal, vaginal and milk microbiota obtained from genetically and metabolically challenged OP dams (in comparison to OR dams) in the transmission of risk for subsequent alteration of eating behaviour in adult offspring born from not genetically nor metabolically challenged dams (inbred Fisher F344 dams) that were colonized at birth and through lactation. We chose to perform a vertical transfer of microbiota of rats genetically predisposed to obesity or not, both fed with a HED, into newborn rats in the first day of life until D15 of lactation, to first minimize confounding factors as metabolic and inflammatory status of the obese rat and low grade inflammation induce by HED during gestation and lactation, to eliminate genetic determinism of obesity and to verify the sole impact of the transfer of an "obese" microbiota from dams to pups at birth. OP and OR dams were the donors of microbiota and inbred F344 pups were the receivers of the altered microbiota. Although it has long been known that the risk of alterations in energy metabolism is transmitted from mother to infant, the specific mechanism involved is unclear. Transmission of the risk for metabolic disorders in adulthood from obese mothers to their infants through microbiota has been hypothesized (Paliy et al., 2014). However, our current hypothesis that microbiota from OP or OR dams would have an impact on eating behaviour, was never investigated.

4.1. Phenotypic metabolic characteristics of OP/OR rat model are confirmed in OP and OR dams

Our first goal was to check whether the genetically selected model used in that study was suitable for our demonstration. Most of the phenotypic characterization of that rat model has been previously done on male rats. Very few studies involved female OP and OR rats. Indeed only one study characterised phenotype on female OP and OR rats before and during gestation/lactation (Levin and Govek, 1998). We confirmed most of the

previous data on body weight and metabolic parameters differences observed between OP and OR female rats when fed SD, HED, or during gestation periods. A significant higher body weight, higher leptinemia and higher insulinemia have been observed for OP dams under HED in comparison to OR dams under HED. The only differences to note is the absence of hyperinsulinemia for OP dams at the end of lactation (G19) in our study, contrary to Levin's study that measured it after 2 weeks of gestation. In Levin and Govek's study diet contained higher amount of sucrose (50% of carbohydrates) and lower amount of fat (20% of energy available) compared to our diet (sucrose was 20% of carbohydrates, and fat represented 46% of energy available) that may also explain discrepancies between the two studies.

There is very little information on food intake or caloric intake of OP and OR rats. When fed SD, most studies showed that male OP rats eat more than OR rats (Levin et al., 1997b; Levin and Govek, 1998; Ricci and Levin, 2003; Obanda et al., 2018) but some described no difference between groups (Levin et al., 1997b; Madsen et al., 2010). When fed HED, OP rats ate significantly more food than OR rats (Levin et al., 1997b; Levin, 1999; Ricci and Levin, 2003; Obanda et al., 2018). However, one work showed a higher food intake in OR compared to OP male rats (Levin et al., 1986), in line with our results. Indeed, our OR females consumed higher quantity of food, despite a lower weight gain on SD or HED. In our model, food intake was not associated to higher weight gain since OP rats consumed less SD or HED but gained higher weight. OR females may have a higher basal metabolism with more elevated energy expense or lower food efficiency based on their gut microbiota composition. However, it is very interesting to note that OP female rats had a significantly higher appetite for HED the first days we switched the animal from SD to HED.

4.2. First characterization of OP and OR dams microbiota

To our knowledge, our study is the first to investigate faecal microbiota composition of females OP and OR rats fed SD, HED, during gestation and through lactation. The 16S rDNA sequencing showed that under HED and despite no change in richness between OP and OR faecal microbiota, the abundances of 57 OTUs (9 taxonomic families) were significantly different between OP and OR dams. Lachnospiraceae and Ruminococaceae are families which genera are the more expressed both in OP and OR dams fed SD or HED, despite greater ranges in differential abundance when fed HED. In addition, HED significantly increased the abundance of Enterobacteriaceae and Erysipelotrichaceae in OP dams. This result can be compared to the only one study that characterised faecal microbiota of OP and OR male rats (Obanda et al., 2018). No statistical analysis was performed in Obanda's paper, that prevented them to conclude on differences in microbiota composition between OP and OR rats fed SD or HFD. However in Obanda's study, the

relative abundance of most dominant phyla (Firmicutes and Bacteroidetes) seemed similar between OP and OR rats fed SD. On the contrary, when these animals were fed HFD, Bacteroidetes relative abundance seemed to increase in OR rats compared to OP. In our study, no significant difference were found between OP and OR intestinal microbiota under HED at the phylum level. However, this level is not the more relevant in order to show difference in microbiota composition.

The difficulties to obtain samples of good quality enough to study vaginal and milk microbiota prevent us to give strong conclusion. Nevertheless, HED consumption seemed to increase the relative abundance of Firmicutes and decrease that of Proteobacteria in cultivated milk inocula. Concerning rat vaginal microbiota, the most dominant phyla at any sampling time (SD, HED, end of gestation) were Firmicutes, Proteobacteria and Verrucomicrobia, which is consistent with one very recent and unique work by Levy et al. that found a dominance in Firmicutes, Proteobacteria and Actinobacteria under SD and without pregnancy. However in our analysis, almost all the Firmicutes were affiliated to the *Lactobacillus* genus contrary to Levy's data which reporting affiliations to *Streptococcus*, *Enterococcus* or *Aerococcus*, but in line with the "vagitype" mCST IV described in mice (Vrbanac et al., 2018b). However, the very low number of sequences obtained from the vaginal smears in our study limits the reliability of the analysis since a low amount of DNA is more subject to environmental DNA contamination.

In addition, we did not succeed in the characterization of milk bacteria. This is explained by the very limited available amounts of milk which implies not sufficient amount of bacteria per mL to rule out environmental DNA contamination. Although still controversial, the intestinal origin of some, if not all, of the bacteria present in the milk and the vagina seems to be accepted (Jiménez et al., 2008b; Fernández et al., 2013b). On this basis, it is therefore possible to consider that differences in the composition of gut microbiota between OP and OR rats also apply to milk and vaginal microbiota.

4.3. Bacteria transferred to Fischer pups are different according to OP or OR origin

Bacterial suspensions (inocula) were prepared from faecal, vaginal and milk associated microbiota from OP and OR dams. In order to mimic natural mother-to-pups bacterial transfers through birth and lactation stages, we collected and transferred faecal and milk maternal microbiota every 5 days. As these suspensions were manipulated and stored, we focused on characterizing the bacteria actually transferred to the pups.

Composition of faecal inocula transferred to pups was significantly different among OP and OR origins, particularly according to time. OP faecal inocula contained significantly more Ruminococcaceae bacteria than OR, and OR ones contained significantly

more *Allobaculum* as measured in inocula sampled at PND1. Elevated abundance of Ruminococcaceae in intestinal microbiota has been linked to childhood obesity in humans (Riva et al., 2017) and an increased abundance of these bacteria was found in mice fed high-fat diet and becoming obese and diabetic (Kim et al., 2012), as well as in leptin-resistant obese and diabetic mice (db/db) (Geurts et al., 2011). Nevertheless, not all Ruminococcaceae bacteria are deleterious, as the best example of a beneficial effect is the well-known probiotic *Faecalibacterium prausnitzii*, but this genus was not differentially abundant between OP and OR microbiota. Thus, the higher abundance of Ruminococcaceae in our females OP microbiota seems more detrimental. Concerning *Allobaculum* genus, which was more present in OR faecal inocula than OP ones, it has been linked to the presence of a better mucus layer in mice (Jakobsson et al., 2015) and was associated with the use of oligofructose in the diet of mice fed HFD (Everard et al., 2014). *Allobaculum* has a high capacity to use simple sugar at the expense of the host metabolism (Herrmann et al., 2017), which could partly explain the phenotype of our OR females (greater food intake with lower body weight). It is important to note that bacterial positive or negative effects on host greatly depend on the bacterial strain among the same genus and species (Morelli, 2017; Rhayat et al., 2019). However, 16S rDNA V4 sequencing cannot provide sufficient resolution to affiliate sequences at species and strain levels. In this case, whole 16S rDNA sequencing or metagenomics could be recommended.

Concerning inocula of cultivated milk microbiota, the bacterial community structures significantly differed depending on OP or OR origin, particularly concerning milk cultures sampled at PND5 and PND15. Most of the sequences obtained from cultivated milk were associated to Firmicutes and Proteobacteria phyla. This result confirm the first study conducted on rat milk microbiota that showed a dominance in Firmicutes (40%), Proteobacteria (39%) and Actinobacteria (19%) and no Bacteroidetes at PND15 (Warren et al., 2019b). However, relative abundances of bacterial families among these two phyla were different in our study. We also characterised a significant change in cultivated milk composition across lactation stage, with a significant decrease in Proteobacteria, and increase in Firmicutes. This confirms previous studies in human milk in which composition depends on the stage of lactation that reaffirms our strategy to transfer milk microbiota sampled at different period of the lactation (Perez et al., 2007b; Cabrera-Rubio et al., 2012b; Fernández et al., 2013b; Boix-Amorós et al., 2016b).

4.4. Inocula transfers lead to different composition of neonatal intestinal microbiota associated to early impact on food intake.

There was no impact of the transfer of adult microbiota on viability of pups, and their trajectory of growth from birth to weaning was similar in all groups, thus eliminating

any deleterious effect related to the transfer itself. Females F-OP tended to gain more weight than F-SHAM during lactation. Contrary to PND11, significant differences in the composition of intestinal microbiota were observed between microbiota-receivers groups (F-OP and F-OR) and F-SHAM group at weaning. Furthermore, protein catabolism activity of microbiota was clearly higher in males and females F-OP compared to F-Sham, as they produced significantly more branched SCFAs. These result could suggest that transfer of bacteria at birth and just after, brought allochthonous bacteria which not settled but may have initiated the intestinal chemico-physical environment, such as oxygen level and pH (Butel et al., 2017a; Milani et al., 2017) in different ways depending on the groups. The role of these branched SCFAs is not yet well documented but their elevated concentration have been linked to insulin-resistance and diabetes mellitus (Lynch and Adams, 2014; Abdul Rahim et al., 2019), hypercholesterolemia (Granado-Serrano et al., 2019), steatosis (Roy et al., 2013) and adipocyte lipid and glucose metabolism (Heimann et al., 2016), which could be linked to greater bodyweight gain of females F-OP during lactation. It is interesting to note that bacterial community structures were better discriminated among females F-OP and F-OR than among males, highlighting early gender effect in microbiota structure.

At PND15 males and females F-OR pups consumed significantly less milk than F-OP pups without significant difference in weight gain. These results showed that the early composition of microbiota may have an immediate impact on host food intake but without affecting growth or food efficiency at this developmental stage. It could be interesting to use metagenomics in order to identify more precisely which bacteria drive F-OP and F-OR intestinal communities.

4.5. Early composition of intestinal microbiota programs eating behaviour

We performed a wide range of behavioural tests to describe in detail the consequences of early transfer of the microbiota on eating behaviour in adulthood. Significant behavioural differences were observed between groups depending on each test protocol and gender. F-OR rats better regulate their consumption of palatable solutions compared to control rats, with an interaction between sex and taste. F-OP females consumed significantly more calories during adolescence and their satiety point at adulthood was delayed compared to F-Sham females. F-OP rats (males and females) were more motivated to perform a task in order to eat a palatable food. Most relevant items of these tests were resumed by the use of an integrated behavioural z-score. This integrated behavioural z-score indicates how many standard deviations (s) an observation (X) is above or below the mean of a control group (m), i.e. $Z = (X - m) / s$. We defined this Z-score based on the methodology presented by Guilloux et al. (2011) who applied it to

define anxiety- and depressive-like state in mice (emotionality) by the use of complementary tests. The method of z-scoring combines multiple ethological variables to show an overall description of a certain behavioural dimension, facilitating the comparison across groups of a great number of tests. This method has been challenged lately by Labots et al. (2018) who recommends the use of a control group whenever possible. Regarding the behavioural items used to calculate this score here, a value significantly above zero is in favour of a higher risk to develop an over-eating disorder predisposing to obesity and a value significantly below zero is associated with a normal-eating behaviour potentially protecting against obesity. Males F-OP had significant higher z-score than males F-OR and therefore are considered to have an eating behaviour at higher risk than F-OR. Females F-OP had a z-score significantly higher than zero and therefore featured significant higher risk.

The different tests used in the present study were intended to reveal differences in groups transferred with maternal microbiota related to predisposition to obesity or not, based on parameters allowing to identify an obesity-related eating behaviour: the two bottle taste choice (sweet or fat tastes), the motivation to consume a palatable food, the ability to regulate the intake of a high energy food, the occurrence of satiety or the intrinsic characteristics of 24H feeding pattern. Our results showed that the early postnatal composition of the gut microbiota could impact eating behaviour at adulthood and that both females and males that have been transferred at birth and through lactation with intestinal, milk and vagina microbiota from OP dams were more prone to be at risk than control pups to have a deleterious eating behaviour. Crossing intestinal microbiota composition at weaning and behavioural items at adulthood could allowing us to identify potential predictive bacterial markers associated with long term behaviour modulations. However, the results are very complex and prevent to conclude on the impact of early microbiota transfer on one aspect of eating behaviour. Whether early microbiota impact a specific component of eating behaviour need to be further investigated. Of course, this is related to the complexity of eating behaviour itself that is the resultant of food intake regulation driven by the energy homeostatic circuits of the hypothalamus, food choices and motivation driven by the non-homeostatic-hedonic component of food intake and also of the gut-brain axis particularly involved in energy regulation and satiation process. In order to deepens our knowledge on the impact of early microbiota transfer on these different regulatory systems, we need to complete these results by a detailed analysis of brain structures development (VTA, NAc, HT, NTS), differential gene expression in brain targeting key functions (dopamine production, transport, signalling) and in gut-brain communication.

4.6. Putative mechanistic pathways through which early intestinal microbiota influence programming of eating behaviour.

Our work assessed the proof of concept that early intestinal microbiota may influence eating behaviour later in life. This influence could be exerted through different pathways. First, **intestinal epithelium** development and function could be affected during early stage (Sommer et al., 2015), such as enteroendocrine cells, which are known to modulate food intake, mainly through gastrointestinal peptide secretion (Martin et al., 2019b). Early microbiota could also influence maturation of **immune system** (Weng and Walker, 2013), whose interactions with peripheral organs are known to be altered in metabolic syndrome (Zmora et al., 2017). Furthermore, early microbiota could influence **host metabolism** by modulating peripheral organs programming such as pancreas, liver, adipose tissue or muscles, also with long-term consequences (Bäckhed, 2011). In turn, these organs influence food intake *via* endocrine and/or immune and/or vagal routes (McDermott et al., 2006; Abdalla, 2017; Browning et al., 2017). However in this work, plasmatic markers were not significantly different between groups, neither at weaning nor at adulthood. The present results tend to rule out the metabolic endocrine route but a more complete characterisation of the energetic regulation is required to conclude on that aspect. Another pathway could be an **early modulation of neurodevelopment** which could lead to long-term consequences on brain structure and function (Bouret et al., 2004a). Characterising apoptosis and proliferation in key brain area of pups such as accumbens nucleus or hippocampus at an early stage could provide some answers. Finally, **microbiota composition itself could be programmed**, leading to modulation in adult microbiota composition and modifying the feeding efficiency (Morel et al., 2015c). However, we failed to demonstrate difference in intestinal microbiota between groups at adulthood that allow us to conclude that intestinal microbiota was not programmed by the early differences observed.

5. CONCLUSION

This work aimed to examine whether neonatal intestinal microbiota influence eating behaviour at adulthood and more specifically if microbiota originated from faeces, vagina and milk of OP or OR dams will differ in their effect. This work is one of the first characterising maternal phenotype and microbiota in OP/OR model through different diets and through gestation and lactation periods. Metabolic parameters, body weight, food intake, faecal and vaginal microbiota composition differentiated the OP and the OR females. Bacterial transfer induced significant differences in intestinal microbiota composition at weaning, and a higher-risk eating behaviour at adulthood for females and males which received OP bacteria in neonatal period. Thus, regarding our experimental conditions, this

study supports the hypothesis that composition of neonatal intestinal microbiota could influence eating behaviour at adulthood. However, such influence was not exerted through programming of intestinal microbiota itself or modulation in metabolism but is related to various aspect of eating behaviour suggesting alterations of brain circuits development and function as well as gut-brain axis modulation. Further work is now needed to characterise these mechanistic pathways, and to identify bacteria or bacterial genes associated to higher-risk to develop altered eating behaviour at adulthood.

REFERENCES

- Abdalla, M. M. I. (2017). Central and peripheral control of food intake. *Endocrine Regulations* 51, 52–70. doi:10.1515/enr-2017-0006.
- Abdelaal, M., le Roux, C. W., and Docherty, N. G. (2017). Morbidity and mortality associated with obesity. *Ann Transl Med* 5. doi:10.21037/atm.2017.03.107.
- Abdul Rahim, M. B. H., Chilloux, J., Martinez-Gili, L., Neves, A. L., Myridakis, A., Gooderham, N., et al. (2019). Diet-induced metabolic changes of the human gut microbiome: importance of short-chain fatty acids, methylamines and indoles. *Acta Diabetol* 56, 493–500. doi:10.1007/s00592-019-01312-x.
- Aron-Wisnewsky, J., Prifti, E., Belda, E., Ichou, F., Kayser, B. D., Dao, M. C., et al. (2019). Major microbiota dysbiosis in severe obesity: fate after bariatric surgery. *Gut* 68, 70–82. doi:10.1136/gutjnl-2018-316103.
- Bäckhed, F. (2011). Programming of host metabolism by the gut microbiota. *Ann. Nutr. Metab.* 58 Suppl 2, 44–52. doi:10.1159/000328042.
- Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Koh, G. Y., Nagy, A., et al. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101, 15718–15723. doi:10.1073/pnas.0407076101.
- Bäckhed, F., Manchester, J. K., Semenkovich, C. F., and Gordon, J. I. (2007). Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 979–984. doi:10.1073/pnas.0605374104.
- Bautista, C. J., Boeck, L., Larrea, F., Nathanielsz, P. W., and Zambrano, E. (2008). Effects of a maternal low protein isocaloric diet on milk leptin and progeny serum leptin concentration and appetitive behavior in the first 21 days of neonatal life in the rat. *Pediatr. Res.* 63, 358–363. doi:10.1203/01.pdr.0000304938.78998.21.
- Blundell, J. E., and McArthur, R. A. (1981). "Behavioural flux and feeding: continuous monitoring of food intake and food selection and the video-recording of appetite and satiety sequences for the analysis of drug action.," in *Anorectic Agents, Mechanisms of Action and Tolerance* (New York: S. Garattini), 19–43.
- Blundell, J. E., Rogers, P. J., and Hill, A. J. (1985). Behavioural structure and mechanisms of anorexia: Calibration of natural and abnormal inhibition of eating. *Brain Research Bulletin* 15, 371–376. doi:10.1016/0361-9230(85)90004-8.
- Boix-Amorós, A., Collado, M. C., and Mira, A. (2016). Relationship between Milk Microbiota, Bacterial Load, Macronutrients, and Human Cells during Lactation. *Front Microbiol* 7. doi:10.3389/fmicb.2016.00492.
- Bouret, S. G., Draper, S. J., and Simerly, R. B. (2004). Trophic action of leptin on hypothalamic neurons that regulate feeding. *Science* 304, 108–110. doi:10.1126/science.1095004.
- Brahe, L. K., Le Chatelier, E., Prifti, E., Pons, N., Kennedy, S., Blædel, T., et al. (2015). Dietary modulation of the gut microbiota – a randomised controlled trial in obese postmenopausal women. *Br J Nutr* 114, 406–417. doi:10.1017/S0007114515001786.

- Bravo, J. A., Julio-Pieper, M., Forsythe, P., Kunze, W., Dinan, T. G., Bienenstock, J., et al. (2012). Communication between gastrointestinal bacteria and the nervous system. *Current Opinion in Pharmacology* 12, 667–672. doi:10.1016/j.coph.2012.09.010.
- Breton, J., Legrand, R., Akkermann, K., Järv, A., Harro, J., Déchelotte, P., et al. (2016). Elevated plasma concentrations of bacterial ClpB protein in patients with eating disorders. *International Journal of Eating Disorders*. doi:10.1002/eat.22531.
- Browning, K. N., Verheijden, S., and Boeckxstaens, G. E. (2017). The vagus nerve in appetite regulation, mood and intestinal inflammation. *Gastroenterology* 152, 730–744. doi:10.1053/j.gastro.2016.10.046.
- Butel, M.-J., Lepage, P., and Collignon, A. (2017). "Etablissement du microbiote: de la période in utero aux premières années de la vie," in *Le microbiote intestinal : un organe à part entière* (France: Maud Thévenin), 25–34.
- Cabrera-Rubio, R., Collado, M. C., Laitinen, K., Salminen, S., Isolauri, E., and Mira, A. (2012). The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am. J. Clin. Nutr.* 96, 544–551. doi:10.3945/ajcn.112.037382.
- Camacho, C., Coulouris, G., Avagyan, V., Ma, N., Papadopoulos, J., Bealer, K., et al. (2009). BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics* 10, 421. doi:10.1186/1471-2105-10-421.
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C. A., Turnbaugh, P. J., et al. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108, 4516–4522. doi:10.1073/pnas.1000080107.
- Cho, I., Yamanishi, S., Cox, L., Methé, B. A., Zavadil, J., Li, K., et al. (2012). Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature* 488, 621–626. doi:10.1038/nature11400.
- Choi, J.-W., Liu, H., Choi, D. K., Oh, T. S., Mukherjee, R., and Yun, J. W. (2012). Profiling of gender-specific rat plasma proteins associated with susceptibility or resistance to diet-induced obesity. *Journal of Proteomics* 75, 1386–1400. doi:10.1016/j.jprot.2011.11.012.
- Conolly, A., and Davies, B. (2018). *Health Survey For England*. London: NATCEN SOCIAL RESEARCH.
- Coupé, B., Delamaire, E., Hoebler, C., Grit, I., Even, P., Fromentin, G., et al. (2011). Hypothalamus integrity and appetite regulation in low birth weight rats reared artificially on a high-protein milk formula. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 22, 956–963. doi:10.1016/j.jnutbio.2010.08.007.
- Cripps, R. L., Martin-Gronert, M. S., and Ozanne, S. E. (2005). Fetal and perinatal programming of appetite. *Clinical Science* 109, 1–11. doi:10.1042/CS20040367.
- Dao, M. C., Belda, E., Prifti, E., Everard, A., Kayser, B. D., Bouillot, J.-L., et al. (2019). *Akkermansia muciniphila* abundance is lower in severe obesity but its increased level after bariatric surgery is not associated with metabolic health improvement. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, ajpendo.00140.2019. doi:10.1152/ajpendo.00140.2019.
- Delbès, A.-S., Castel, J., Denis, R. G. P., Morel, C., Quiñones, M., Everard, A., et al. (2018). Prebiotics Supplementation Impact on the Reinforcing and Motivational Aspect of Feeding. *Front Endocrinol (Lausanne)* 9. doi:10.3389/fendo.2018.00273.
- Derrien, M., Alvarez, A.-S., and de Vos, W. M. (2019). The Gut Microbiota in the First Decade of Life. *Trends in Microbiology*. doi:10.1016/j.tim.2019.08.001.
- Dominguez-Bello, M. G., De Jesus-Laboy, K. M., Shen, N., Cox, L. M., Amir, A., Gonzalez, A., et al. (2016). Partial restoration of the microbiota of cesarean-born infants via vaginal microbial transfer. *Nat. Med.* 22, 250–253. doi:10.1038/nm.4039.
- Eggesbø, M., Moen, B., Peddada, S., Baird, D., Rugtveit, J., Midtvedt, T., et al. (2011). Development of gut microbiota in infants not exposed to medical interventions. *APMIS* 119, 17–35. doi:10.1111/j.1600-0463.2010.02688.x.
- Escudié, F., Auer, L., Bernard, M., Mariadassou, M., Cauquil, L., Vidal, K., et al. (2018). FROGS: Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution. *Bioinformatics* 34, 1287–1294. doi:10.1093/bioinformatics/btx791.

- Everard, A., Lazarevic, V., Gaïa, N., Johansson, M., Ståhlman, M., Backhed, F., et al. (2014). Microbiome of prebiotic-treated mice reveals novel targets involved in host response during obesity. *ISME J* 8, 2116–2130. doi:10.1038/ismej.2014.45.
- Fança-Berthon, P., Hoebler, C., Mouzet, E., David, A., and Michel, C. (2010). Intrauterine Growth Restriction Not Only Modifies the Cecocolonic Microbiota in Neonatal Rats But Also Affects Its Activity in Young Adult Rats: *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 51, 402–413. doi:10.1097/MPG.0b013e3181d75d52.
- Fernández, L., Langa, S., Martín, V., Maldonado, A., Jiménez, E., Martín, R., et al. (2013). The human milk microbiota: Origin and potential roles in health and disease. *Pharmacological Research* 69, 1–10. doi:10.1016/j.phrs.2012.09.001.
- Flint, H. J., Scott, K. P., Louis, P., and Duncan, S. H. (2012). The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 9, 577–589. doi:10.1038/nrgastro.2012.156.
- Friard, O., and Gamba, M. (2016). BORIS: a free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. *Methods in Ecology and Evolution* 7, 1325–1330. doi:10.1111/2041-210X.12584.
- GBD 2015 Obesity Collaborators, Afshin, A., Forouzanfar, M. H., Reitsma, M. B., Sur, P., Estep, K., et al. (2017). Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *N. Engl. J. Med.* 377, 13–27. doi:10.1056/NEJMoa1614362.
- Geurts, L., Lazarevic, V., Derrien, M., Everard, A., Van Roye, M., Knauf, C., et al. (2011). Altered Gut Microbiota and Endocannabinoid System Tone in Obese and Diabetic Leptin-Resistant Mice: Impact on Apelin Regulation in Adipose Tissue. *Front Microbiol* 2. doi:10.3389/fmicb.2011.00149.
- Granado-Serrano, A. B., Martín-Garí, M., Sánchez, V., Solans, M. R., Berdún, R., Ludwig, I. A., et al. (2019). Faecal bacterial and short-chain fatty acids signature in hypercholesterolemia. *Sci Rep* 9, 1–13. doi:10.1038/s41598-019-38874-3.
- Grönlund, M.-M., Grześkowiak, Ł., Isolauri, E., and Salminen, S. (2011). Influence of mother's intestinal microbiota on gut colonization in the infant. *Gut Microbes* 2, 227–233. doi:10.4161/gmic.2.4.16799.
- Guilloux, J.-P., Seney, M., Edgar, N., and Sibille, E. (2011). Integrated Behavioral Z-Scoring Increases the Sensitivity and Reliability of Behavioral Phenotyping in mice: Relevance to Emotionality and Sex. *J Neurosci Methods* 197, 21–31. doi:10.1016/j.jneumeth.2011.01.019.
- Heijtz, R. D., Wang, S., Anuar, F., Qian, Y., Björkholm, B., Samuelsson, A., et al. (2011). Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 3047–3052. doi:10.1073/pnas.1010529108.
- Heimann, E., Nyman, M., Pålbrink, A.-K., Lindkvist-Petersson, K., and Degerman, E. (2016). Branched short-chain fatty acids modulate glucose and lipid metabolism in primary adipocytes. *Adipocyte* 5, 359–368. doi:10.1080/21623945.2016.1252011.
- Heiss, C. N., and Olofsson, L. E. (2018). Gut Microbiota-Dependent Modulation of Energy Metabolism. *JIN* 10, 163–171. doi:10.1159/000481519.
- Herrmann, E., Young, W., Rosendale, D., Reichert-Grimm, V., Riedel, C. U., Conrad, R., et al. (2017). RNA-Based Stable Isotope Probing Suggests *Allobaculum* spp. as Particularly Active Glucose Assimilators in a Complex Murine Microbiota Cultured In Vitro. *Biomed Res Int* 2017. doi:10.1155/2017/1829685.
- Jakobsdottir, G., Nyman, M., and Fålk, F. (2014). Designing future prebiotic fiber to target metabolic syndrome. *Nutrition* 30, 497–502. doi:10.1016/j.nut.2013.08.013.
- Jakobsson, H. E., Rodríguez-Piñeiro, A. M., Schütte, A., Ermund, A., Boysen, P., Bemark, M., et al. (2015). The composition of the gut microbiota shapes the colon mucus barrier. *EMBO Rep* 16, 164–177. doi:10.15252/embr.201439263.
- Jiménez, E., Fernández, L., Maldonado, A., Martín, R., Olivares, M., Xaus, J., et al. (2008). Oral Administration of *Lactobacillus* Strains Isolated from Breast Milk as an Alternative for the Treatment of Infectious Mastitis during Lactation. *Appl Environ Microbiol* 74, 4650–4655. doi:10.1128/AEM.02599-07.

- Jost, T., Lacroix, C., Braegger, C. P., Rochat, F., and Chassard, C. (2014). Vertical mother-neonate transfer of maternal gut bacteria via breastfeeding. *Environ. Microbiol.* 16, 2891–2904. doi:10.1111/1462-2920.12238.
- Juonala, M., Lau, T., Wake, M., Grobler, A., Kerr, J. A., Magnussen, C. G., et al. (2019). Early clinical markers of overweight/obesity onset and resolution by adolescence. *Int J Obes*, 1–12. doi:10.1038/s41366-019-0457-2.
- Kim, K.-A., Gu, W., Lee, I.-A., Joh, E.-H., and Kim, D.-H. (2012). High Fat Diet-Induced Gut Microbiota Exacerbates Inflammation and Obesity in Mice via the TLR4 Signaling Pathway. *PLoS One* 7. doi:10.1371/journal.pone.0047713.
- Labots, M. M., Laarakker, M. C. M., Schettters, D. D., Arndt, S. S. S., and van Lith, H. A. H. (2018). An improved procedure for integrated behavioral z-scoring illustrated with modified Hole Board behavior of male inbred laboratory mice. *J. Neurosci. Methods* 293, 375–388. doi:10.1016/j.jneumeth.2017.09.003.
- Le Chatelier, E., Nielsen, T., Qin, J., Prifti, E., Hildebrand, F., Falony, G., et al. (2013). Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* 500, 541–546. doi:10.1038/nature12506.
- Le Roy, C. I., Bowyer, R. C. E., Castillo-Fernandez, J. E., Pallister, T., Menni, C., Steves, C. J., et al. (2019). Dissecting the role of the gut microbiota and diet on visceral fat mass accumulation. *Sci Rep* 9. doi:10.1038/s41598-019-46193-w.
- Leclercq, S., Mian, F. M., Stanisz, A. M., Bindels, L. B., Cambier, E., Ben-Amram, H., et al. (2017). Low-dose penicillin in early life induces long-term changes in murine gut microbiota, brain cytokines and behavior. *Nat Commun* 8. doi:10.1038/ncomms15062.
- Levin, B. E. (1999). Arcuate NPY neurons and energy homeostasis in diet-induced obese and resistant rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 276, R382–R387. doi:10.1152/ajpregu.1999.276.2.R382.
- Levin, B. E., Dunn-Meynell, A. A., Balkan, B., and Keesey, R. E. (1997). Selective breeding for diet-induced obesity and resistance in Sprague-Dawley rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 273, R725–R730. doi:10.1152/ajpregu.1997.273.2.R725.
- Levin, B. E., and Govek, E. (1998). Gestational obesity accentuates obesity in obesity-prone progeny. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 275, R1374–R1379. doi:10.1152/ajpregu.1998.275.4.R1374.
- Levin, B. E., Triscari, J., and Sullivan, A. C. (1986). Metabolic features of diet-induced obesity without hyperphagia in young rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 251, R433–R440. doi:10.1152/ajpregu.1986.251.3.R433.
- Love, M. I., Huber, W., and Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology* 15, 550. doi:10.1186/s13059-014-0550-8.
- Lynch, C. J., and Adams, S. H. (2014). Branched-chain amino acids in metabolic signalling and insulin resistance. *Nat Rev Endocrinol* 10, 723–736. doi:10.1038/nrendo.2014.171.
- Madsen, A. N., Hansen, G., Paulsen, S. J., Lykkegaard, K., Tang-Christensen, M., Hansen, H. S., et al. (2010). Long-term characterization of the diet-induced obese and diet-resistant rat model: a polygenetic rat model mimicking the human obesity syndrome. *Journal of Endocrinology* 206, 287–296. doi:10.1677/JOE-10-0004.
- Mahé, F., Rognes, T., Quince, C., de Vargas, C., and Dunthorn, M. (2014). Swarm: robust and fast clustering method for amplicon-based studies. *PeerJ* 2. doi:10.7717/peerj.593.
- Marteau, P., and Doré, J. (2017). *Le microbiote intestinal: un organe à part entière*. France: John Libbey Eurotext.
- Martin, A. M., Sun, E. W., Rogers, G. B., and Keating, D. J. (2019). The Influence of the Gut Microbiome on Host Metabolism Through the Regulation of Gut Hormone Release. *Front Physiol* 10. doi:10.3389/fphys.2019.00428.

- Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.journal* 17, 10–12. doi:10.14806/ej.17.1.200.
- Martín, R., Heilig, G. H. J., Zoetendal, E. G., Smidt, H., and Rodríguez, J. M. (2007). Diversity of the Lactobacillus group in breast milk and vagina of healthy women and potential role in the colonization of the infant gut. *J. Appl. Microbiol.* 103, 2638–2644. doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03497.x.
- Martín, V., Maldonado-Barragán, A., Moles, L., Rodríguez-Baños, M., Campo, R. del, Fernández, L., et al. (2012). Sharing of Bacterial Strains Between Breast Milk and Infant Feces. *J Hum Lact* 28, 36–44. doi:10.1177/0890334411424729.
- Martinez, K. A., Devlin, J. C., Lacher, C. R., Yin, Y., Cai, Y., Wang, J., et al. (2017). Increased weight gain by C-section: Functional significance of the primordial microbiome. *Science Advances* 3, eaao1874. doi:10.1126/sciadv.aao1874.
- Matsumiya, Y., Kato, N., Watanabe, K., and Kato, H. (2002). Molecular epidemiological study of vertical transmission of vaginal Lactobacillus species from mothers to newborn infants in Japanese, by arbitrarily primed polymerase chain reaction. *J. Infect. Chemother.* 8, 43–49. doi:10.1007/s101560200005.
- Matta, J., Zins, M., Feral-Pierssens, A.-L., Carette, C., Ozguler, A., Goldberg, M., et al. (2016). Prévalence du surpoids, de l'obésité et des facteurs de risque cardio-métaboliques dans la cohorte Constances.
- McDermott, J. R., Leslie, F. C., D'Amato, M., Thompson, D. G., Grecis, R. K., and McLaughlin, J. T. (2006). Immune control of food intake: enteroendocrine cells are regulated by CD4+ T lymphocytes during small intestinal inflammation. *Gut* 55, 492–497. doi:10.1136/gut.2005.081752.
- McMurdie, P. J., and Holmes, S. (2013). phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS One* 8. doi:10.1371/journal.pone.0061217.
- Milani, C., Duranti, S., Bottacini, F., Casey, E., Turrone, F., Mahony, J., et al. (2017). The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 81, e00036-17, /mmb/81/4/e00036-17.atom. doi:10.1128/MMBR.00036-17.
- Morel, F. B., Oozeer, R., Piloquet, H., Moyon, T., Pagniez, A., Knol, J., et al. (2015). Prewaning modulation of intestinal microbiota by oligosaccharides or amoxicillin can contribute to programming of adult microbiota in rats. *Nutrition* 31, 515–522. doi:10.1016/j.nut.2014.09.011.
- Morelli, L. (2017). "Chapter 23 - Bacteria in Yogurt and Strain-Dependent Effects on Gut Health," in *Yogurt in Health and Disease Prevention*, ed. N. P. Shah (Academic Press), 395–410. doi:10.1016/B978-0-12-805134-4.00023-7.
- Mueller, N. T., Bakacs, E., Combellick, J., Grigoryan, Z., and Dominguez-Bello, M. G. (2015). The infant microbiome development: mom matters. *Trends Mol Med* 21, 109–117. doi:10.1016/j.molmed.2014.12.002.
- Neuendorf, E., Gajer, P., Bowlin, A. K., Marques, P. X., Ma, B., Yang, H., et al. (2015). Chlamydia caviae infection alters abundance but not composition of the guinea pig vaginal microbiota. *Pathogens and Disease* 73. doi:10.1093/femspd/ftv019.
- Obanda, D., Page, R., Guice, J., Raggio, A. M., Husseneder, C., Marx, B., et al. (2018). CD Obesity-Prone Rats, but not Obesity-Resistant Rats, Robustly Ferment Resistant Starch Without Increased Weight or Fat Accretion: CD Obesity-Prone Rats Ferment Resistant Starch. *Obesity* 26, 570–577. doi:10.1002/oby.22120.
- Paliy, O., Piyathilake, C. J., Kozyrskyj, A., Celep, G., Marotta, F., and Rastmanesh, R. (2014). Excess body weight during pregnancy and offspring obesity: potential mechanisms. *Nutrition* 30, 245–251. doi:10.1016/j.nut.2013.05.011.
- Paradis, J., Boureau, P., Moyon, T., Nicklaus, S., Parnet, P., and Paillé, V. (2017). Perinatal Western Diet Consumption Leads to Profound Plasticity and GABAergic Phenotype Changes within Hypothalamus and Reward Pathway from Birth to Sexual Maturity in Rat. *Front Endocrinol (Lausanne)* 8. doi:10.3389/fendo.2017.00216.
- Peciña, S., Cagniard, B., Berridge, K. C., Aldridge, J. W., and Zhuang, X. (2003). Hyperdopaminergic Mutant Mice Have Higher "Wanting" But Not "Liking" for Sweet

- Rewards. *J. Neurosci.* 23, 9395–9402. doi:10.1523/JNEUROSCI.23-28-09395.2003.
- Perez, P. F., Doré, J., Leclerc, M., Levenez, F., Benyacoub, J., Serrant, P., et al. (2007). Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? *Pediatrics* 119, e724-732. doi:10.1542/peds.2006-1649.
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., et al. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res* 41, D590–D596. doi:10.1093/nar/gks1219.
- R Core Team (2019). *R: A language and environment for statistical computing*. Available at: <https://www.R-project.org/>.
- Rhayat, L., Maresca, M., Nicoletti, C., Perrier, J., Brinch, K. S., Christian, S., et al. (2019). Effect of *Bacillus subtilis* Strains on Intestinal Barrier Function and Inflammatory Response. *Front. Immunol.* 10. doi:10.3389/fimmu.2019.00564.
- Ricci, M. R., and Levin, B. E. (2003). Ontogeny of diet-induced obesity in selectively bred Sprague-Dawley rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 285, R610–R618. doi:10.1152/ajpregu.00235.2003.
- Ridaura, V. K., Faith, J. J., Rey, F. E., Cheng, J., Duncan, A. E., Kau, A. L., et al. (2013). Cultured gut microbiota from twins discordant for obesity modulate adiposity and metabolic phenotypes in mice. *Science* 341. doi:10.1126/science.1241214.
- Riva, A., Borgo, F., Lassandro, C., Verduci, E., Morace, G., Borghi, E., et al. (2017). Pediatric obesity is associated with an altered gut microbiota and discordant shifts in Firmicutes populations. *Environ. Microbiol.* 19, 95–105. doi:10.1111/1462-2920.13463.
- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., and Mahé, F. (2016). VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ* 4. doi:10.7717/peerj.2584.
- Ross, M. G., and Desai, M. (2014). Developmental Programming of Appetite/Satiety. *ANM* 64, 36–44. doi:10.1159/000360508.
- Roy, T. L., Llopis, M., Lepage, P., Bruneau, A., Rabot, S., Bevilacqua, C., et al. (2013). Intestinal microbiota determines development of non-alcoholic fatty liver disease in mice. *Gut* 62, 1787–1794. doi:10.1136/gutjnl-2012-303816.
- RStudio Team (2016). *RStudio: Integrated development environment for R*.
- Schéle, E., Grahnemo, L., Anesten, F., Hallén, A., Bäckhed, F., and Jansson, J.-O. (2013). The Gut Microbiota Reduces Leptin Sensitivity and the Expression of the Obesity-Suppressing Neuropeptides Proglucagon (Gcg) and Brain-Derived Neurotrophic Factor (Bdnf) in the Central Nervous System. *Endocrinology* 154, 3643–3651. doi:10.1210/en.2012-2151.
- Scholtens, P. A. M. J., Oozeer, R., Martin, R., Amor, K. B., and Knol, J. (2012). The early settlers: intestinal microbiology in early life. *Annu Rev Food Sci Technol* 3, 425–447. doi:10.1146/annurev-food-022811-101120.
- Sevrin, T., Alexandre-Gouabau, M.-C., Darmaun, D., Palvadeau, A., André, A., Nguyen, P., et al. (2017). Use of water turnover method to measure mother’s milk flow in a rat model: Application to dams receiving a low protein diet during gestation and lactation. *PLoS ONE* 12, e0180550. doi:10.1371/journal.pone.0180550.
- Sommer, F., Nookaew, I., Sommer, N., Fogelstrand, P., and Bäckhed, F. (2015). Site-specific programming of the host epithelial transcriptome by the gut microbiota. *Genome Biology* 16, 62. doi:10.1186/s13059-015-0614-4.
- Vijay-Kumar, M., Aitken, J. D., Carvalho, F. A., Cullender, T. C., Mwangi, S., Srinivasan, S., et al. (2010). Metabolic Syndrome and Altered Gut Microbiota in Mice Lacking Toll-Like Receptor 5. *Science* 328, 228–231. doi:10.1126/science.1179721.
- Vrbanac, A., Riestra, A. M., Coady, A., Knight, R., Nizet, V., and Patras, K. A. (2018). The murine vaginal microbiota and its perturbation by the human pathogen group B *Streptococcus*. *BMC Microbiology* 18, 197. doi:10.1186/s12866-018-1341-2.
- Ward, Z. J., Long, M. W., Resch, S. C., Giles, C. M., Craddock, A. L., and Gortmaker, S. L. (2017). Simulation of Growth Trajectories of Childhood Obesity into Adulthood. *New England Journal of Medicine* 377, 2145–2153. doi:10.1056/NEJMoa1703860.

- Warren, M. F., Hallowell, H. A., Higgins, K. V., Liles, M. R., and Hood, W. R. (2019). Maternal Dietary Protein Intake Influences Milk and Offspring Gut Microbial Diversity in a Rat (*Rattus norvegicus*) Model. *Nutrients* 11, 2257. doi:10.3390/nu11092257.
- Wasielewski, H., Alcock, J., and Aktipis, A. (2016). Resource conflict and cooperation between human host and gut microbiota: implications for nutrition and health. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1372, 20–28. doi:10.1111/nyas.13118.
- Weng, M., and Walker, W. A. (2013). The role of gut microbiota in programming the immune phenotype. *J Dev Orig Health Dis* 4. doi:10.1017/S2040174412000712.
- WHO (2018). Obesity and overweight. *World Health Organization*. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> [Accessed November 10, 2019].
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Available at: <https://ggplot2.tidyverse.org>.
- Wong, J. K., Sharp, K., and Steward, O. (2009). A Straight Alley Version of the BBB Locomotor Scale. *Exp Neurol* 217, 417–420. doi:10.1016/j.expneurol.2009.03.037.
- Zmora, N., Bashardes, S., Levy, M., and Elinav, E. (2017). The Role of the Immune System in Metabolic Health and Disease. *Cell Metabolism* 25, 506–521. doi:10.1016/j.cmet.2017.02.006.

Table 1. Evolution of plasma markers concentrations of females OP and OR under SD and HED. 4W, 6W, 22W: measured were done 4, 6, 22 weeks after the beginning of hyperenergetic diet (HED). n=7-9 OR; n=9 OP. Data are expressed as mean \pm SEM. Multiple T-tests. Different letters correspond to significant difference among OR **or** among OP females across diets. * correspond to significant difference between OP and OR females at the same period.

	OR				OP			
	SD	4W HED	6W HED	22W HED	SD	4W HED	6W HED	22W HED
Leptin (ng/mL)	0.86 \pm 0.14 ^{*a}	0.96 \pm 0.11 ^{*a}	1.71 \pm 0.26 ^{*b}	3.06 \pm 1.00 ^{*b}	1.71 \pm 0.17 ^a	7.37 \pm 0.55 ^b	10.00 \pm 0.13 ^c	34.48 \pm 2.15 ^d
Insulin (ng/mL)	0.45 \pm 0.12 ^a	0.62 \pm 0.11 ^a	0.27 \pm 0.04 ^{*b}	0.28 \pm 0.05 ^{*b}	0.26 \pm 0.05 ^a	0.47 \pm 0.06 ^b	0.81 \pm 0.11 ^c	2.22 \pm 0.46 ^d
Triglycerides (mg/dL)	48.49 \pm 4.18 ^{*ab}	43.99 \pm 2.42 ^{*a}	59.14 \pm 4.43 ^{*b}	115.50 \pm 28.22 ^{*c}	68.56 \pm 3.60 ^a	65.67 \pm 4.80 ^a	85.78 \pm 6.16 ^b	643.12 \pm 150.51 ^c
Total cholesterol (mg/dL)	82.46 \pm 2.14 ^{*ac}	75.56 \pm 2.78 ^{*b}	83.61 \pm 2.68 ^{*a}	97.77 \pm 9.78 ^c	74.81 \pm 1.49 ^a	64.49 \pm 1.78 ^b	71.73 \pm 1.34 ^a	180.36 \pm 51.10 ^c
Glycemia (mg/dL)	138.71 \pm 5.47 ^{*a}	131.74 \pm 3.78 ^a	147.68 \pm 3.89 ^b	117.63 \pm 5.20 ^{*c}	119.86 \pm 2.88 ^a	131.53 \pm 3.38 ^b	150.50 \pm 4.32 ^c	194.51 \pm 18.70 ^d

Table 2. SCFAs concentrations in μmol per g of caecocolic content and in percentage measured in pups at PND21. Data are expressed as mean \pm SEM; Multiple T-tests; n=8-10 per group/sex. Different letter mean significant difference between same-sex groups. * correspond to difference between males and females among the same group. *SCFA: short-chain fatty acid*

	Females			Males		
	F-SHAM	F-OP	F-OR	F-SHAM	F-OP	F-OR
Total SCFAs ($\mu\text{mol/g}$)	53.8 \pm 3.9 ^a	53.0 \pm 4.8 ^a	45.8 \pm 5.9 ^a	46.1 \pm 6.0 ^a	55.3 \pm 6.8 ^a	47.4 \pm 5.7 ^a
Major SCFAs ($\mu\text{mol/g}$)	53.3 \pm 3.8 ^a	52.1 \pm 4.6 ^a	45.4 \pm 5.9 ^a	45.7 \pm 5.9 ^a	54.3 \pm 6.7 ^a	46.9 \pm 5.6 ^a
Branched SCFAs ($\mu\text{mol/g}$)	0.60 \pm 0.08 ^a	1.02 \pm 0.10 ^b	0.43 \pm 0.06 ^a	0.40 \pm 0.08 ^a	1.05 \pm 0.1 ^b	0.49 \pm 0.15 ^a
Acetate (%)	71.2 \pm 1.8 ^a	69.8 \pm 2.0 ^a	69.8 \pm 2.3 ^a	69.5 \pm 2.2 ^a	74.4 \pm 1.8 ^a	71.4 \pm 2.8 ^a
Propionate (%)	14.1 \pm 0.7 ^a	14.8 \pm 0.7 ^a	15.1 \pm 1.0 ^a	16.8 \pm 1.6 ^a	13.8 \pm 0.7 ^a	15.4 \pm 1.2 ^a
Butyrate (%)	13.7 \pm 1.6 ^a	13.8 \pm 1.7 ^a	14.3 \pm 1.9 ^a	12.9 \pm 2.1 ^a	9.9 \pm 1.7 ^a	12.2 \pm 2.3 ^a
Branched SCFAs (%)	1.1 \pm 0.1 ^a	1.8 \pm 0.2 ^b	0.9 \pm 0.1 ^a	0.9 \pm 0.2 ^a	2.0 \pm 0.2 ^b	1.0 \pm 0.2 ^a

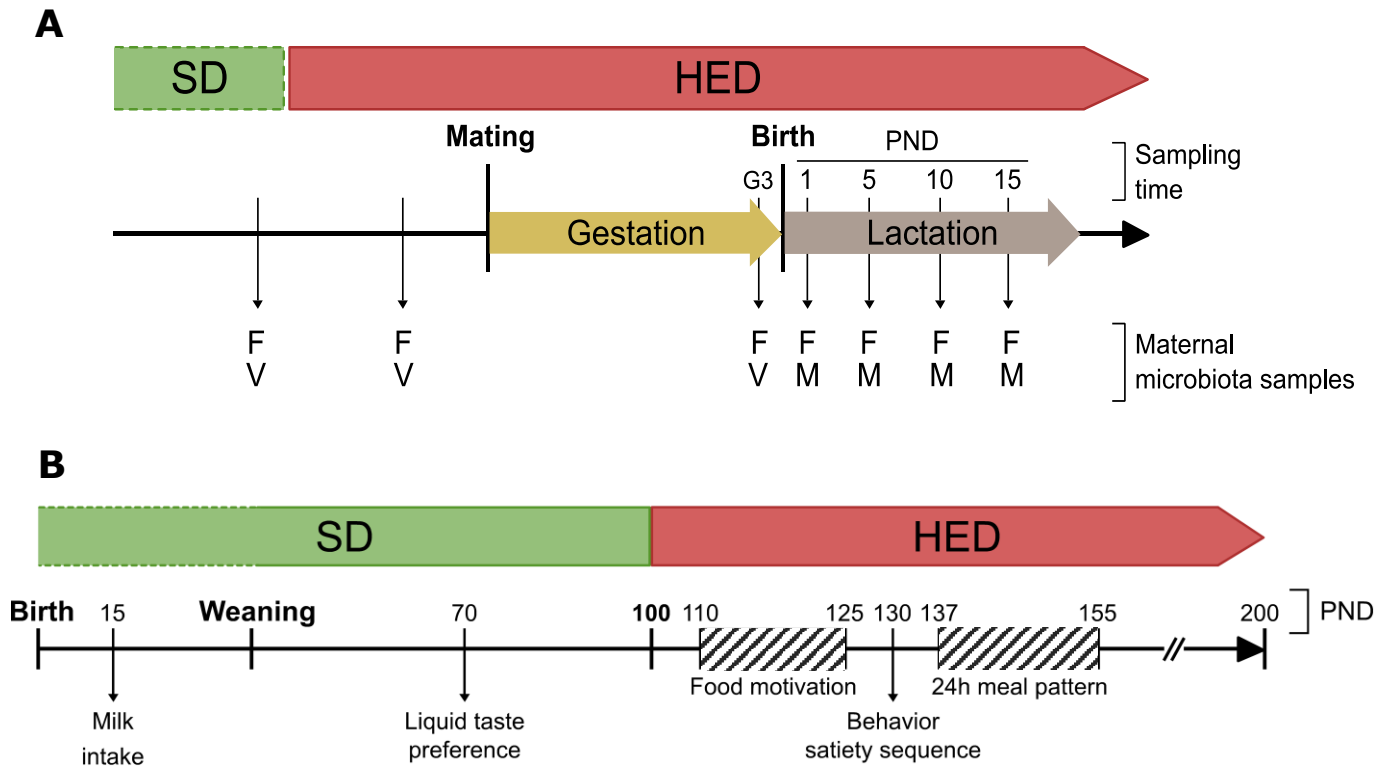


Figure 1. A) Timeline of maternal microbiota collection from OP and OR dams. Vaginal microbiota (V) was collected during standard diet (SD) and hyperenergetic diet (HED), plus at the end of the third week of gestation (G3). Milk microbiota (M) was collected every 5 days from postnatal day (PND) 1 to PND15. Fecal microbiota (F) was collected every time. **B) Timeline of behavioral tests performed on Fischer pups before and after weaning.**

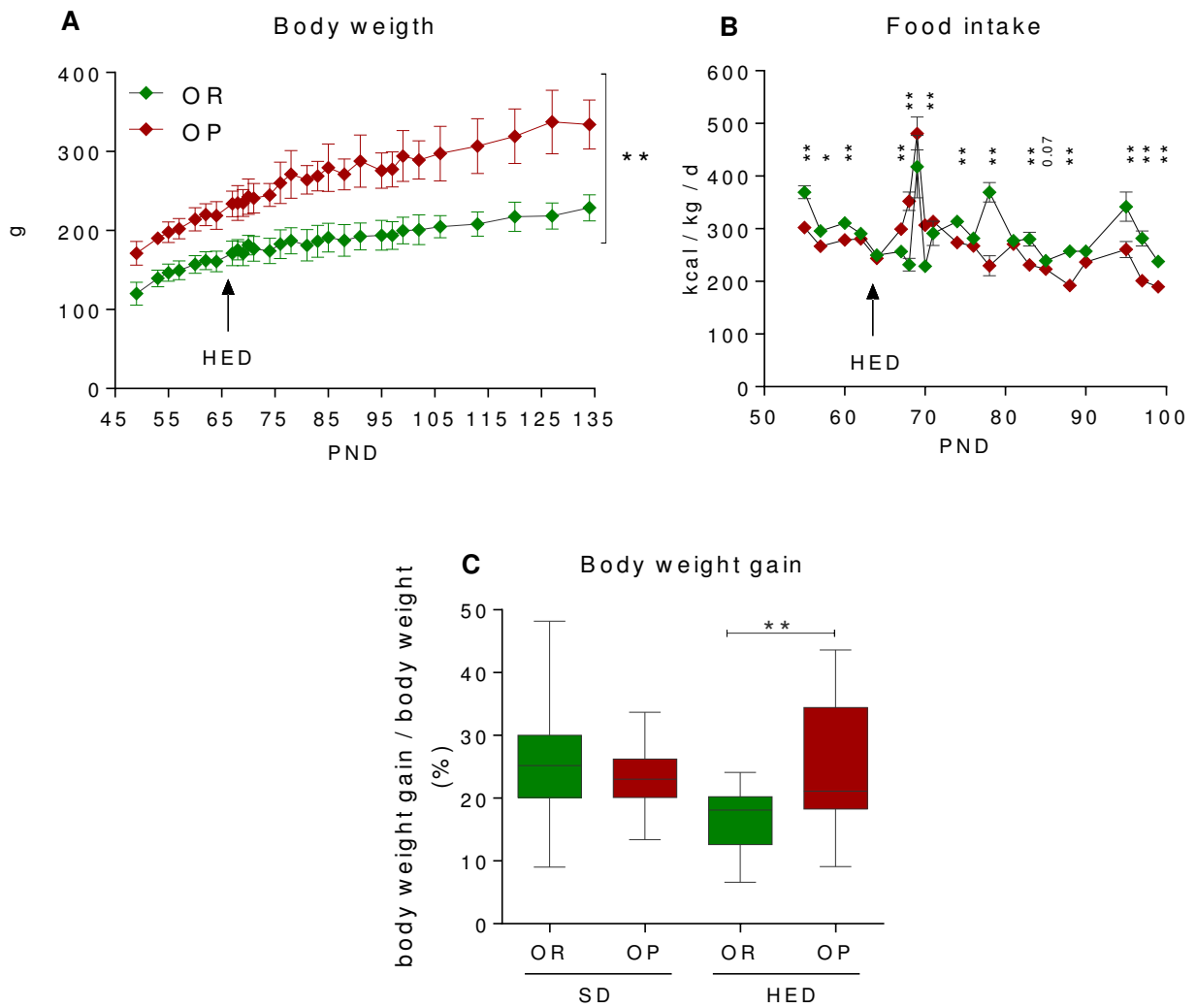


Figure 2. Body weight (A), food intake (B) and body weight gain (C) of OP and OR females fed SD and then HED from PND67. n=9 OP; n=9 OR. **A)** Data are expressed as mean \pm SD; Multiple T-test; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. **B)** Data are expressed as mean \pm SEM; Multiple T-test; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. **C)** Data are expressed as medians \pm min and max values; 1-way ANOVA + Tukey's post-hoc comparisons; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

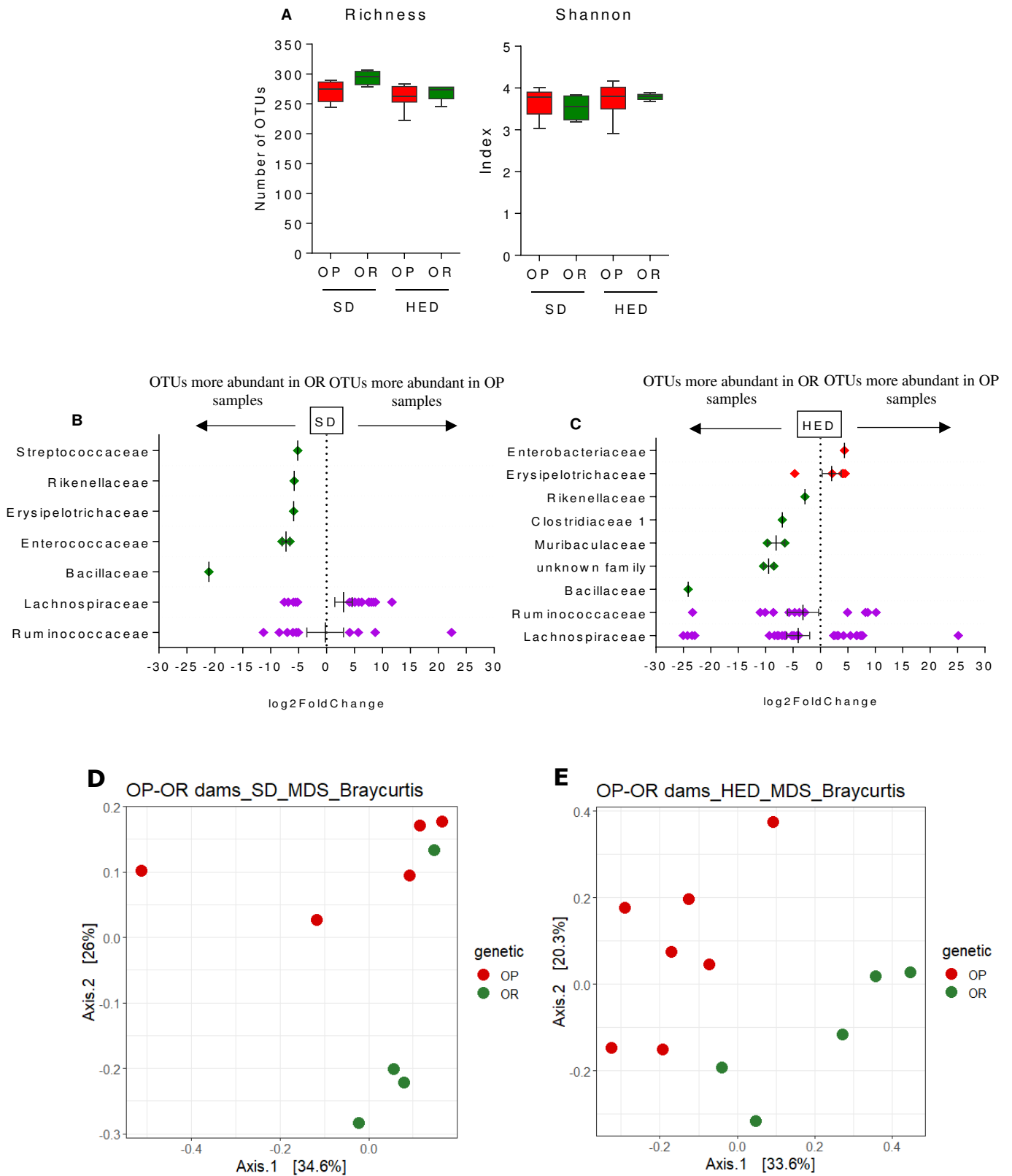


Figure 3. Structure and composition of faecal microbiota of OP and OR dams fed SD and after 7 weeks fed HED. SD: OP=5, OR=4; HED: OP=7; OR=5. **A)** Data are medians \pm min and max values. Alpha-diversity indexes. Richness is the number of different OTUs identified in samples. Shannon is the evenness of the OTUs abundance distribution. 2ways-ANOVA. **B** and **C)** For Lachnospiraceae and Ruminococcaceae data are means \pm SEM. Significant differential abundances between OP and OR dams fed SD and HED expressed as Log₂ Fold change. **D** and **E)** MDS based on weighted Unifrac matrix for SD samples and Bray Curtis matrix for HED samples representing

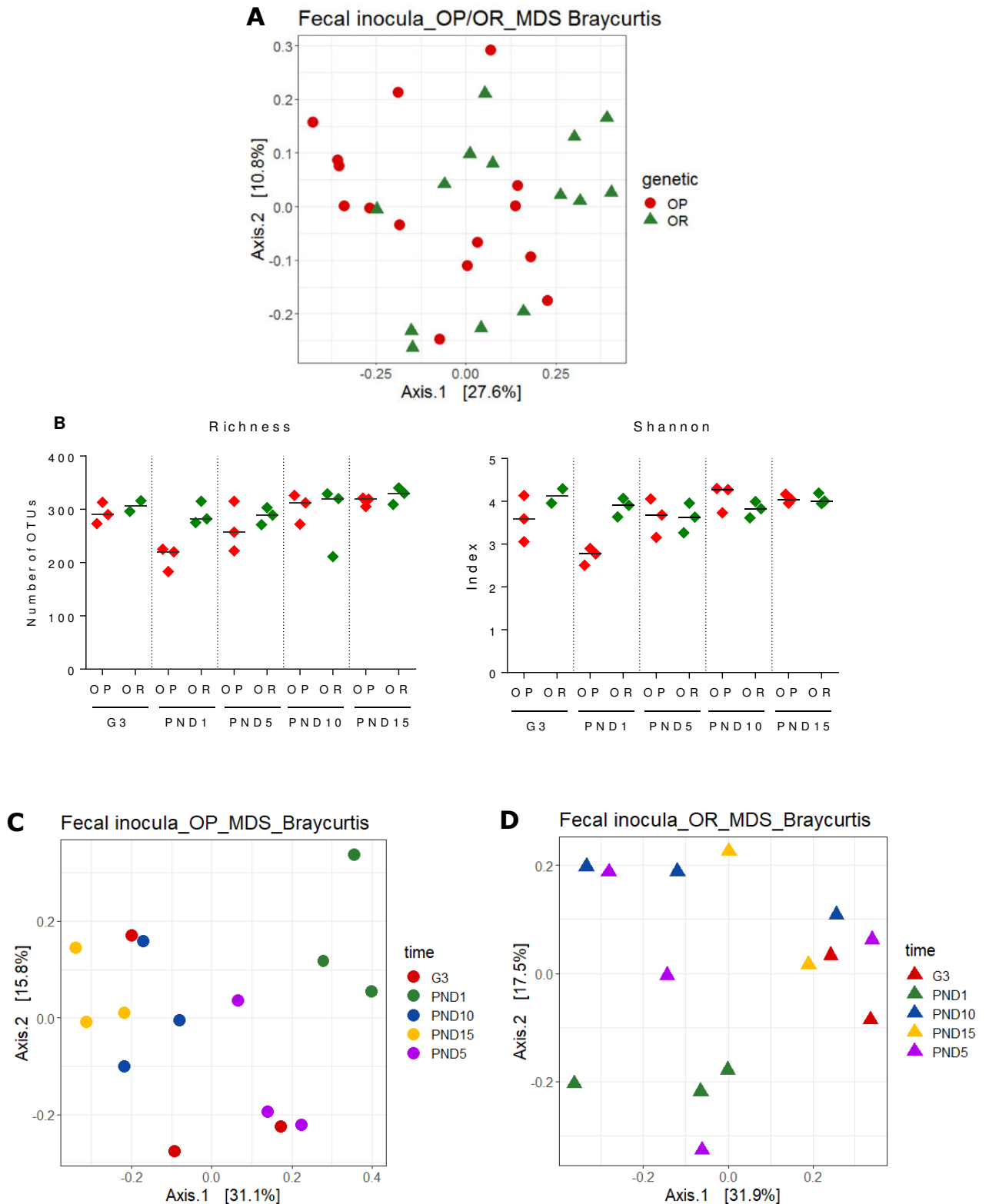


Figure 4. Structure and composition of fecal inocula microbiota of OP and OR dams according to sampling time (G3, PND1, PND5, PND10 and PND15). n=3 (except for OR_G3 and OR_G15 n=2). **A)** MDS based on Bray Curtis matrix representing distances between all bacterial communities of faecal inocula. FROGS PerMANOVA (see text). **B)** Alpha-diversity indexes. Data are expressed as median. FROGS ANOVAs p<0.001 for both indexes **C)** MDS based on Bray Curtis matrix representing distances among bacterial communities of OP faecal inocula. FROGS PerMANOVA (see text). **D)** MDS based on Bray Curtis matrix representing distances among bacterial communities of OR faecal inocula. FROGS PerMANOVA (see text).

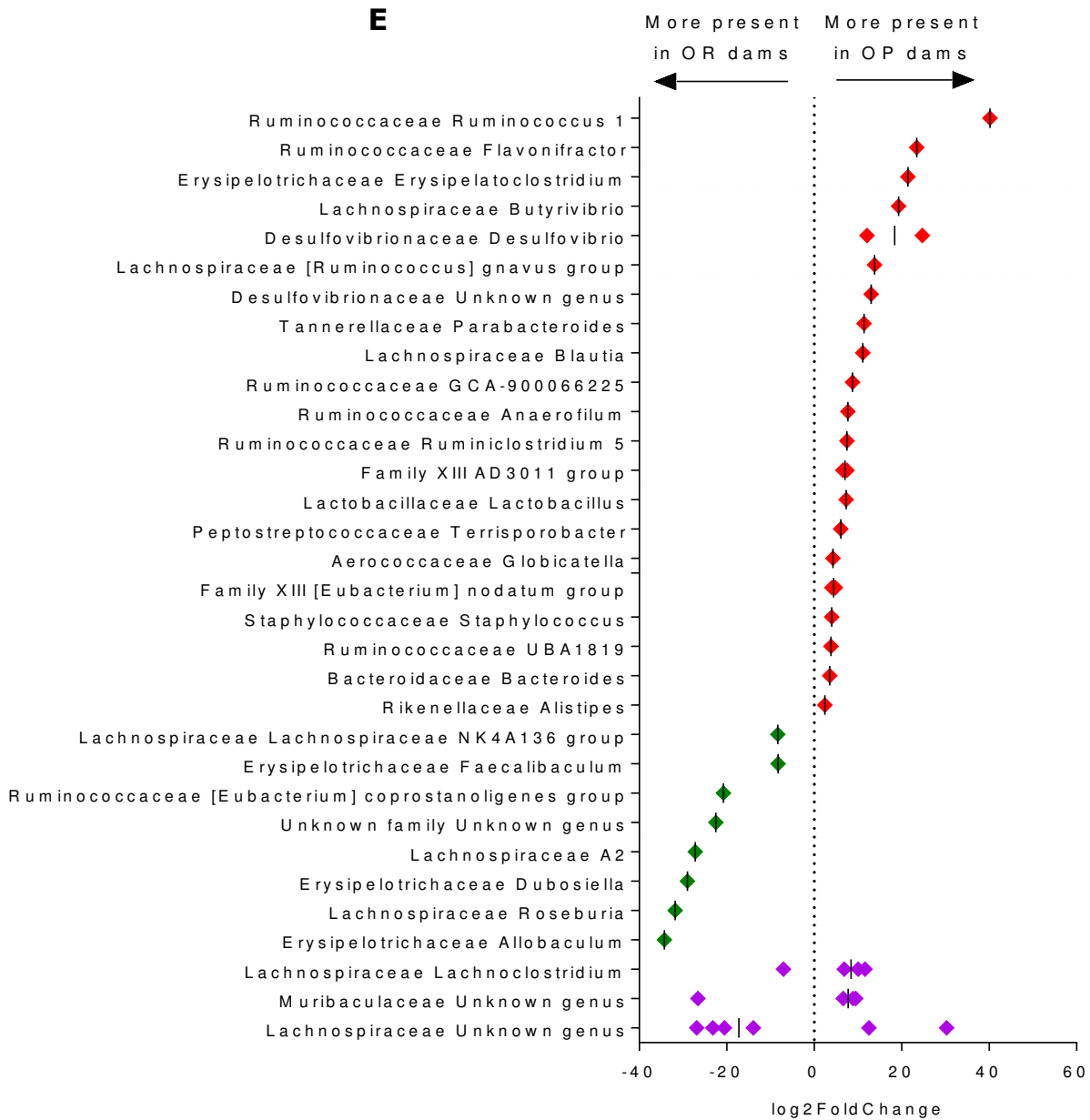


Figure 4 (bis). Structure and composition of faecal inocula microbiota of OP and OR dams at G3, PND1, PND5, PND10 and PND15. n=3 (except for OR_G3 and OR_G15 n=2). **E**) Significant differential abundances in taxonomic families between OP and OR faecal inocula collected at PND1, expressed as Log₂ Fold change.

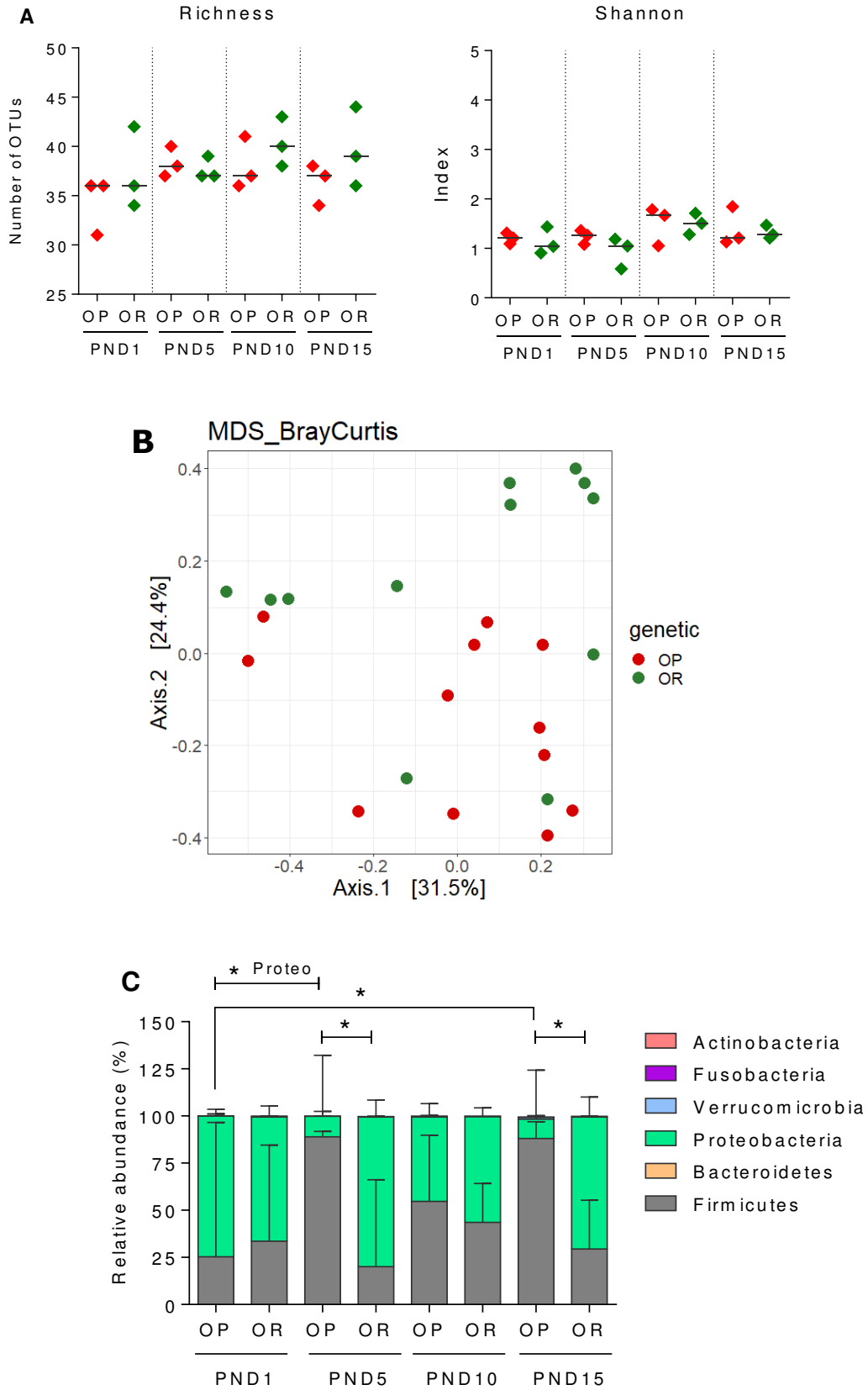


Figure 5. Structure and composition of cultivated milk inocula of OP and OR dams at PND1, PND5, PND10, PND15. n=3 **A**) Alpha-diversity indexes. Richness is the number of different OTUs identified in samples. Shannon is the evenness of the OTUs abundance distribution. Data are expressed as median. **B**) MDS based on Bray-Curtis matrix representing distances between OP and OR bacterial communities of cultivated milk inocula. FROGS PerMANOVA. **C**) Relative abundances of the 6 most abundant phyla in cultivated milk inocula. Data are expressed as median \pm range. 2-ways ANOVA, * $p < 0.05$.

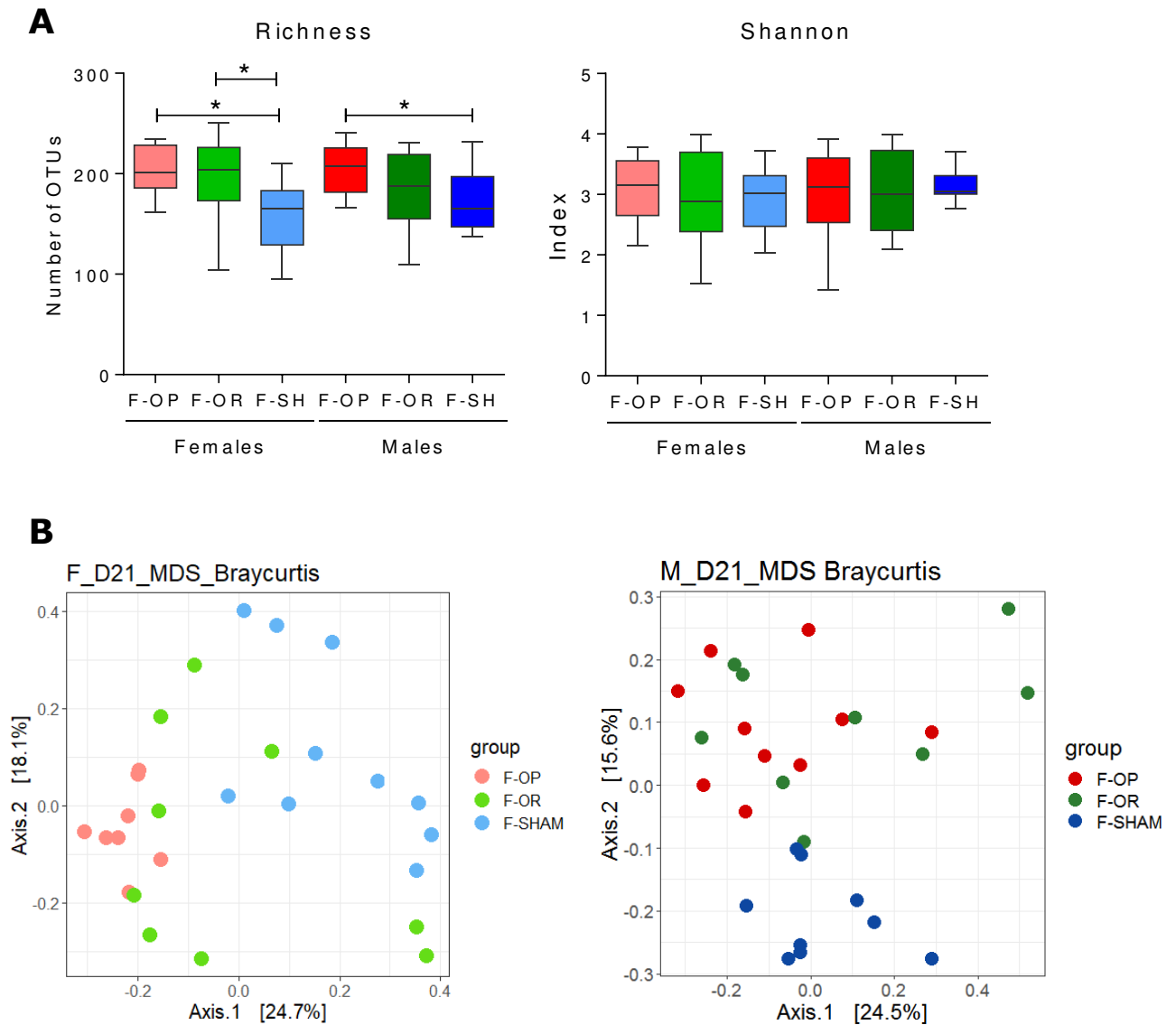


Figure 6. Intestinal microbiota composition and structure of female and male pups at PND21. A) Alpha-diversity indexes. Data are expressed as median. $n=14-16$; Two-ways ANOVA; * $p<0.05$. *F-SH*: F-Sham **B)** MDS based on Bray-Curtis matrix representing distances between groups bacterial communities. FROGS PerMANOVA (see text).

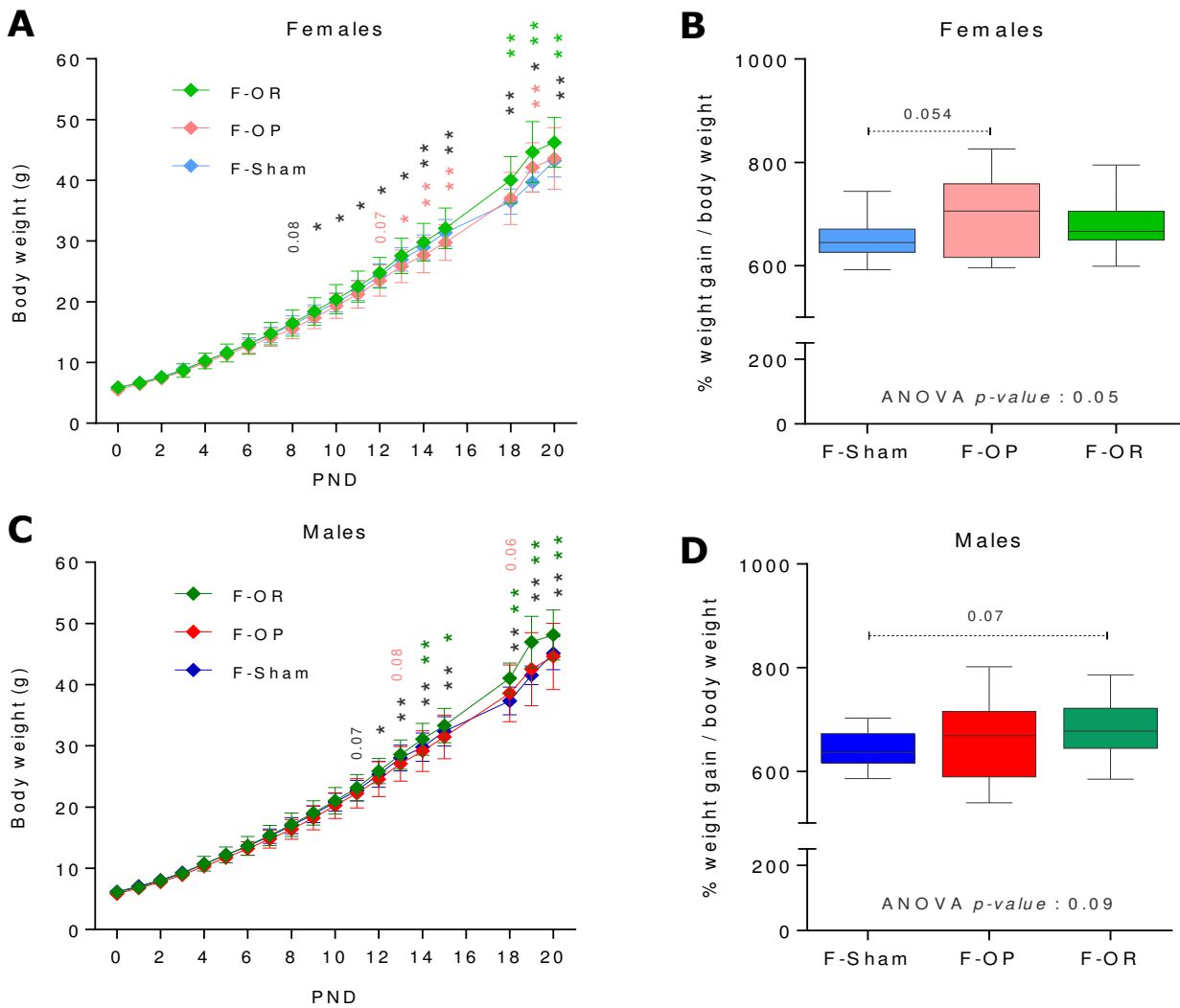


Figure 7. Pups growth during lactation period. **A** and **C**) Females and males bodyweight. n=34-37 from PND0 to 15, and n=16-19 from PND16 to 21 for females. n=35-38 from PND0 to 15, and n=23-26 from PND 16 to 21 for males. Data are expressed as means \pm SD; Multiple T-tests; * p <0.05, ** p <0.01; * correspond to differences between F-OP and F-Sham; * correspond to differences between F-OR and F-Sham; * correspond to differences between F-OP and F-OR. **B** and **D**) Females and males relative bodyweight from PND0 to 21, obtain by dividing the percentage of body weight gain by the initial body weight. n=16-19 females and n=23-26 males. Data are expressed as medians \pm min-max values; 1way ANOVA + post-hoc Tukey's paired wise comparisons.

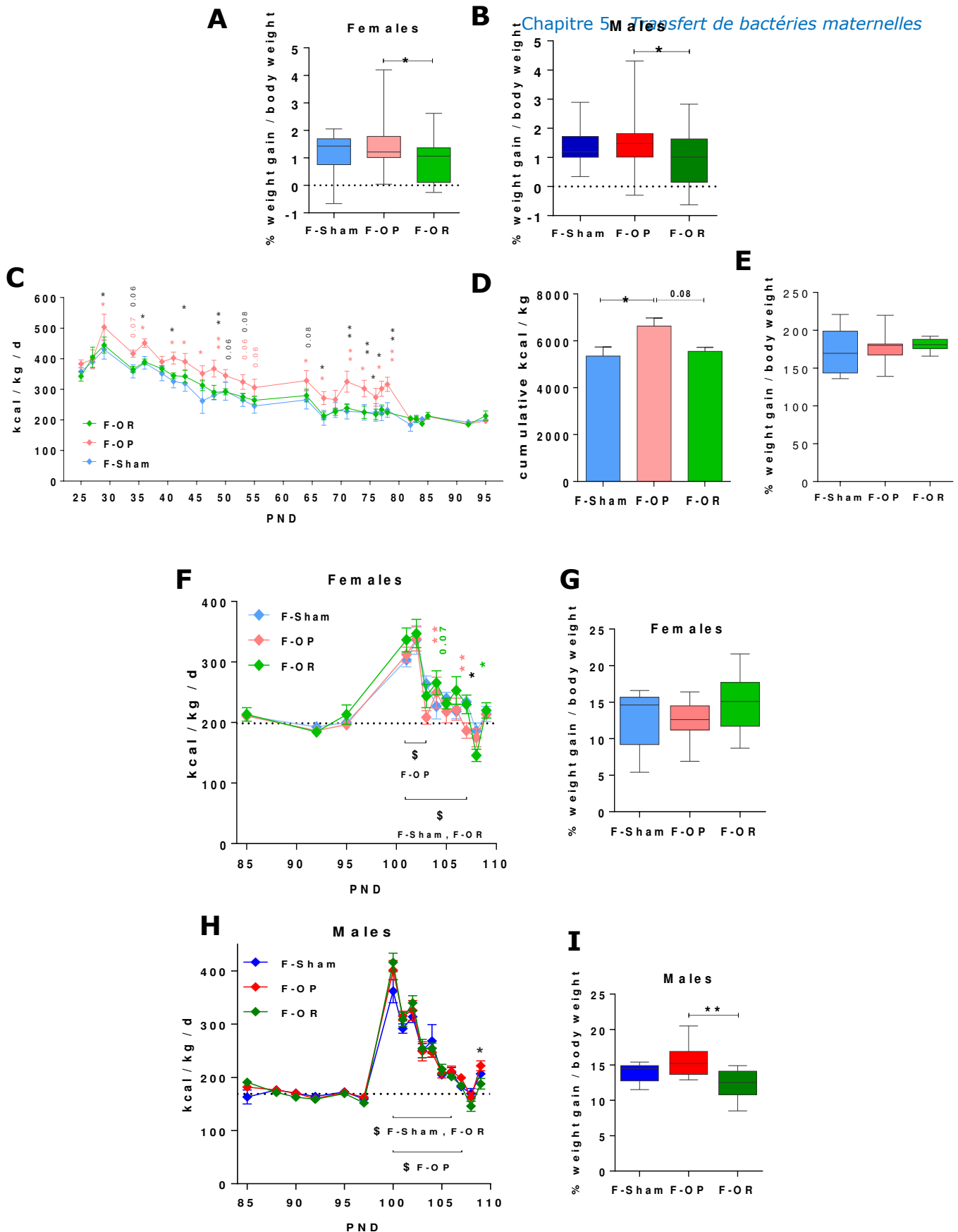


Figure 8. A and B) Female and male pups hourly milk intake at PND15, estimated by the relative body weight gain after suckling. A) Females n=24-25. B) Males n=27-29. After weaning on SD, female daily (C) and cumulative (D) caloric intake and relative weight gain (E). During the first 10 days of HED (PND100-110), females and males caloric intake (F and G) and relative weight gain (H and I). A-I) n=7-9 for females, n=9-11 for males. A, B, E, G, and I) Data are medians ± min and max values. C, D, F and H) Data are means ± SEM. A, B, D, E, G and I) 1way ANOVA + post-hoc Tukey's pairwise comparisons. * p<0.05, ** p<0.01. C, F and H) Multiple T-tests. Differences between groups were characterized by multiple T-tests; *p<0.05, **p<0.01; * correspond to differences between F-OP and F-Sham; * correspond to differences between F-OR and F-Sham; * correspond to differences between F-OP and F-OR. F and H) Difference between SD and HED intake were characterised each day with one-sample T-test; \$ p<0.05.

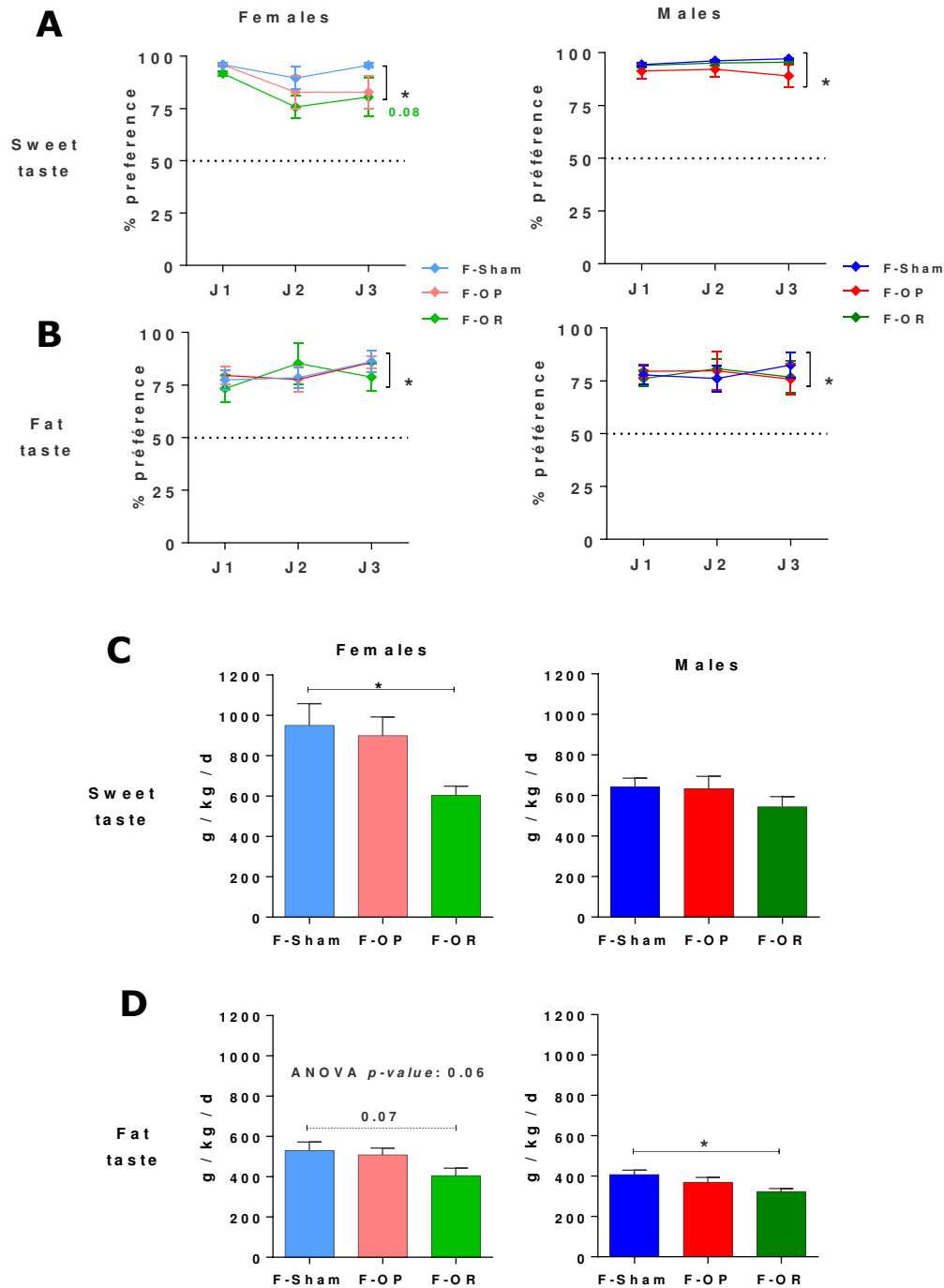


Figure 9. A) Females and males sweet taste preference. B) Females and males fat taste preference. n=7-9 for females, and n=8-11 for males. Data are expressed as means \pm SEM. Preference or aversion were characterised by one-sample T-test in comparison to reference value of 50%; * $p < 0.05$. Differences between groups were characterized by 2way ANOVA + post-hoc Tukey's pairwise comparisons. **Cumulative amount of sweet taste (C) and fat taste (D) solutions drunk during the 3 days of test.** n=7-9 for females, and n=8-11 for males. Data are expressed as means \pm SEM. 1way ANOVA + post-hoc Tukey's pairwise comparisons, * $p < 0.05$.

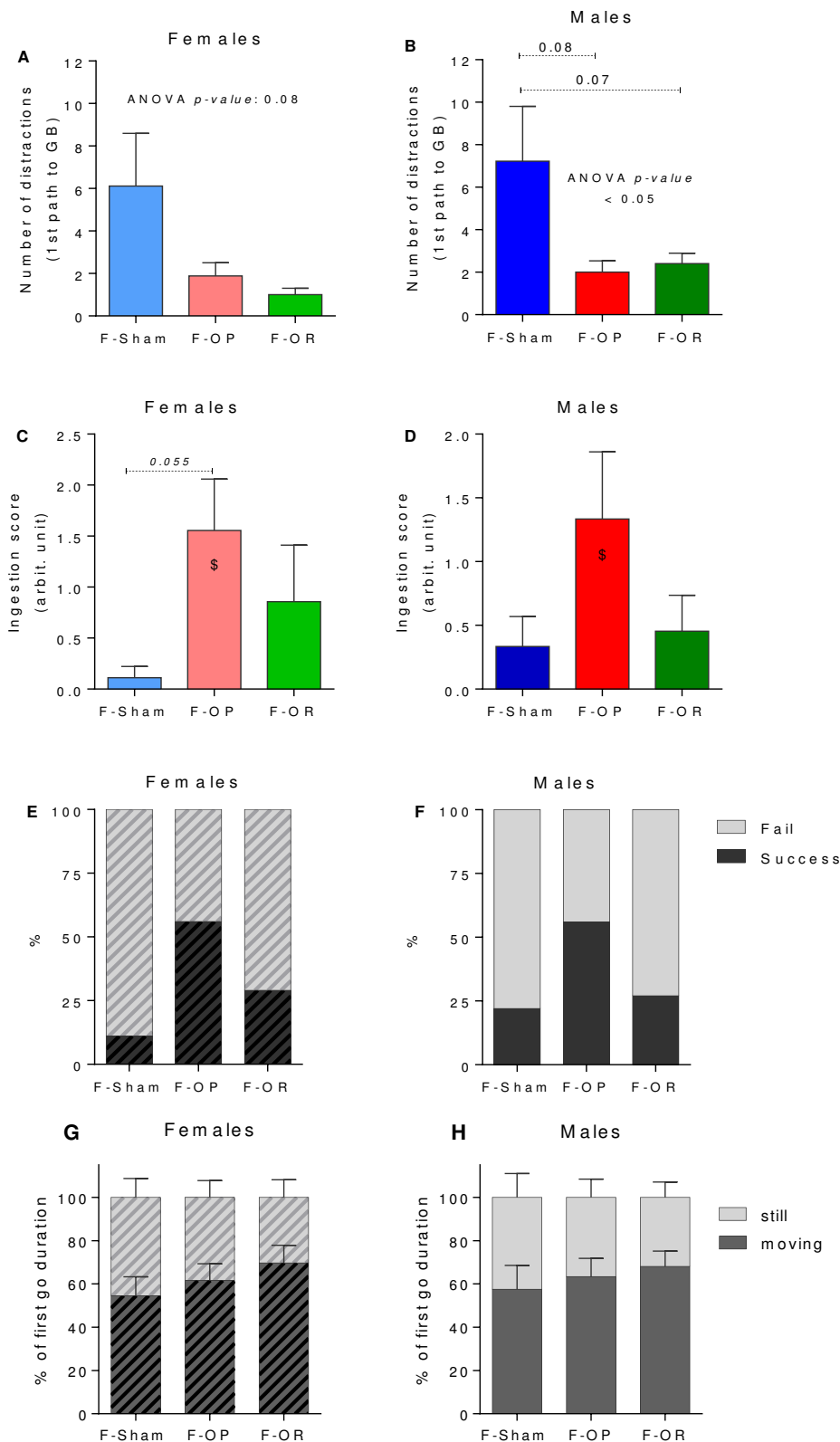


Figure 10. Food motivation items. n=7-9 females and n=9-11 males. **A-D)** Data are means \pm SEM. **E-H)** Data are cumulative percentages. **A and B)** Number of distractions that stopped animals during their first path to the GB (stops and rearing). 1way ANOVA + post-hoc Tukey's pairwise comparisons. **C and D)** Ingestion score. A score significantly different from zero was characterized by One-sample T-test; \$ p<0.05. Difference between groups were identified using 1way ANOVA + post-hoc Tukey's pairwise comparisons. **E and F)** Percentage of animals which eat (success) or not (fail) the food reward during the test. Fisher exact test for 2x3 table. **G and H)** Percentage of activity during the first path to the palatable reward. 2-ways ANOVA.

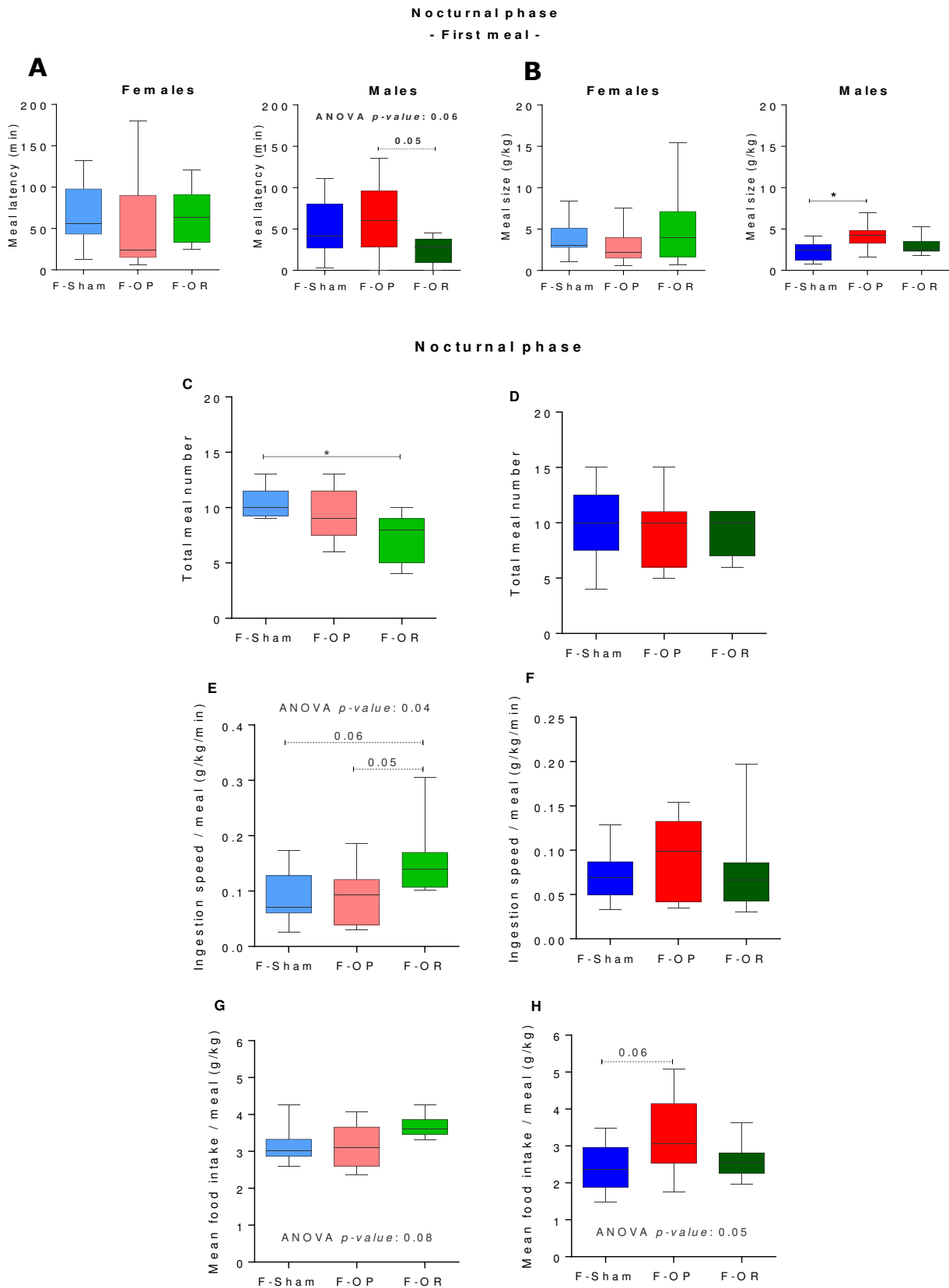


Figure 11. Food intake pattern during the first meal (A and B) and the totality of nocturnal phase (C-E). **A)** Females and males latency to eat. **B)** Females and males first nocturnal meal size. **C)** Females and males total meal number. **D)** Females and males mean ingestion speed per meal. **E)** Females and males mean food intake per meal. $n=6-9$ females and $n=9-11$ males. Data are medians \pm min-max values; 1way ANOVA + post-hoc Tukey's pairwise comparisons; * $p<0.05$.

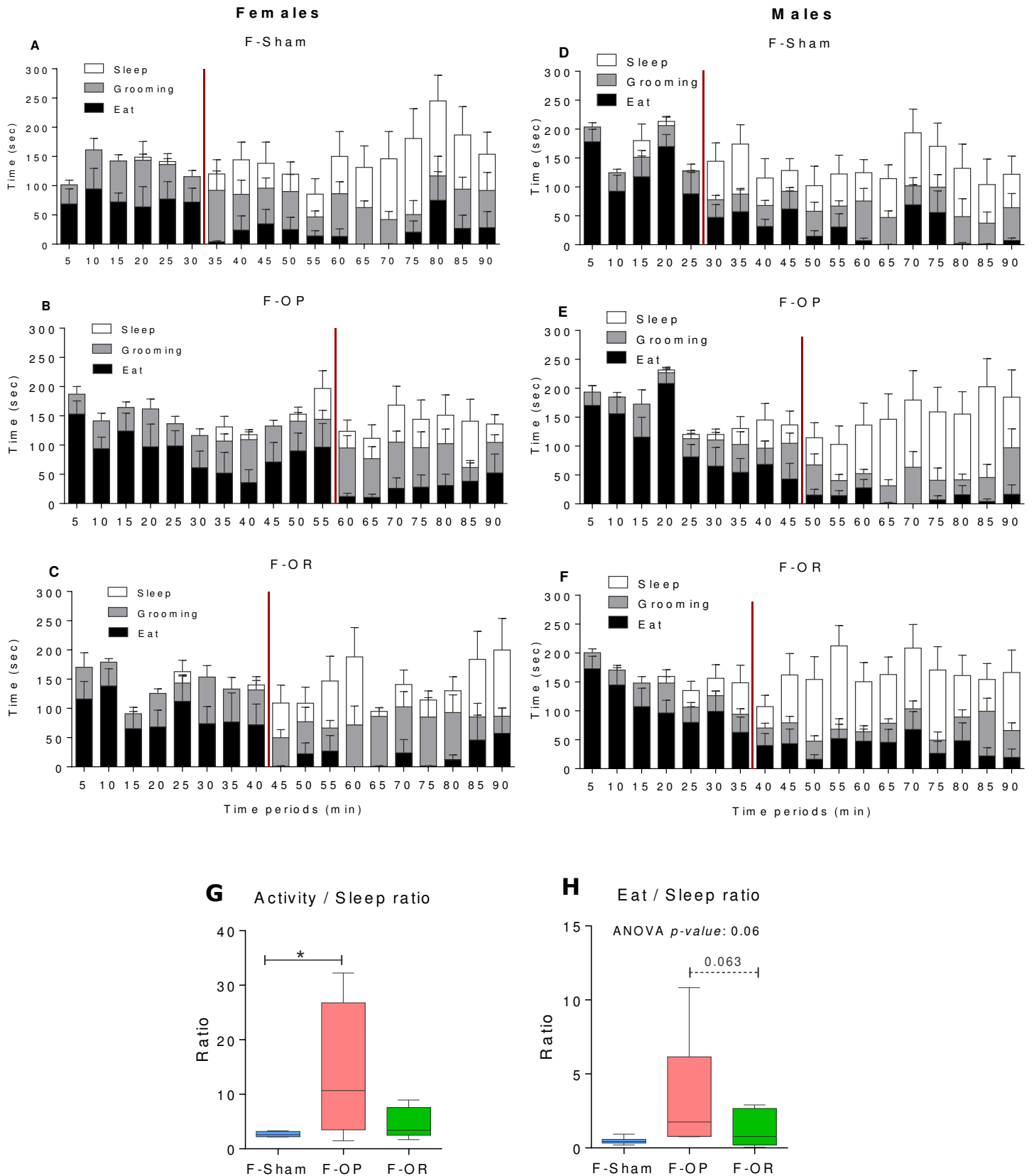


Figure 12. A-F Behavioural satiety sequence (BSS). Latency before behavioural switch between Eat and Sleep, determined by the augmentation of Sleep behaviour and decrease in Eat behaviour, is pointed by the red vertical line. Data are expressed as means \pm SEM. **A, B** and **C**) Respectively F-Sham (n=8), F-OP (n=9) and F-OR (n=7) females BSS. **D, E** and **F**) Respectively F-Sham (n=9), F-OP (n=8) and F-OR (n=11) males BSS. **Ratios between Activity/Sleep (G) or Eat/Sleep (H) periods for females.** n=7-9; Data are expressed as medians \pm min-max values; 1way ANOVA + post-hoc Tukey's pairwise comparisons; * p<0.05.

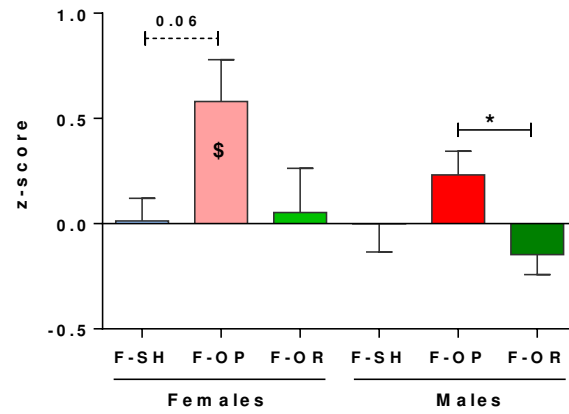


Figure 13. Integrative behavioural z-score of male and female pups at adulthood. Data are expressed as means \pm SEM; n=7-11; To determine if significant difference exists between female groups on the first hand and males groups on the other hand, 1-way ANOVA + post-hoc Tukey's pairwise comparisons were realised; * p<0.05. To determine if a z-score was significantly different from 0, one-sample T test was realised; \$ p<0.05.

SUPPLEMENTARY TABLES

Table S1. Volumes and estimated number of bacteria (ufc) number of vaginal, associated to milk and faecal inocula suspensions transferred to pups. G3: 2-3 days before parturition; PND: postnatal day

OP and OR dams sampling time	Fischer pups age at transfer	F-OP and F-OR groups						F-Sham group	
		Vaginal inocula		Cultured milk inocula		Fecal inocula		Stock solution inocula	
		μL / pup	ufc / pup	μL / pup	ufc / pup	μL / pup	ufc / pup	μL / pup	ufc / pup
G3	PND0	30	10 ³ - 10 ⁴	10	10 ³	15	10 ⁸	30 + 25	0
PND1	PND1-3			10	10 ³	15	10 ⁸	25	0
PND5	PND4-7			20	1.10 ⁴	15	10 ⁸	35	0
PND10	PND8-11			20	8.10 ⁴	15	10 ⁸	35	0
PND15	PND12-15			50	10 ⁵	15	10 ⁸	65	0

Table S2. Behavioural items used to calculate integrated z-score.

Behavioural test	Selected items
Early suckling behaviour	Weight gain (g/kg)
Food intake	Daily food intake mean through SD period (kcal/kg/d) Daily food intake mean through first 10 days fed HED (kcal/kg/d)
Liquid taste preference	Sweet taste intake (g/kg) Fat taste intake (g/kg)
Food motivation	Ingestion score Inverse of distraction number during the first path to the Goal Box
Detailed 24 hours meal pattern	Meal number during night phase Mean food intake per meal during night phase (g/kg)
Behavioural Satiety Sequence	Total eat duration (%) Total sleep duration (%)

Table S3. Ethogram used to analyse Food Motivation in straight alley test. *SB*; Starting Box; *GB*: Goal Box

Behaviour code	Behaviour type	Description	Excluded behaviours
Test begin	Point event	Opening of Starting Box	
Leaves	Point event	Rat leaves Starting Box	SB
Arrives	Point event	Rat head is overhanging the food reward at the end of the alley.	
Test end	Point event	Test ends when rat bites the food reward, or after 120 seconds after opening of Starting Box	Still, Moving, SB, Alley, GB
Moving	State event	Rat moves on its four paws (walks, runs, makes an about-turn)	Still
Still	State event	Rat does not move (rearing + stops)	Moving
About-turn	Point event	Rat makes an about-turn	
Rearing	Point event	Rat stops and rear on its back legs to sniff or look at its environment.	
Stop	Point event	Rat stops at least 1 second remaining on its four paws (smell something on the alley floor, freeze, ...)	
SB	State event	Rat is in the Starting Box	Alley, GB
GB	State event	Rat is in the Goal Box	Alley, SB
Alley	State event	Rat is in the alley but not in the Starting Box nor in the Goal Box	SB, GB

Table S4. Ethogram used to analyse Behavioural Satiety Sequence tests

Behaviour code	Behaviour type	Description	Excluded behaviours
Eat	State event	Rat is licking or chewing food from its manger or food pellets fallen in the litter Chewing litter is not considered as Eating behaviour	Drink, Explore, Grooming, Sleep, Inactivity
Drink	State event	Rat is drinking at the bottle	Eat, Explore, Grooming, Sleep, Inactivity
Explore	State event	Rat is conscious and lively, reacting to environmental cues. Can walk, run, stand on its rear legs (rearing). Rat still but actively sniffing its environment (great respiratory movements) is considering as Exploring	Eat, Drink, Grooming, Sleep, Inactivity
Grooming	State event	Rat is licking or scratching itself	Eat, Drink, Explore, Sleep, Inactivity
Sleep	State event	Rat is unconscious, eyelids closed, with no movement or any activity for more than 30 seconds long. This behaviour happen mostly after Grooming behaviour and "bed preparing" activity (foraging litter). Not confuse Sleep with Inactivity	Eat, Drink, Explore, Grooming, Inactivity
Inactivity	State event	Rat is conscious, but still for more than 3 seconds long, without interacting with its environment in anyway. Rat can be standing on 4 or 2 legs, or lying, with small and/or slow head movements, eyelids open. Not confuse Inactivity with Sleep	Eat, Drink, Explore, Grooming, Sleep

Table S5. Plasmatic markers of OP and OR dams, not fasted, 2-3 days before parturition, fed HED. Data are means \pm SEM. n=6 OP and 8 OR. T-test. * $p < 0.001$ between OR and OP

	OR	OP
Leptin (ng/mL)	3.85 \pm 0.42	13.79 \pm 1.98 *
Insulin (ng/mL)	0.66 \pm 0.09	0.81 \pm 0.16
Triglycerides (mg/dL)	280.6 \pm 35.0	234.3 \pm 24.2
Total cholesterol (mg/dL)	89.1 \pm 7.8	86.0 \pm 6.8
Glycemia (mg/dL)	146.7 \pm 6.8	156.4 \pm 5.5

Table S6. Genera of Ruminococcaceae family that were significantly increased in OP fecal inocula compared to OR ones. These results were obtained using DESeq2 package in R environment, with an alpha risk of 0.01.

	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	stat	padj	family	genus	species
Cluster_296	14,86	-7,06	1,48	-4,75	1,9E-05	Ruminococcaceae	Ruminococcaceae UCG-014	unknown species
Cluster_201	32,70	-7,25	1,37	-5,30	1,5E-06	Ruminococcaceae	Ruminococcaceae UCG-014	unknown species
Cluster_70	16,81	-7,04	1,68	-4,18	2,2E-04	Ruminococcaceae	Ruminococcaceae UCG-014	Multi-affiliation
Cluster_589	5,39	6,30	1,58	3,99	4,6E-04	Ruminococcaceae	Butyricoccus	Multi-affiliation
Cluster_448	13,30	7,18	1,14	6,28	8,3E-09	Ruminococcaceae	Unknown genus	unknown species
Cluster_584	3,68	4,43	0,92	4,82	1,4E-05	Ruminococcaceae	GCA-900066225	unknown species
Cluster_446	3,45	5,65	1,66	3,41	3,4E-03	Ruminococcaceae	Negativibacillus	unknown species
Cluster_352	14,21	-6,99	1,55	-4,52	5,1E-05	Ruminococcaceae	Ruminiclostridium 5	unknown species
Cluster_194	14,21	4,75	0,85	5,60	3,8E-07	Ruminococcaceae	Ruminiclostridium 5	unknown species
Cluster_214	5,05	-5,30	1,17	-4,54	4,9E-05	Ruminococcaceae	[Eubacterium] coprostanoligenes group	unknown species
Cluster_68	20,64	-7,72	2,34	-3,30	4,9E-03	Ruminococcaceae	Ruminiclostridium 6	unknown species
Cluster_19	184,57	8,28	0,79	10,48	2,2E-23	Ruminococcaceae	Ruminococcus 1	Multi-affiliation
Cluster_479	6,65	5,51	0,87	6,31	7,3E-09	Ruminococcaceae	Anaerofilum	metagenome
Cluster_559	2,87	-4,67	1,42	-3,30	4,9E-03	Ruminococcaceae	Pygmaibacter	unknown species
Cluster_48	95,29	1,96	0,57	3,42	3,3E-03	Ruminococcaceae	UBA1819	Multi-affiliation
Cluster_261	6,82	-5,94	1,30	-4,57	4,3E-05	Ruminococcaceae	Ruminiclostridium	unknown species
Cluster_224	11,81	-2,57	0,82	-3,12	8,7E-03	Ruminococcaceae	Oscillibacter	unknown species
Cluster_174	20,79	5,03	1,25	4,03	3,9E-04	Ruminococcaceae	Flavonifractor	Multi-affiliation
Cluster_167	10,34	5,95	1,03	5,77	1,5E-07	Ruminococcaceae	Unknown genus/Ruminiclostridium 9	Multi-affiliation
Cluster_567	1,56	4,21	1,13	3,72	1,2E-03	Ruminococcaceae	Ruminiclostridium 9	unknown species
Cluster_384	6,14	2,19	0,63	3,48	2,7E-03	Ruminococcaceae	Ruminiclostridium 9/Intestinimonas	Multi-affiliation
Cluster_335	2,83	5,15	1,01	5,09	4,0E-06	Ruminococcaceae	Ruminococcaceae NK4A214 group	unknown species

Table S7. SCFAs concentrations in caecocolic content of pups at PND200. Data are expressed as mean \pm SEM; Multiple T-test; n=7-11 per group/sex. Different letter means significant difference between groups among females or males. \$ p<0.01; * p<0.05 between males and females of corresponding group.

	Females			Males		
	F-SHAM	F-OP	F-OR	F-SHAM	F-OP	F-OR
Total SCFAs ($\mu\text{mol/g}$)	59.8 \pm 2.7 ^a	56.3 \pm 3.3 ^a	54.0 \pm 2.8 ^a	66.8 \pm 3.9 ^a	66.1 \pm 4.2 ^{a\$}	64.2 \pm 4.6 ^a
Major SCFAs ($\mu\text{mol/g}$)	57.7 \pm 2.5 ^a	54.4 \pm 3.2 ^a	51.9 \pm 2.6 ^a	64.0 \pm 3.8 ^a	63.5 \pm 3.9 ^{a\$}	61.7 \pm 4.4 ^a
Branched SCFAs ($\mu\text{mol/g}$)	2.1 \pm 0.2 ^a	1.8 \pm 0.2 ^a	2.1 \pm 0.3 ^a	2.8 \pm 0.2 ^{a*}	2.7 \pm 0.4 ^{\$}	2.5 \pm 0.2 ^a
Acetate ($\mu\text{mol/g}$)	45.2 \pm 2.2 ^a	43.7 \pm 2.4 ^a	41.0 \pm 2.1 ^a	48.2 \pm 2.9 ^a	48.9 \pm 2.9 ^a	46.5 \pm 3.1 ^a
Propionate ($\mu\text{mol/g}$)	7.2 \pm 0.5 ^a	6.0 \pm 0.5 ^a	6.0 \pm 0.5 ^a	9.0 \pm 0.6 ^{a*}	8.5 \pm 0.7 ^{a*}	8.1 \pm 0.7 ^{a*}
Butyrate ($\mu\text{mol/g}$)	5.3 \pm 0.3 ^a	4.7 \pm 0.5 ^a	4.9 \pm 0.4 ^a	6.8 \pm 0.6 ^{a*}	6.1 \pm 0.5 ^{a\$}	7.2 \pm 0.7 ^{a*}
Isobutyrate ($\mu\text{mol/g}$)	0.81 \pm 0.08 ^a	0.79 \pm 0.11 ^a	0.92 \pm 0.13 ^a	1.04 \pm 0.09 ^{a\$}	0.97 \pm 0.17 ^a	0.95 \pm 0.11 ^a
Valerate ($\mu\text{mol/g}$)	0.78 \pm 0.05 ^a	0.62 \pm 0.07 ^a	0.68 \pm 0.07 ^a	0.95 \pm 0.07 ^{a\$}	0.93 \pm 0.11 ^{a*}	0.87 \pm 0.06 ^{a\$}
Isovalerate ($\mu\text{mol/g}$)	0.54 \pm 0.06 ^a	0.44 \pm 0.06 ^a	0.49 \pm 0.10 ^a	0.79 \pm 0.96 ^{a\$}	0.76 \pm 1.1 ^{a*}	0.70 \pm 0.88 ^a
Majors SCFAs (%)	96.5 \pm 0.2 ^a	96.7 \pm 0.3 ^a	96.2 \pm 0.4 ^a	95.8 \pm 0.2 ^{a\$}	96.1 \pm 0.4 ^a	96.2 \pm 0.2 ^a
Branched SCFAs (%)	3.5 \pm 0.2 ^a	3.2 \pm 0.3 ^a	3.8 \pm 0.4 ^a	4.2 \pm 0.2 ^{a\$}	3.9 \pm 0.4 ^a	3.8 \pm 0.2 ^a
Acetate (%)	75.5 \pm 1.3 ^a	77.8 \pm 1.2 ^a	76.0 \pm 1.1 ^a	72.2 \pm 0.8 ^{a*}	74.1 \pm 0.8 ^{a*}	73.0 \pm 0.7 ^{a*}
Propionate (%)	12.1 \pm 0.8 ^a	10.1 \pm 0.7 ^a	11.0 \pm 0.6 ^a	13.5 \pm 0.5 ^a	12.7 \pm 0.5 ^{a*}	12.3 \pm 0.4 ^a
Butyrate (%)	8.9 \pm 0.5 ^a	8.3 \pm 0.5 ^a	9.2 \pm 0.7 ^a	10.2 \pm 0.5 ^{a\$}	9.3 \pm 0.6 ^a	10.9 \pm 0.6 ^a
Isobutyrate (%)	1.34 \pm 0.09 ^a	1.39 \pm 0.18 ^a	1.67 \pm 0.19 ^a	1.56 \pm 0.11 ^a	1.41 \pm 0.18 ^a	1.46 \pm 0.10 ^a
Valerate (%)	1.30 \pm 0.06 ^a	1.10 \pm 0.08 ^a	1.25 \pm 0.10 ^a	1.42 \pm 0.06 ^a	1.38 \pm 0.10 ^{a*}	1.33 \pm 0.03 ^a
Isovalerate (%)	0.90 \pm 0.08 ^a	0.78 \pm 0.10 ^a	0.88 \pm 0.16 ^a	1.20 \pm 0.11 ^{a*}	1.10 \pm 0.16 ^a	1.03 \pm 0.08 ^a

SUPPLEMENTARY FIGURES

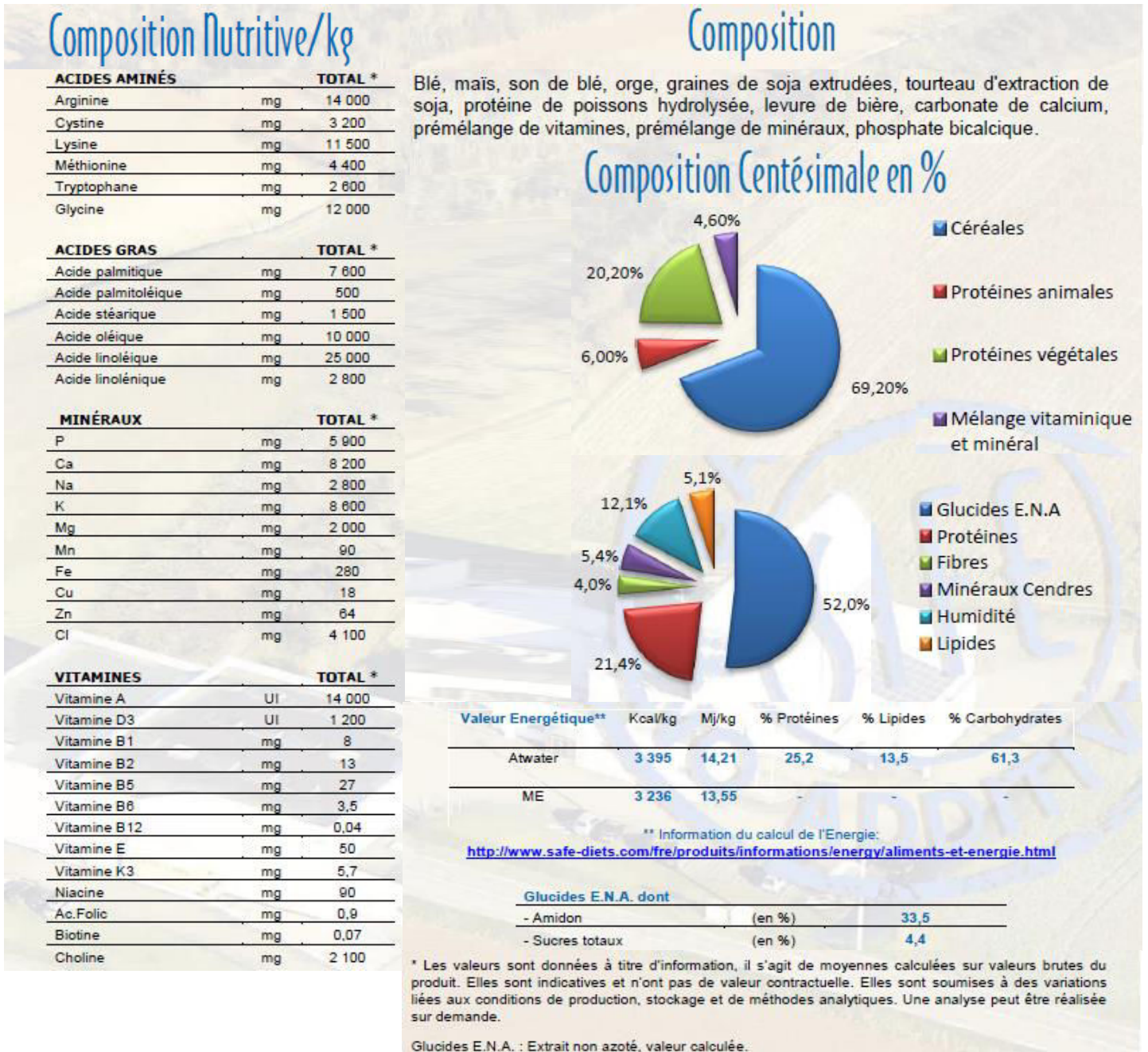


Figure S1. Detailed composition of standard diet (SD) we used, from Safe.

DIO Rodent Purified Diet w/45% Energy From Fat - Red

58V8

DESCRIPTION

Diet Induced Obesity (DIO) Rodent Diet with 45% Energy From Fat, Dyed Red is a Purified Diet based on AIN-76A Semi-Purified Diet, Rat or Mouse 5800-B. See Van Heek et al., J. Clin. Invest. 99:385-390, 1997, for initial use of this formula. Originally manufactured as "D12451".

Storage conditions are particularly critical to TestDiet® products, due to the absence of antioxidants or preservative agents. To provide maximum protection against possible changes during storage, store in a dry, cool location. Storage under refrigeration (2° C) is recommended. Maximum shelf life is six months. (If long term studies are involved, storing the diet at -20° C or colder may prolong shelf life.) Be certain to keep in air tight containers.

Product Forms Available*	Catalog #
1/2" Pellet	58125
1/2" Pellet, Irradiated	55629
Meal	1810729
Meal, Irradiated	1810730

*Other Forms Available By Request

INGREDIENTS

Casein - Vitamin Tested	23.3060
Lard	20.6840
Sucrose	20.0920
Maltodextrin	11.6530
Dextrin	8.4830
Powdered Cellulose	5.8270
Soybean Oil	2.9130
Potassium Citrate, Tribasic Monohydrate	1.9230
Calcium Phosphate	1.5150
DIO Mineral Mix	1.1650
AIN-76A Vitamin Mix	1.1650
Calcium Carbonate	0.6410
L-Cystine	0.3500
Choline Bitartrate	0.2330
FD&C Red 40 Lake	0.0500

Part of the TestDiet® "Blue-Pink-Yellow" DIO Series ("van Heek" Series)

DIO Rodent Purified Diet w/10% Energy From Fat - Blue
 1/2" Pellet - Catalog # 58126 (58Y1)
 1/2" Pellet, Irradiated - Catalog # 56833 (58Y1)
 Meal - Catalog # 1810473 (58Y1)

DIO Rodent Purified Diet w/10% Energy From Fat - Yellow
 1/2" Pellet - Catalog # 58124 (58Y2)
 Meal - Catalog # 56834 (58Y2)

FEEDING DIRECTIONS

Feed ad libitum. Plenty of fresh, clean water should be available at all times.

3/25/2014

NUTRITIONAL PROFILE ¹

Protein, %	20.8	Minerals	
Arginine, %	0.81	Calcium, %	0.71
Histidine, %	0.60	Phosphorus, %	0.53
Isoleucine, %	1.11	Phosphorus (available), %	0.53
Leucine, %	2.02	Potassium, %	0.70
Lysine, %	1.69	Magnesium, %	0.06
Methionine, %	0.60	Sodium, %	0.14
Cystine, %	0.44	Chloride, %	0.24
Phenylalanine, %	1.11	Fluorine, ppm	1.1
Tyrosine, %	1.18	Iron, ppm	58
Threonine, %	0.90	Zinc, ppm	41
Tryptophan, %	0.26	Manganese, ppm	68
Valine, %	1.33	Copper, ppm	7.0
Alanine, %	0.64	Cobalt, ppm	0.0
Aspartic Acid, %	1.50	Iodine, ppm	0.24
Glutamic Acid, %	4.76	Chromium (added), ppm	2.3
Glycine, %	0.45	Molybdenum, ppm	1.90
Proline, %	2.75	Selenium, ppm	0.27
Serine, %	1.29		
Taurine, %	0.00	Vitamins	
		Vitamin A, IU/g	4.7
Fat, %	23.6	Vitamin D-3 (added), IU/g	1.2
Cholesterol, ppm	197	Vitamin E, IU/kg	60.6
Linoleic Acid, %	3.48	Vitamin K, ppm	0.59
Linolenic Acid, %	0.32	Thiamin Hydrochloride, ppm	7.1
Arachidonic Acid, %	0.04	Riboflavin, ppm	7.8
Omega-3 Fatty Acids, %	0.32	Niacin, ppm	35
Total Saturated Fatty Acids, %	9.05	Pantothenic Acid, ppm	19
Total Monounsaturated Fatty Acids, %	9.32	Folic Acid, ppm	2.5
		Pyridoxine, ppm	6.8
Fiber (max), %	5.8	Biotin, ppm	0.2
		Vitamin B-12, mcg/kg	16
Carbohydrates, %	41.2	Choline Chloride, ppm	1,165
		Ascorbic Acid, ppm	0.0
Energy (kcal/g) ²	4.60		
From:	kcal	%	
Protein	0.833	18.1	
Fat (ether extract)	2.124	46.1	
Carbohydrates	1.648	35.8	

1. Formulation based on calculated values from the latest ingredient analysis information. Since nutrient composition of natural ingredients varies and some nutrient loss will occur due to manufacturing processes, analysis will differ accordingly. Nutrients expressed as percent of ration on an As Fed basis except where otherwise indicated.
 2. Energy (kcal/gm) - Sum of decimal fractions of protein, fat and carbohydrate x 4,9,4 kcal/gm respectively.

CAUTION:
 Perishable - store properly upon receipt.
 For laboratory animal use only, not for human consumption.



Figure S2. Detailed composition of hyper energetic diet (HED) we used, from TestDiet.

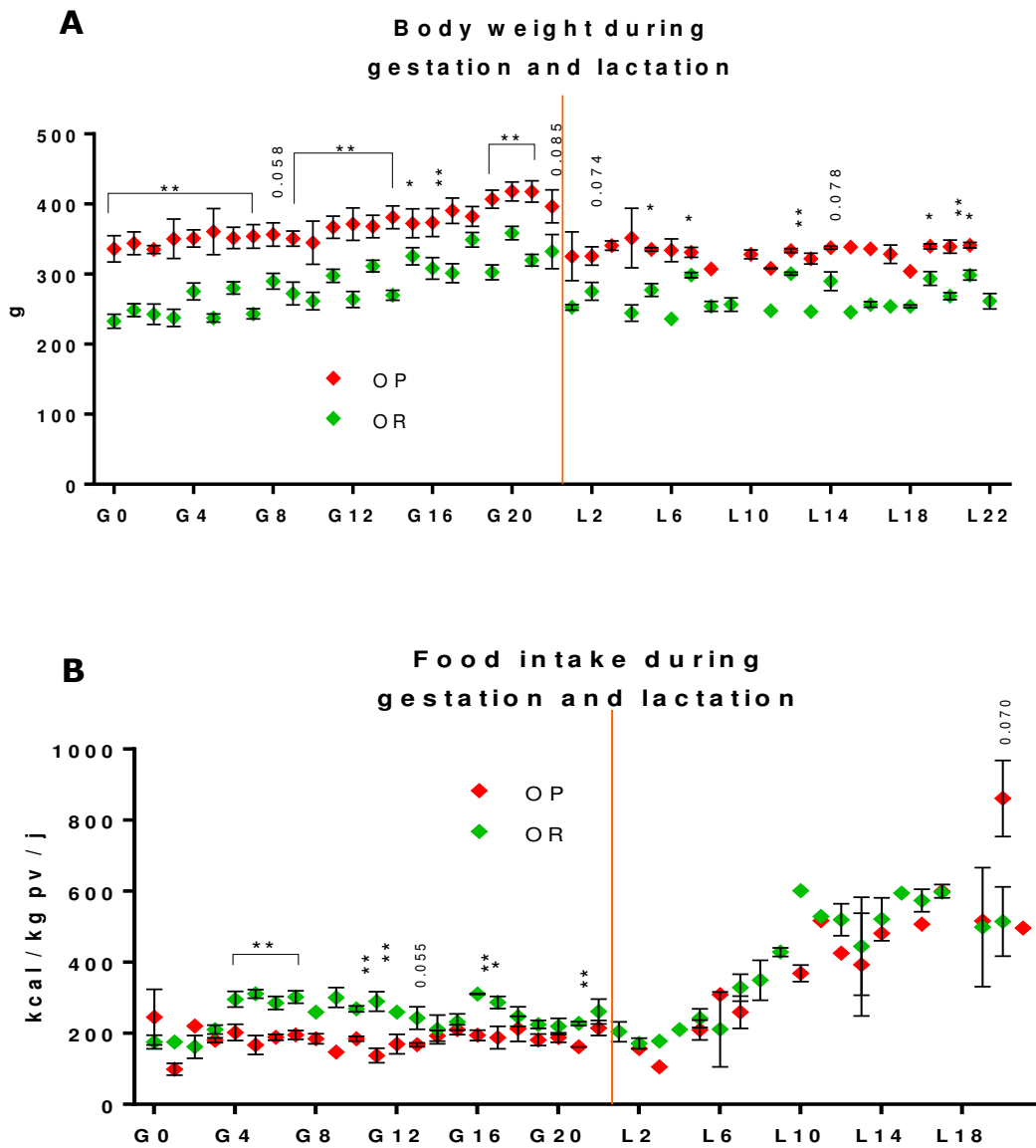


Figure S3. Phenotype of OP and OR dams during gestation and lactation. The orange vertical line corresponds to parturition time. n=6-8; Multiple T-tests. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ **A)** Body weight (g) **B)** Caloric intake (kcal/kg/j).

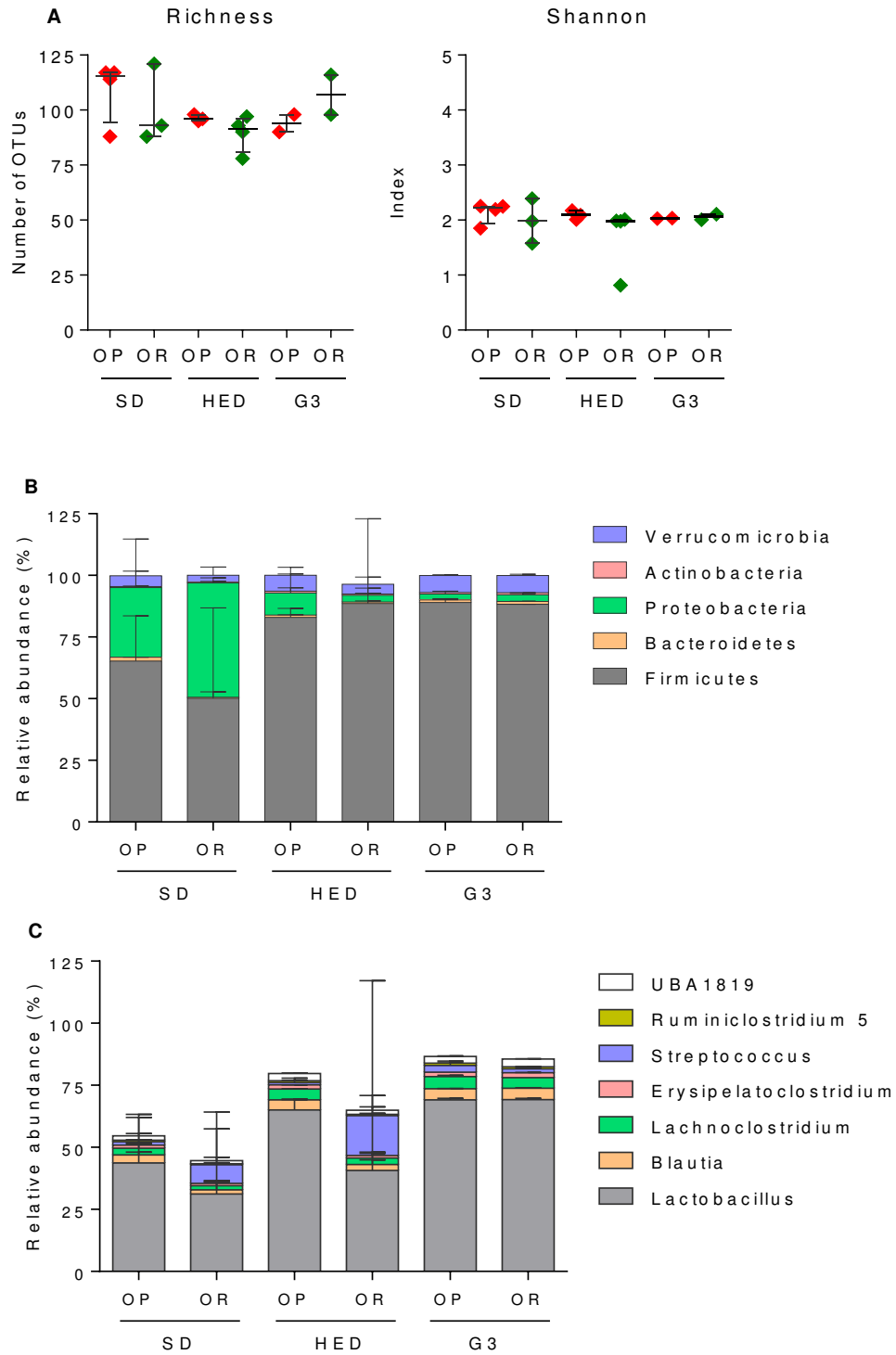


Figure S4. Structure and composition of vaginal microbiota of OP and OR dams fed SD, fed HED and at the end of the gestation (G3). n=3-4 (except G3: n=2). **A)** Alpha-diversity indexes. Richness is the number of different OTUs identified in samples. Shannon is the evenness of the OTUs abundance distribution. **B)** Relative abundances of the 5 most abundant phyla. Data are expressed as median ± interquartile range. **C)** Relative abundances of the most abundant genus in Firmicutes phyla. Data are median ± interquartile range.

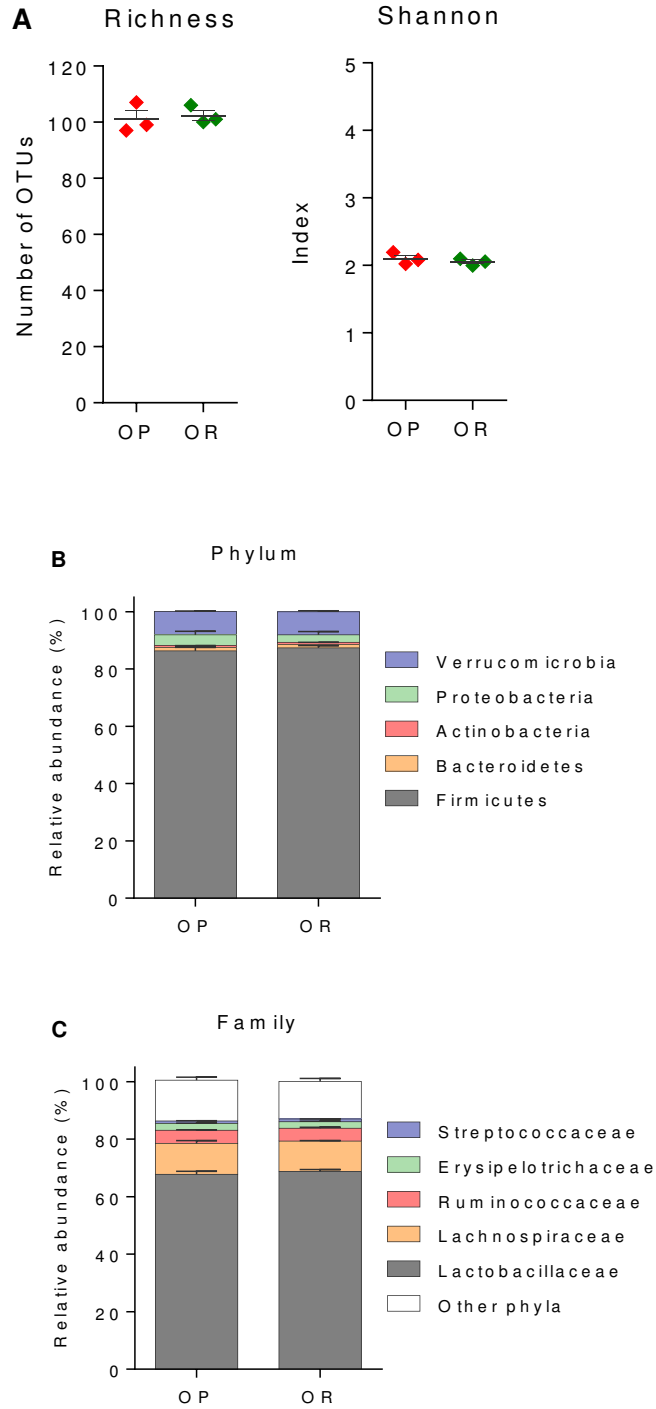
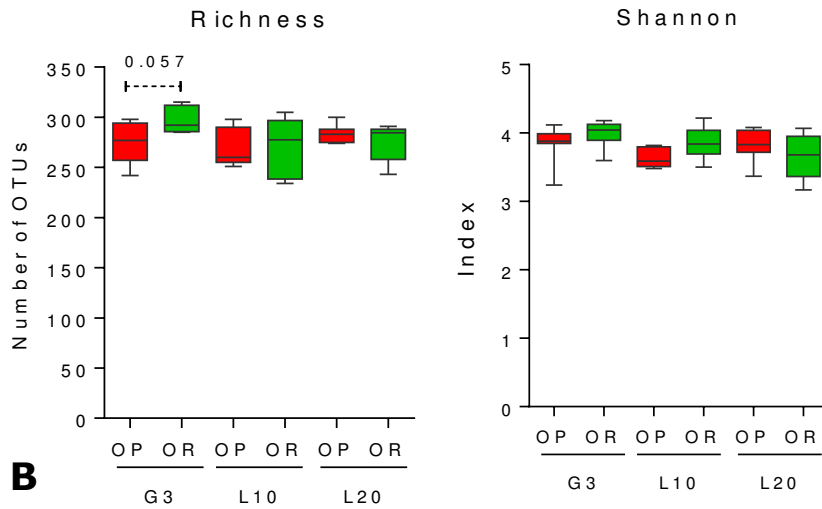
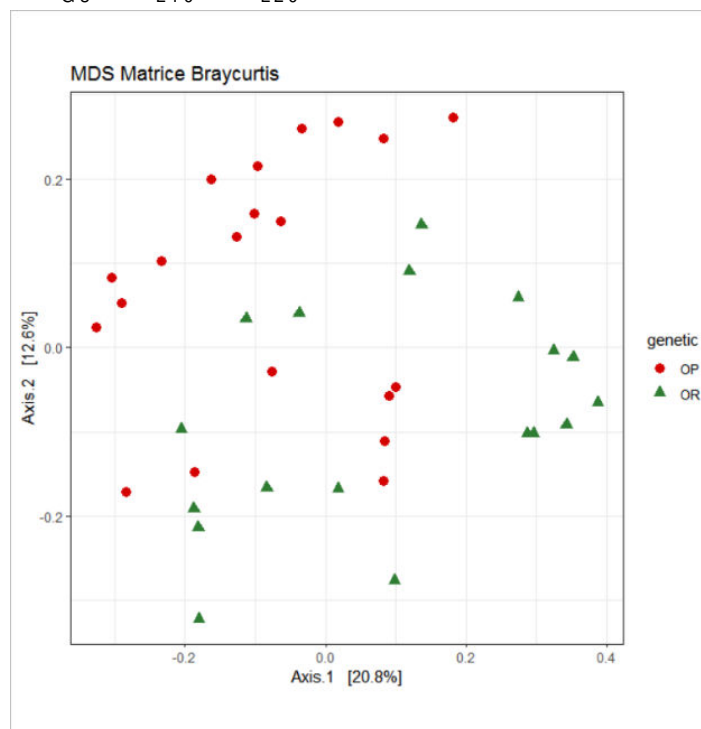


Figure S5. Structure and composition of vaginal inocula of OP and OR dams at G3. n=3 **A)** Alpha-diversity indexes. Richness is the number of different OTUs identified in samples. Shannon is the evenness of the OTUs abundance distribution. Data are expressed as median \pm interquartile range **B** and **C)** Relative abundances of the 5 most abundant phyla, and 5 most abundant families among Firmicutes. Data are expressed as median \pm range.

A



B



C

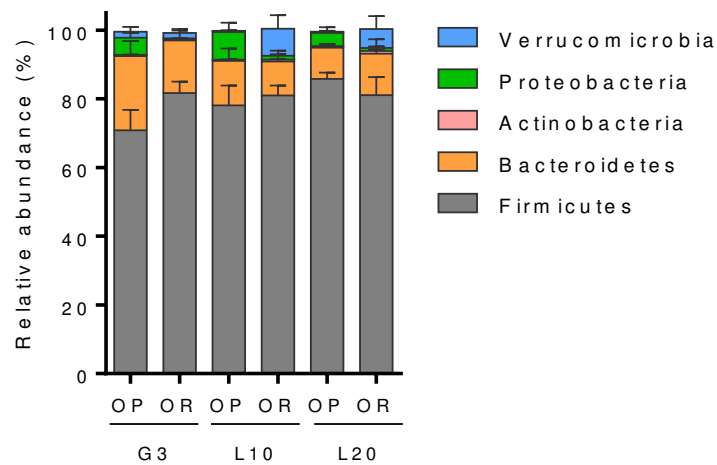


Figure S6. Analysis of intestinal microbiota composition of OP and OR dams during gestation and lactation. (n=6-8 per sampling time). **A and B)** Alpha-diversity indexes. **C)** Relative abundance of the most dominant phyla. **D)** Bacterial communities structure of OP and OR faeces, based on Bray-Curtis distance matrix.

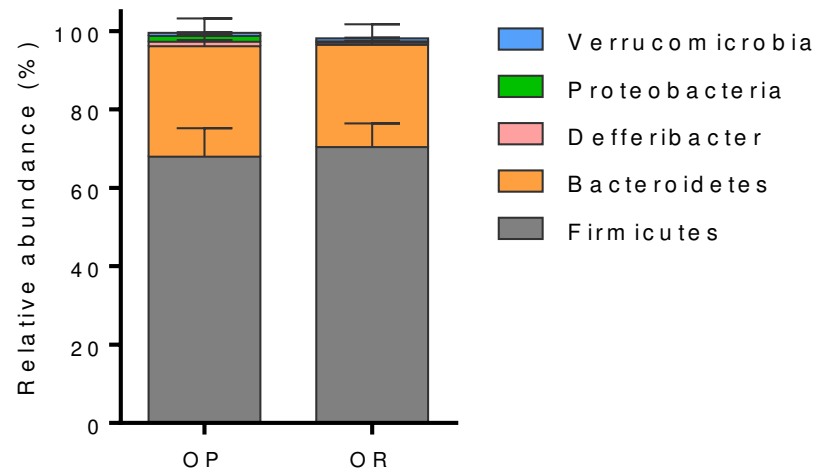


Figure S7. Analysis of intestinal microbiota composition of OP and OR dams fed HED. (n=6-8 per sampling time). Relative abundance of the most dominant phyla.

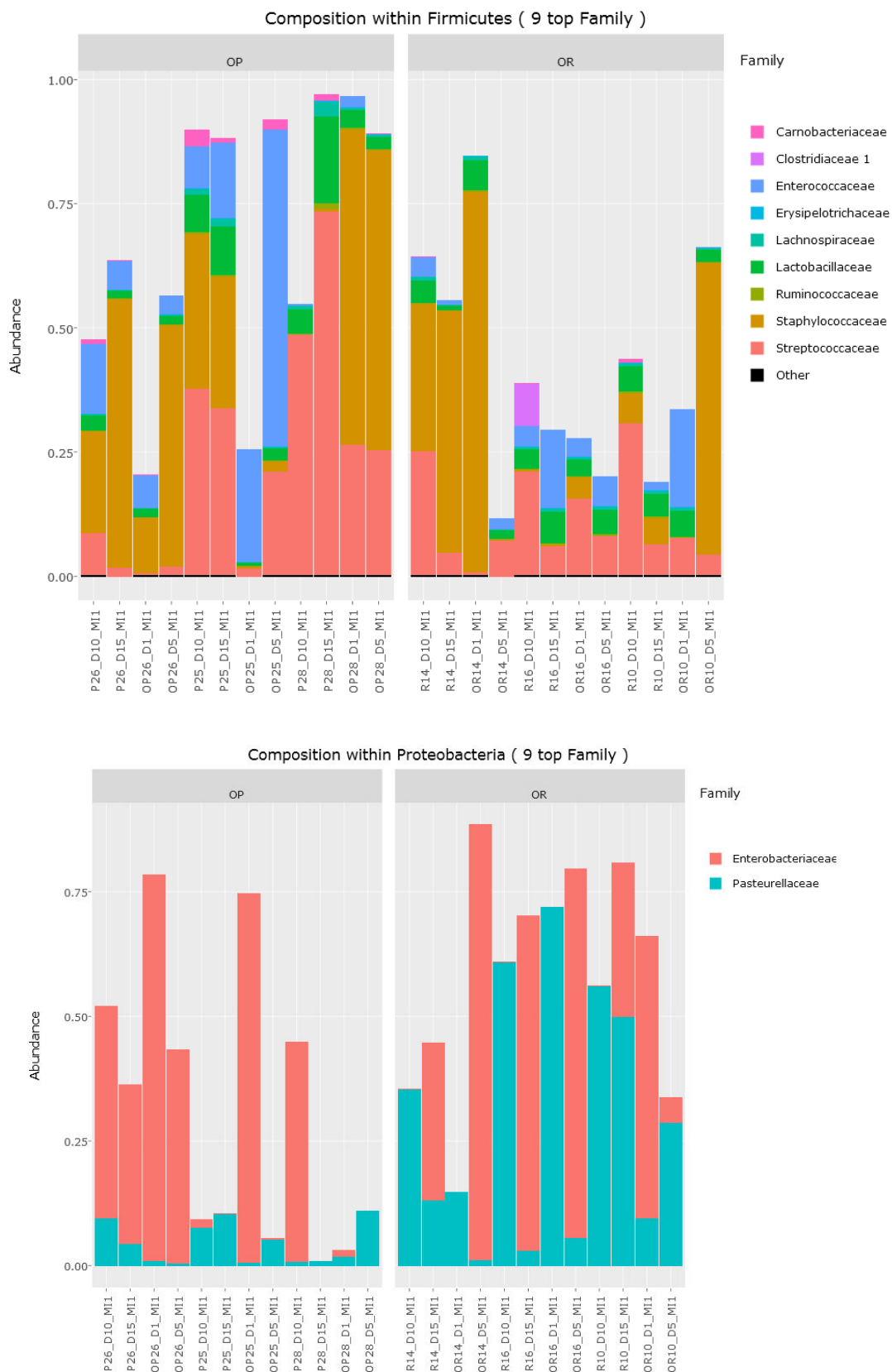


Figure S8. Most dominant bacterial families among Firmicutes (A) and Proteobacteria (B) affiliated to sequences coming from cultured milk inocula. All sampling times are pooled. Graphics were obtained using FROGS pipeline on rarefied data.

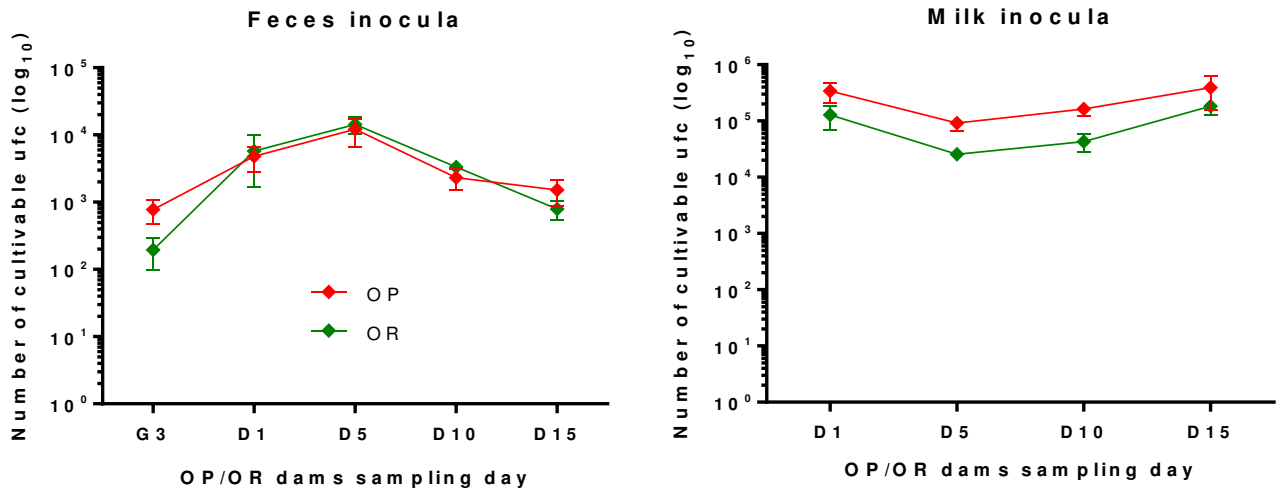


Figure S9. Density of cultivable bacteria given to pups. Bacteria were obtained from fecal and milk inocula just after thawing and transferring them to pups. Cultures were done under anaerobic condition at 37°C during 48h on Wilking-Chalgren media. Data are means ± SEM; n=5-7 per day of sampling and per genetic origin.

Discussion Générale

Discussion générale

Cette thèse s'inscrit dans un contexte actuel où le nombre de diagnostics de troubles du comportement alimentaire, notamment ceux associés à une hyperphagie comme le binge-eating, ou à d'autres formes plus atypiques (hyperphagie chronique ou grignotage nocturne) est en constante augmentation (Galmiche et al., 2019). La complexité de leur étiologie nécessite d'approfondir les connaissances déjà acquises afin d'améliorer leur prévention, notamment par l'identification de pistes mécanistiques.

Un autre sujet d'actualité scientifique est l'implication du microbiote intestinal dans la régulation de la santé de l'hôte. Des travaux récents ont démontré son influence sur les fonctions neuronales, le comportement, ainsi que la physiologie générale de l'hôte (Marteau and Doré, 2017; Johnson and Foster, 2018; Mohajeri et al., 2018; Ignatova, 2019; Sudo, 2019b). La programmation de ces paramètres est particulièrement influençable au cours de fenêtres temporelles de grande plasticité, notamment en période périnatale, avec de potentielles conséquences à long terme pour l'individu.

L'ensemble de ces faits désigne le microbiote intestinal comme potentiel modulateur de la programmation du fonctionnement cérébral, particulièrement durant la période périnatale, avec pour conséquence des changements comportementaux (Codagnone et al., 2019). Afin d'éprouver cette hypothèse, deux stratégies ont été mises en place chez le rat durant ce travail de thèse pour moduler le microbiote néonatal de façon différente, avant de caractériser le comportement alimentaire des animaux à l'âge adulte.

1. Le microbiote intestinal influencerait la programmation du comportement alimentaire.

Dans nos conditions expérimentales, l'apport direct de bactéries dès la naissance (voir chapitre 5) a influencé le comportement alimentaire des rats à l'âge adulte. Le protocole expérimental mis en place nous a permis de confirmer le rôle supposé (Lam et al., 2017) du **microbiote intestinal néonatal dans la modulation de la programmation du comportement alimentaire de façon indépendante de la génétique, du métabolisme et du régime maternel**. Ces résultats sont donc particulièrement intéressants, puisque la grande majorité des études portant sur le microbiote et le comportement chez le rongeur ne permettent pas de séparer le rôle *per se* du microbiote, de facteurs confondants comme le régime alimentaire ou l'environnement hormonal ou métabolique maternel.

Cette stratégie a également permis d'apporter des éléments sur une possible **relation causale** entre le microbiote intestinal et le comportement alimentaire, jusque-là

supposée (Alcock et al., 2014). La démonstration d'une relation causale a été faite chez le rongeur pour d'autres comportements comme l'anxiété (Bercik et al., 2011) ou le comportement social (Desbonnet et al., 2014), notamment par l'utilisation d'animaux axéniques colonisés ou non (pour revue voir Ignatova, 2019), même si à ce jour certains mécanismes de cette relation de cause à effet sont encore parfois hypothétiques.

Il est intéressant de noter que dans notre étude, les différentes composantes du comportement alimentaire testées (préférence, motivation, prise alimentaire, ...) n'ont pas été influencées de la même façon par le microbiote intestinal néonatal. Ce résultat n'est toutefois pas surprenant au regard de la grande complexité du comportement que nous avons ciblé. Ce résultat démontre aussi la complexité des interactions entre le microbiote et les fonctions neuronales, modulées par des facteurs environnementaux et intrinsèques à l'hôte.

2. Cette influence du microbiote intestinal sur le comportement alimentaire est sexe-dépendante.

Un effet du sexe a été démontré dans notre deuxième stratégie. En effet à l'âge adulte, les femelles ont été plus impactées que les mâles après le transfert néonatal de bactéries associées à l'obésité de mères donneuses de microbiote. Cette sensibilité des femelles à un comportement alimentaire à risque est à mettre en lien avec le fort déséquilibre du ratio homme:femme dans les troubles du comportement alimentaire, de l'ordre de 1:9 à 1:4 (Di Girolamo et al., 2017; Galmiche et al., 2019). Nous avons également mis en évidence une interaction microbiote x sexe sur les préférences alimentaires, selon nos groupes expérimentaux. En effet, les femelles ayant reçu à la naissance des bactéries associées à un désordre métabolique présentent un comportement alimentaire plus « à risque » de développer une obésité que les mâles ayant reçus ces mêmes bactéries. Cet impact du sexe a été identifié par des études épidémiologiques chez l'Homme montrant la préférence des femmes pour les aliments sucrés et gras, contrairement aux hommes qui préféreraient les aliments à base de viande (pour revue voir Kanter and Caballero, 2012). Chez le rat, la consommation d'une solution grasse et sucrée est plus importante chez les femelles que chez les mâles à l'âge adulte (Marshall et al., 2017). Dans notre travail, **nous avons étudié séparément la préférence au goût gras et au goût sucré, ce qui nous permet d'apporter une vision plus détaillée sur l'influence du sexe sur les préférences alimentaires.**

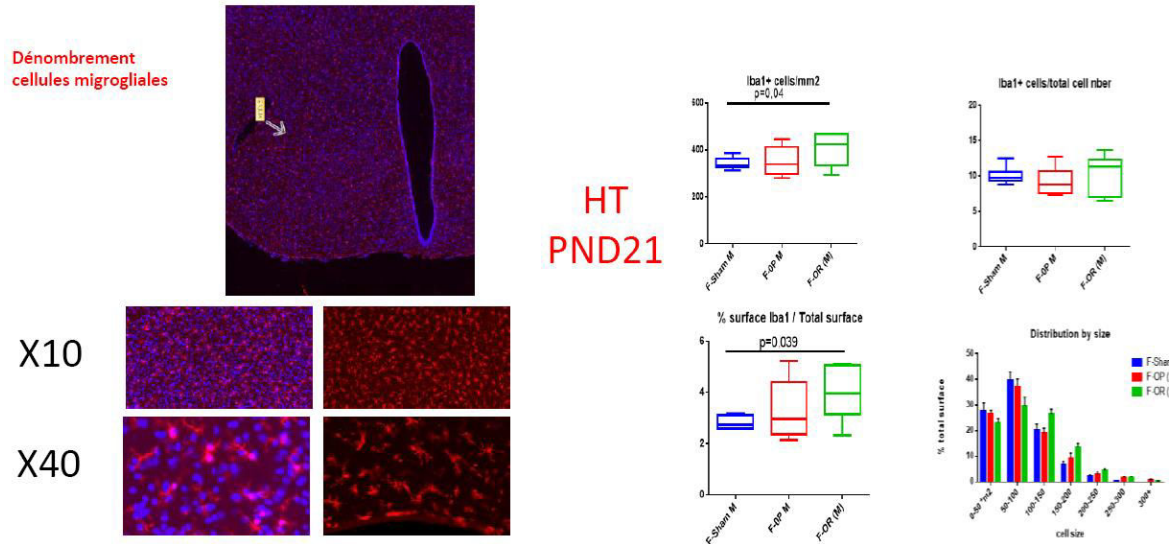
Ces différences sexe-dépendantes de comportement alimentaire seraient expliquées par les hormones sexuelles qui influeraient sur les capacités et l'hédonisme orosensoriels, ainsi que sur les taux de nombreux peptides gastro-intestinaux et hormones

régulant la prise alimentaire (pour revue voir Asarian and Geary, 2013). De plus, de nombreux types de neurones impliqués dans la régulation de la prise alimentaire expriment des récepteurs aux hormones sexuelles, tels que les neurones POMC, à AgRP et NPY, dopaminergiques, sérotoninergiques, ou encore GABAergiques, dont le fonctionnement est en partie régulé par l'axe gonadotrope (pour revue voir Asarian and Geary, 2013).

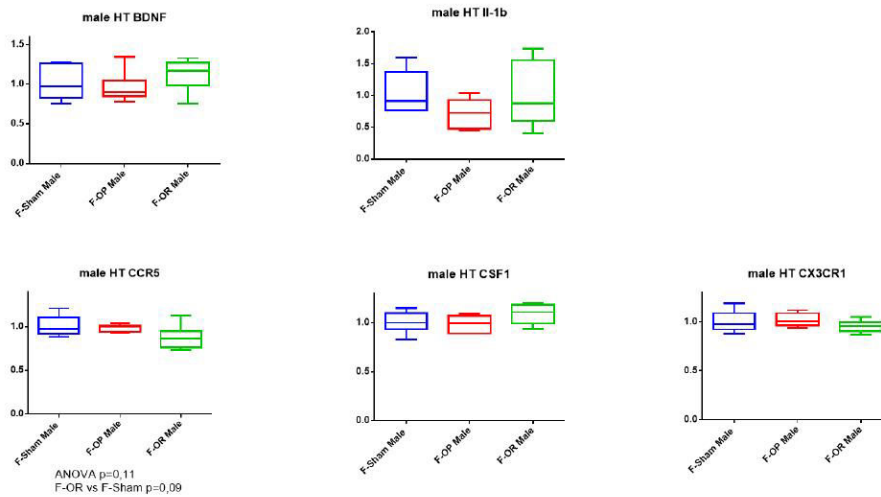
La composition du microbiote intestinal elle-même est influencée par le sexe de l'hôte (pour revue voir Jašarević et al., 2016), potentiellement en lien avec des réponses physiologiques et comportementales différentes chez ce dernier. Ce résultat est conforté par un réseau de preuves obtenues chez le rongeur. Une première étude montre en effet que la supplémentation d'une bactérie comensale (*Escherichia coli* K12) n'a pas les mêmes effets chez les rats mâles et femelles sur le gain de poids et la prise alimentaire. Les auteurs ont proposé que cette différence d'impact du microbiote pouvait être liée à la présence de cette souche avant la supplémentation chez la femelle, ce qui n'est pas le cas chez le mâle (Tennoune et al., 2015). Dans une très belle étude utilisant des animaux axéniques ou une déplétion du microbiote par antibiothérapie, Thion et al. ont démontré que la microglie est un autre acteur cellulaire cérébral dont la maturation et le fonctionnement sont influencés de façon sexe dépendante par la composition du microbiote intestinal, et que les modulations engendrées sont persistantes à l'âge adulte (Thion et al., 2018).

Dans notre seconde stratégie de transfert de microbiotes maternels, des résultats très préliminaires (voir planche page suivante) nous permettent de mettre en évidence une proportion de cellules microgliales dans certaines structures cérébrales, en particulier dans le VMN dans l'hypothalamus, qui diffère entre les ratons F-OR mâles et les autres groupes au moment du sevrage. Dans cette structure, les cellules microgliales révélées par immunohistochimie grâce à un anticorps anti-Iba-1 sont plus nombreuses et de plus grande taille. L'analyse transcriptomique de cette même structure montre une tendance à une expression moindre du récepteur C-C chimiokine de type 5 (CCR5) qui est impliqué dans la réponse protectrice de la microglie à l'inflammation. L'effet du transfert d'inocula bactériens provenant de mères OP ou OR n'est pas retrouvé chez les ratons Fischer femelles, démontrant là encore un polymorphisme sexuel dans la relation microbiote-microglie au sein du système nerveux central. Nous avons également démontré qu'à l'âge adulte, l'activité fermentaire du microbiote intestinal (bien que de composition similaire) était plus importante chez les mâles que les femelles, potentiellement en lien avec les réponses comportementales différentes observées. En effet, les AGCC produits par le microbiote intestinal sont capables, indépendamment de la présence ou non du microbiote, de diminuer l'activation des cellules microgliales et d'améliorer les symptômes cliniques dans un modèle de maladie de Parkinson murine (Sampson et al., 2016).

Analyse immunohistochimique de la microglie à J21 dans l'hypothalamus



Analyse transcriptomique de la microglie à J21 dans l'hypothalamus



CCR5 = Le récepteur à C-C chimiokine de type 5, lie CCL3 (ou MIP1alpha), CCL4 et CCL5. Lié à une protection contre l'inflammation. Plus de CCR5= regule négativement la plasticité synaptique
 CSF1 = cytokine impliquée dans la différenciation, la prolifération des cellules microgliales
 CX3CR1= récepteur de la chimiokine neuronale fractalkine marqueur spécifique de la microglie adulte .Nécessaire au recrutement des c microgliales aux sites synaptiques.

De plus, le transfert un microbiote de souris NOD mâles adultes à des souris NOD femelles au moment du sevrage, a permis de démontrer dans deux travaux que la composition précoce du microbiote intestinal module les niveaux d'hormones sexuelles chez la souris receveuse, induisant de façon causale un effet protecteur contre le développement du diabète de type 1 dans ce modèle (Markle et al., 2013; Yurkovetskiy et al., 2013).

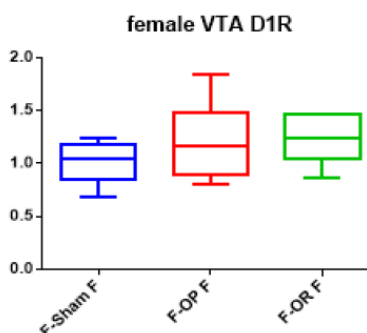
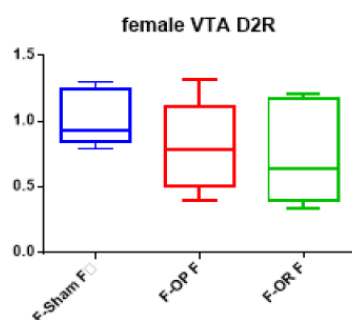
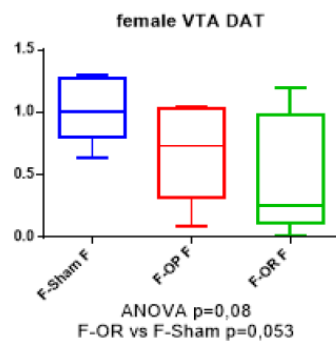
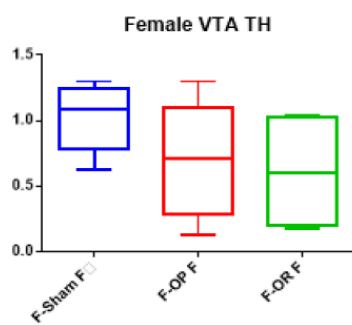
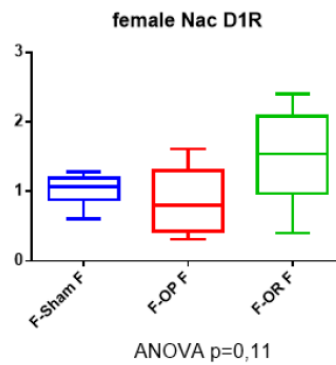
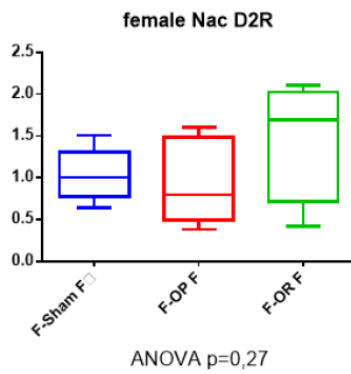
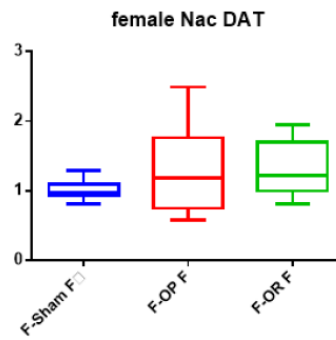
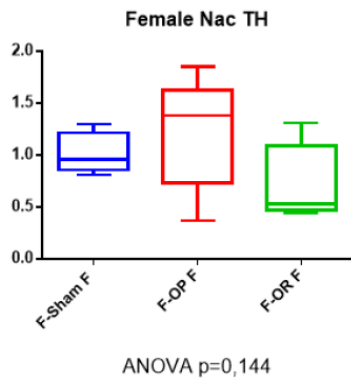
Ensemble, ces résultats indiquent qu'il est nécessaire de tenir compte des deux sexes dans les travaux ciblant le comportement alimentaire en lien avec le microbiote, chez l'Homme comme chez le rongeur. La majorité des connaissances actuelles provenant de protocoles expérimentaux basés sur des mâles, les futures recherches dans ce domaine doivent être particulièrement attentives à l'utilisation de femelles afin que les conclusions quant au rôle du microbiote dans la régulation et programmation du comportement alimentaire soient pertinentes.

3. L'influence du microbiote intestinal sur le comportement alimentaire est âge-dépendante.

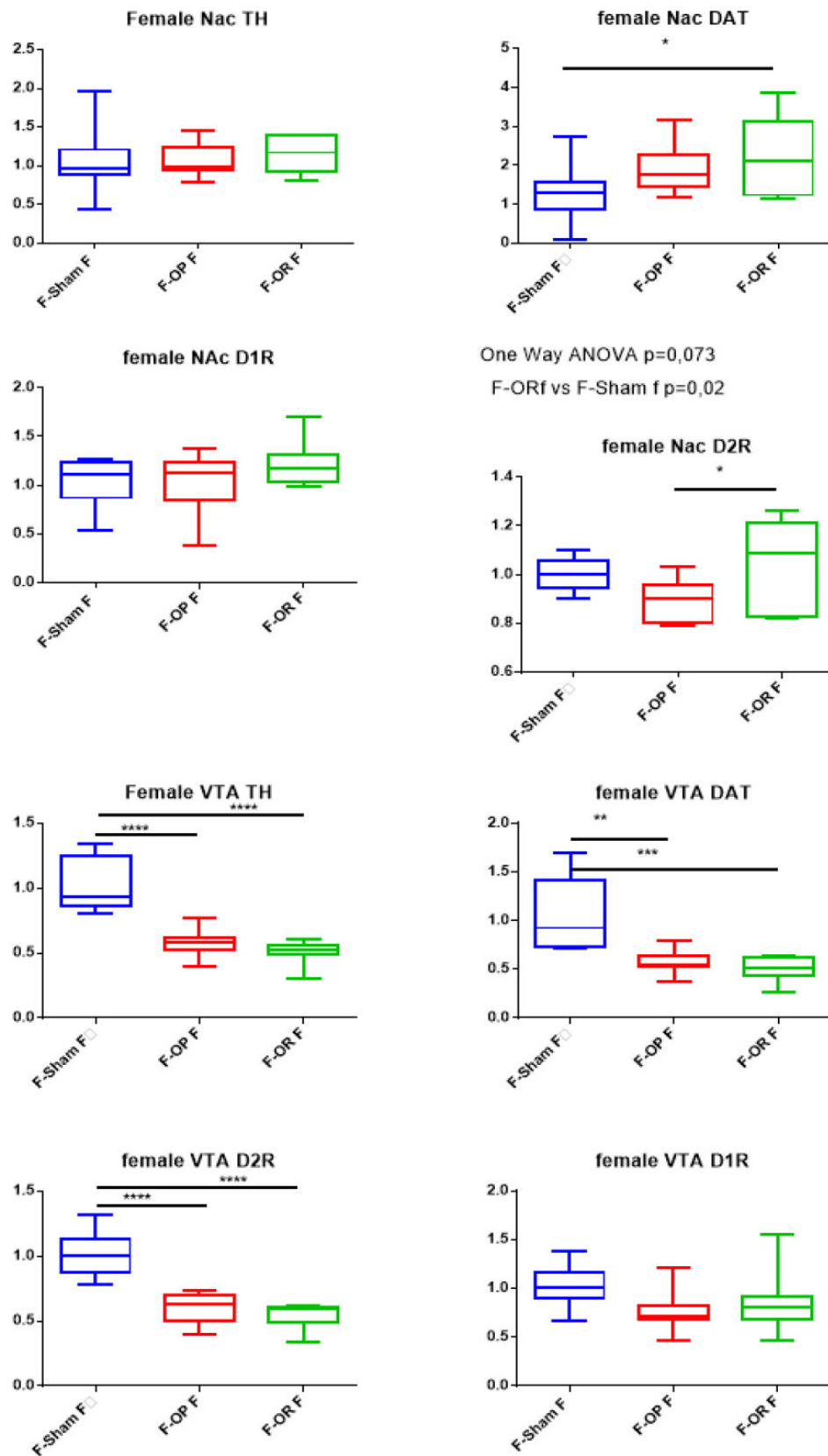
Outre le sexe, l'âge est également un facteur influençant le comportement alimentaire, notamment les préférences. Au cours de ce travail de thèse, nous avons identifié, suite au transfert de bactéries maternelles dès la naissance, une modulation de la prise alimentaire dès le quinzième jour de vie des rats, ainsi que chez les jeunes adultes. Au cours de la période d'adolescence, sous régime standard, les femelles F-OP ont également augmenté significativement leurs apports caloriques comparés à ceux des femelles F-Sham. Ces résultats sont à rapprocher des observations faites par Marshall et al. qui montrent que les rats femelles préfèrent la solution sucrée et grasse à l'âge adulte mais qu'à la période d'adolescence les rats mâles sont de plus gros consommateurs que les femelles (Marshall et al., 2017). En complément il a été montré que les préférences alimentaires diffèrent en fonction du stade de développement (sevrage, adolescent, adulte) chez le rat mâle et ceci est associé à des variations d'expressions de gènes impliqués dans la plasticité et la régulation de la prise alimentaire dans l'hypothalamus ainsi que dans le système mésocorticolimbique (VTA et NAc) (Paradis et al., 2017). Pour notre part, dans notre expérience de transfert du microbiote maternel nous montrons par des résultats, encore préliminaires et en cours d'exploitation, des variations dans l'expression d'un certain nombre de transcrits du système mésocorticolimbique qui s'intensifient avec l'âge chez les femelles (voir planches suivantes). Nous observons en particulier des différences significatives dans l'expression du transporteur de la DA et des variations dans l'expression des récepteurs de la DA. Ceci suggère que des anomalies de la mise en place des éléments

fonctionnels de ce circuit complexe se mettent en place de façon précoce et sont ensuite consolidées dans le temps. Une interprétation rigoureuse de ces changements devra être faite en réalisant des analyses de corrélation entre les changements phénotypiques comportementaux et l'expression des gènes de ce système.

Transcriptomic analysis of the mesocorticolimbic system
at **P20** in female rats



Transcriptomic analysis of the mesocorticolimbic system
at **P200** in female rats



Enfin nous aurions pu obtenir plus d'éléments sur les interactions microbiote-comportement alimentaire tout au long du développement de l'individu, en caractérisant le comportement alimentaire de nos différents groupes de rats au cours de la période d'adolescence, ce qui nous aurait fourni une analyse longitudinale de la mise en place des altérations comportementales, comme ceci a été réalisé dans le laboratoire pour l'étude de l'effet de la malnutrition maternelle sur les préférences alimentaire de la descendance (Paradis et al., 2017b).

4. Quelle modulation du microbiote intestinal pour quels effets sur la programmation du comportement alimentaire ?

Lors de ce travail de thèse, deux modes opératoires différents ont été utilisés pour moduler le microbiote intestinal : d'une part la supplémentation précoce en oligosides prébiotiques par gavage, et d'autre part l'apport direct de bactéries maternelles à la naissance par biberonage. Nous obtenons des résultats très différents dans ces deux expériences sur le comportement alimentaire à l'âge adulte et sur des aspects métaboliques ou de la physiologie des organes de l'hôte.

4.1. La supplémentation précoce en oligosides prébiotiques influence la composition du microbiote intestinal postnatal sans conséquences sur le comportement alimentaire des mâles adultes.

Si l'impact des prébiotiques sur la composition du microbiote intestinal et la prise alimentaire de l'adulte a largement été documenté chez l'Homme comme chez le rongeur (Cani et al., 2009b; Cani and Delzenne, 2011; Delzenne et al., 2013; Morel et al., 2015a), l'action de prébiotiques sur un microbiote néonatal immature restait très peu documentée. Ceci avait été étudié auparavant par des analyses du microbiote intestinal non exhaustives en utilisant la technique PCR ciblée pour étudier la présence de genres bactériens spécifiques d'une part et d'autre part en s'intéressant surtout à la composition du microbiote intestinal suite à une supplémentation en oligoside plutôt qu'au comportement alimentaire (Giovannini et al., 2014; Morel et al., 2015b; Wang et al., 2019). Notre travail montre qu'un microbiote immature est sensible à l'apport d'oligosaccharides durant la lactation, et ce aussi bien dans sa composition que dans son activité métabolique, puisque la concentration d'acétate était significativement augmentée durant la période de supplémentation. Cette augmentation aurait pu avoir pour conséquence une diminution la prise alimentaire des rats, en lien avec la diminution transitoire du poids vif observées chez les rats entre J6 et J10, puisque l'acétate diminue l'apport énergétique (Frost et

al., 2014). Cependant, la question principale de notre étude était de caractériser une éventuelle modulation de la programmation du comportement alimentaire à l'âge adulte. Nous n'avons donc pas mesuré la consommation de lait durant cette période.

De nombreux oligosides de composition différentes existent. Chez le rat, la nature de ces oligosides modulerait de façon différente la composition du microbiote intestinal néonatal, en particulier l'abondance des bifidobactéries ciblées par PCR (Morel et al., 2015b). De plus, l'utilisation d'un modèle de fermenteur *in vitro* mimant le microbiote intestinal, indique qu'un même prébiotique aurait à l'âge adulte des effets différents selon la composition du microbiote de l'individu supplémenté (Poeker et al., 2018). Dans notre étude, les 3 oligosides utilisés ont eu des effets similaires sur la composition du microbiote intestinal, telle qu'analysée dans nos conditions expérimentales. Or l'analyse du séquençage du fragment V4 de l'ADNr 16S ne serait peut-être pas suffisamment résolutive pour permettre de mettre en évidence des différences fines dans la composition du microbiote intestinal des rats selon la nature de l'oligoside. L'utilisation de la PCR pour cibler des genres particuliers ou un fragment plus long de l'ADNr 16S ont démontré que les modulations du microbiote induites par des prébiotiques portent sur les genres bactériens et non sur les familles (Vandeputte et al., 2017; van den Elsen et al., 2019b). Dans notre étude, la qualité du séquençage ne nous ont pas permis d'affilier avec fiabilité les séquences à des genres bactériens.

Afin d'obtenir une vision plus précise des effets de l'utilisation de prébiotiques comme modulateurs du microbiote intestinal néonatal, d'autres travaux sont encore nécessaires pour caractériser la capacité spécifique de chaque prébiotique à moduler le microbiote néonatal, en particulier selon les bactéries primo-colonisatrices reçues par le descendant à la naissance.

Dans ce travail de thèse, la stratégie de supplémenter les rats après la naissance en oligosides prébiotiques n'a pas influencé significativement le comportement alimentaire à l'âge adulte. Une explication possible est l'utilisation d'animaux mâles uniquement, dont le comportement alimentaire semble être moins influençable que celui des femelles. En effet, des effets sexe-dépendant en réponse à des suppléments en oligosides prébiotiques sur la composition et l'activité du microbiote intestinal ainsi que sur l'immunité de la muqueuse intestinale ont déjà été identifiés chez le rat adulte, notamment concernant la dégradation des protéines et la production d'ammoniaque (Shastri et al., 2015). Dans notre étude, la concentration en AGCC ramifiés issus de cette dégradation des protéines était significativement plus abondante chez les rats F-OP, mais indépendamment du sexe.

Une seconde étude a également démontré qu'une même supplémentation en oligosides prébiotiques au moment du sevrage pouvait induire des effets positifs (amélioration de l'insulino-résistance) chez les rats mâles, et des effets négatifs

(augmentation de l'endotoxémie et de la perméabilité intestinale) sur les femelles (Hallam and Reimer 2014). **Pour conclure sur l'absence d'impacts à long terme d'une supplémentation néonatale en prébiotiques chez le rat, notre travail nécessite d'être reproduit chez des femelles.**

Il aurait également été intéressant de challenger nos animaux sous régime hyper énergétique et d'étudier plus en détail différentes composantes du comportement alimentaire, notamment la motivation, afin de caractériser les effets protecteurs des oligosaccharides dans le cas d'une malnutrition. En effet, une étude récente a mis en évidence des réponses différentes à une supplémentation en FOS lors d'un régime HED, notamment une diminution du renforcement positif et de la motivation alimentaire, ainsi que l'expression de gènes impliqués dans la régulation hédonique et homéostatique de la prise alimentaire, en comparaison avec des animaux non supplémentés (Delbès et al., 2018b).

Enfin, la supplémentation en oligosides prébiotiques favorise le développement de bactéries spécifiques déjà présentes dans le microbiote intestinal, notamment les *Bifidobactéries* (Gibson et al., 2017b). Bien qu'une augmentation de l'abondance de ces bactéries soit généralement associée à un effet positif à court terme sur la satiété de l'adulte, ces bactéries n'auraient peut-être pas les capacités d'influencer à long terme le comportement alimentaire. L'absence de bactéries spécifiques (*Bifidobactéries* ou non) jouant un rôle dans la régulation du comportement alimentaire pourrait donc être une autre explication à cette absence d'effet à long terme.

4.2. L'apport artificiel de bactéries maternelles dès la naissance influence la composition du microbiote intestinal postnatal et le comportement alimentaire à l'âge adulte.

La deuxième stratégie mise en place durant ce travail de thèse nous a permis d'influencer significativement la composition et l'activité métabolique du microbiote intestinal des rats au moment de leur sevrage, et leur comportement alimentaire à l'âge adulte. Chez l'Homme, cet apport direct de bactéries maternelles est de plus en plus étudié et pratiqué, en particulier chez les bébés nés par césarienne. L'apport buccal de bactéries vaginales à ces bébés à la naissance module significativement la composition de leurs microbiotes fécal, oral et associé à la peau au cours des 30 premiers jours de vie comparativement aux enfants nés par césarienne sans cet apport bactérien (Dominguez-Bello et al., 2016b). Cependant, les conséquences à long terme d'un tel traitement, restent encore inconnues (Dominguez-Bello et al., 2016b). C'est pourquoi certains auteurs recommandent d'arrêter pour un temps cette pratique et identifient un **besoin urgent d'études ciblant les impacts à long termes d'un tel transfert** (Stinson et al., 2018). Ces auteurs pointent également du doigt la présence de nombreux facteurs confondants

d'importance dans les études cliniques menées chez l'Homme, comme la prise d'antibiotique *intrapartum*, l'alimentation néonatale ou encore l'obésité maternelle qui seraient, dans ces études, les principaux facteurs à l'origine de l'altération du microbiote intestinal du nouveau-né, plus que le mode de naissance (Stinson et al., 2018). Ce transfert de bactéries maternelles est un sujet très actuel qui fait débat dans la communauté scientifique (Lokugamage and Pathberiya, 2019), avec des arguments en faveur (Mueller et al., 2019), ou contre (Limaye and Ratner, 2019). Toutefois, l'ensemble de la communauté scientifique s'accorde sur le fait qu'il est urgent d'approfondir les connaissances sur ce sujet. **Dans ce contexte, ce travail de thèse apporte une preuve expérimentale, dans un modèle de rongeur, que l'apport de microbiotes maternels à la naissance peut avoir des impacts à long terme sur le descendant, notamment sur son comportement alimentaire, et ce de façon indépendante de la génétique et des facteurs maternels.** Cependant, une des limites de notre travail est que l'impact spécifique de chacun des microbiotes maternels transmis à nos ratons (fécal, vaginal et associé au lait) n'a pas été séparément étudié, indiquant que d'autres travaux plus approfondis doivent faire suite.

Un des arguments avancé par les auteurs contre le transfert de bactéries maternelles à la descendance est la composition du microbiote vaginal, notamment la présence de pathogènes avérés ou de bactéries opportunistes (Limaye and Ratner, 2019). Ce travail de thèse participe au renforcement de ce positionnement scientifique de précaution. En effet, nous avons mis en évidence que les microbiotes maternels provenant de mères présentant des phénotypes métaboliques différents avaient une composition différente et que le transfert de ces microbiotes à la naissance impactait de façon différente le comportement alimentaire à l'âge adulte. Toutefois, dans le cadre de notre étude, nous n'avons pas pu mettre en évidence de différence significative dans la composition du microbiote vaginal des rates OP versus OR, contrairement aux microbiotes intestinal et associé au lait, indiquant que ces deux microbiotes auraient, comme celui associé au vagin, la capacité d'induire des effets à long terme sur le comportement du descendant. Le régime alimentaire de la mère module son métabolisme, son statut pondéral et la composition de ses microbiotes (Cabrera-Rubio et al., 2012b; Koren et al., 2012b; Mann et al., 2017b; Si et al., 2017b). Le régime alimentaire et le métabolisme de la mère influencent également le métabolisme, le fonctionnement neuronal et le comportement alimentaire des descendants à l'âge adulte (Plagemann et al., 1999c; Bouret et al., 2004c; Kozak et al., 2005; Yokomizo et al., 2014; Bouret, 2017b).

L'ensemble de ces résultats pointent vers une double influence maternelle sur le neurodéveloppement de la descendance, avec des conséquences à long terme sur le comportement alimentaire et le métabolisme de celle-ci : 1) Un

statut métabolique maternel altéré, influencerait directement le neurodéveloppement du descendant avec des conséquences à long terme. 2) Cet effet pourrait être potentialisé par le transfert de microbiotes maternels « à risque » associés à un régime alimentaire et/ou un métabolisme altéré. Ainsi, le transfert de bactéries issues d'une mère présentant des altérations du comportement alimentaire et/ou du métabolisme à sa descendance pourrait avoir des conséquences à long terme plus désavantageuses qu'avantageuses, selon la composition des microbiotes maternels. A l'inverse, les altérations du métabolisme et de la prise alimentaire potentiellement développées par le descendant issu d'une mère présentant des altérations du comportement alimentaire et/ou du métabolisme pourraient être prévenues par l'apport de bactéries issues de microbiotes « non à risque ». Ceci implique d'identifier ces bactéries potentiellement « probiotiques » et de confirmer leur rôle dans la prévention du développement de troubles du comportement alimentaire à l'âge adulte.

Si la supplémentation néonatale en oligosides prébiotiques permet de moduler à court terme la composition du microbiote intestinal du descendant, cette intervention nutritionnelle, dans la fenêtre temporelle choisie, ne semble pas suffisante, du moins chez les rats mâles, pour influencer la programmation du comportement alimentaire. L'apport direct de bactéries semble être une approche plus intéressante. Cependant, il reste encore de nombreuses questions en suspens avant d'envisager le transfert de cette pratique en clinique, sans risques à long terme pour le descendant.

5. Existe-t-il une période temporelle critique pendant laquelle le microbiote doit être modulé pour influencer la programmation de la prise alimentaire ?

Les deux expériences réalisées dans ce travail de thèse soulèvent la question de savoir quelle est la période la plus favorable pour une modulation durable de la composition du microbiote. En effet deux fenêtres d'intervention ont été choisies : un apport de prébiotiques par gavage à partir de 5 jours et sur une période de 10 jours, et un apport par biberonnage à l'aide d'une pipette dans les deux heures après la naissance et ce pendant 15 jours. Dans les deux cas nous avons un impact sur la composition du microbiote en période précoce mais qui ne dure pas dans le temps. En revanche, les effets sur le comportement alimentaire diffèrent puisque la supplémentation en oligosides prébiotiques n'a pas influencé le comportement alimentaire à l'âge adulte, contrairement à l'apport de bactéries maternelles. Il est donc nécessaire de distinguer deux questions : Y a-t-il une fenêtre temporelle d'action pour la programmation du microbiote adulte ? et y a-t-il une

période où des changements de microbiote vont influencer à long terme le comportement alimentaire ?

Etant donné que le microbiote intestinal colonise très rapidement le tractus digestif dans les 5 premiers jours de vie (Butel et al., 2017), une modulation induite durant ces 5 premiers jours a potentiellement plus de chance de moduler profondément le microbiote intestinal et d'induire des conséquences à long terme chez l'hôte qu'une modulation plus tardive. Plusieurs travaux utilisant des souris axéniques se sont attachés à définir une fenêtre temporelle critique durant laquelle une modulation ou l'apport d'un microbiote induit des effets à long terme. La colonisation de souris axéniques âgées de 3 ou de 6 semaines (adolescence) par un microbiote de souris conventionnelles normalise les altérations comportementales et certaines des altérations neuronales associées à l'anxiété observées chez les animaux axéniques (Sudo et al., 2004; Clarke et al., 2013), mais pas le niveau de sérotonine dans l'hippocampe (Clarke et al., 2013). En revanche, cette normalisation n'est plus possible si la colonisation est effectuée à l'âge adulte (Sudo et al., 2004; Neufeld et al., 2011b). La colonisation de souris axéniques adultes avant la gestation, ne permet pas de normaliser leur phénotype, mais induit chez la descendance une normalisation de certains paramètres comportementaux et neurologiques (Heijtz et al., 2011c).

La programmation du métabolisme de l'hôte (croissance, prise de poids, adiposité, expression de gènes hépatiques) est également sensible aux modulations du microbiote intestinal du descendant, en particulier mâle, par des antibiotiques (directement ou *via* la mère) au cours de ces périodes péri- et postnatales (Azad et al., 2014; Cox et al., 2014; Cox and Blaser, 2015). Cependant, nombre de ces travaux ne permettent pas de différencier l'impact des facteurs maternels de l'impact *per se* de la composition du microbiote intestinal néonatal.

Si le sevrage est également une période critique pour la modulation du microbiote intestinal (Cox et al., 2014), une étude chez la souris démontre que la supplémentation indirecte *via* la mère en prébiotiques (FOS et GOS) durant la période de gestation-lactation est plus critique pour induire des effets à long terme sur la descendance que la supplémentation directe de celle-ci après le sevrage (Fujiwara et al., 2010). Cependant, ce travail ne permet pas de différencier les facteurs maternels de la composition *per se* du microbiote intestinal néonatal.

Dans notre protocole expérimental, la supplémentation en prébiotiques a été appliquée pendant une courte période postnatale et a pris fin avant le début de la consommation d'aliments solides, alors que les études rapportant les effets de la programmation d'une supplémentation précoce avec des oligosides sur la composition ultérieure du microbiote étaient basées sur une supplémentation à long terme, allant de la période prénatale (c'est-à-dire la supplémentation des mères en gestation) jusqu'au

sevrage complet et même au-delà. Il est difficile d'établir si la supplémentation que nous avons effectuée n'était pas assez précoce ou pas assez tardive ou trop longtemps, sur la seule base de cette comparaison. Cependant, dans une étude de Fujiwara et al. (2010), une différence dans la composition du microbiote chez l'adulte n'a été observée que chez les souris ayant reçu un supplément de FOS au-delà du sevrage. De même dans l'étude de Bourgot et coll. les porcelets ont été supplémentés en FOS quelques semaines après le sevrage et ont montré des différences durables au niveau de leur microbiote. À partir de là, on peut supposer que pour être durablement efficaces, les prébiotiques doivent pouvoir exercer leur effet après un sevrage complet, contrôlant ainsi l'impact de nouvelles sources bactériennes et les changements dans la dynamique des populations bactériennes qui résultent du passage du lait maternel à la nourriture solide et qui correspond pour toutes les espèces à un changement drastique de leur microbiote.

Un des éléments majeurs qui distinguent nos deux protocoles expérimentaux est l'intervention au moment de la naissance dans un cas (transfert de microbiotes maternels) et pas dans l'autre. Cette période peut être cruciale car elle permet la mise en place des souches primocolonisatrices chez le nouveau-né dont le microbiote est très pauvre, voir inexistant. Dans le cas du transfert maternel nous modifions probablement cette primocolonisation par nos apports. Il a en particulier été montré chez l'Homme que le microbiote fécal d'un enfant né par césarienne diffère après seulement une semaine de vie et est associé à une modulation du métabolome intestinal bactérien, en particulier des voies incluant le tryptophane et la tyrosine (Hill et al., 2017). Il serait intéressant de comparer la composition du microbiote fécal de nos très jeunes animaux entre nos deux expériences, ce qui pourrait nous apporter des pistes sur la présence ou non de bactéries ayant potentiellement un impact sur la régulation du comportement alimentaire ou le métabolisme.

Ces travaux associés aux résultats obtenus lors de cette thèse, indiquent la présence d'une période développementale critique s'étendant de la gestation à quelques semaines après le sevrage alimentaire pendant laquelle le microbiote intestinal a la capacité d'induire des modifications comportementales et neuronales à long terme chez l'hôte.

6. Par quelles voies le microbiote intestinal pourrait influencer la programmation du comportement alimentaire ?

L'axe intestin-cerveau est composé de nombreuses voies de nature endocrine, nerveuse ou encore immunitaire, souvent interdépendantes. La caractérisation de voies

mécanistiques précises par lesquelles le microbiote intestinal néonatal peut influencer le comportement alimentaire à l'âge adulte est donc particulièrement complexe.

Dans son ensemble, ce travail de thèse a permis de confirmer ou d'écarter certaines pistes mécanistiques. Ainsi, la supplémentation en oligosides prébiotiques a fortement influencé la **différenciation des CEE et la sécrétion de peptides gastro-intestinaux anorexigènes**. Si dans nos conditions expérimentales la concentration plasmatique de ces peptides n'a pas été associée à une modulation de la prise alimentaire à long terme, elle pourrait l'être dans notre seconde stratégie d'apport de bactéries maternelles. L'analyse de l'expression de certains gènes dans l'iléon et le colon des rats Fischer au sevrage lorsque la composition de leur microbiote intestinal est significativement différente est actuellement en cours. Les premiers résultats indiquent que la composition du microbiote intestinal n'a pas influencé l'expression des gènes relatifs aux peptides gastro-intestinaux durant cette période (voir planche suivante). Il reste cependant à identifier si des altérations à long terme de l'activité de ces CEE sont présentes suites au transfert de bactéries maternelles. **Ainsi, deux modulations différentes du microbiote intestinal néonatal impactent de façon différente la sécrétion de ces peptides.**

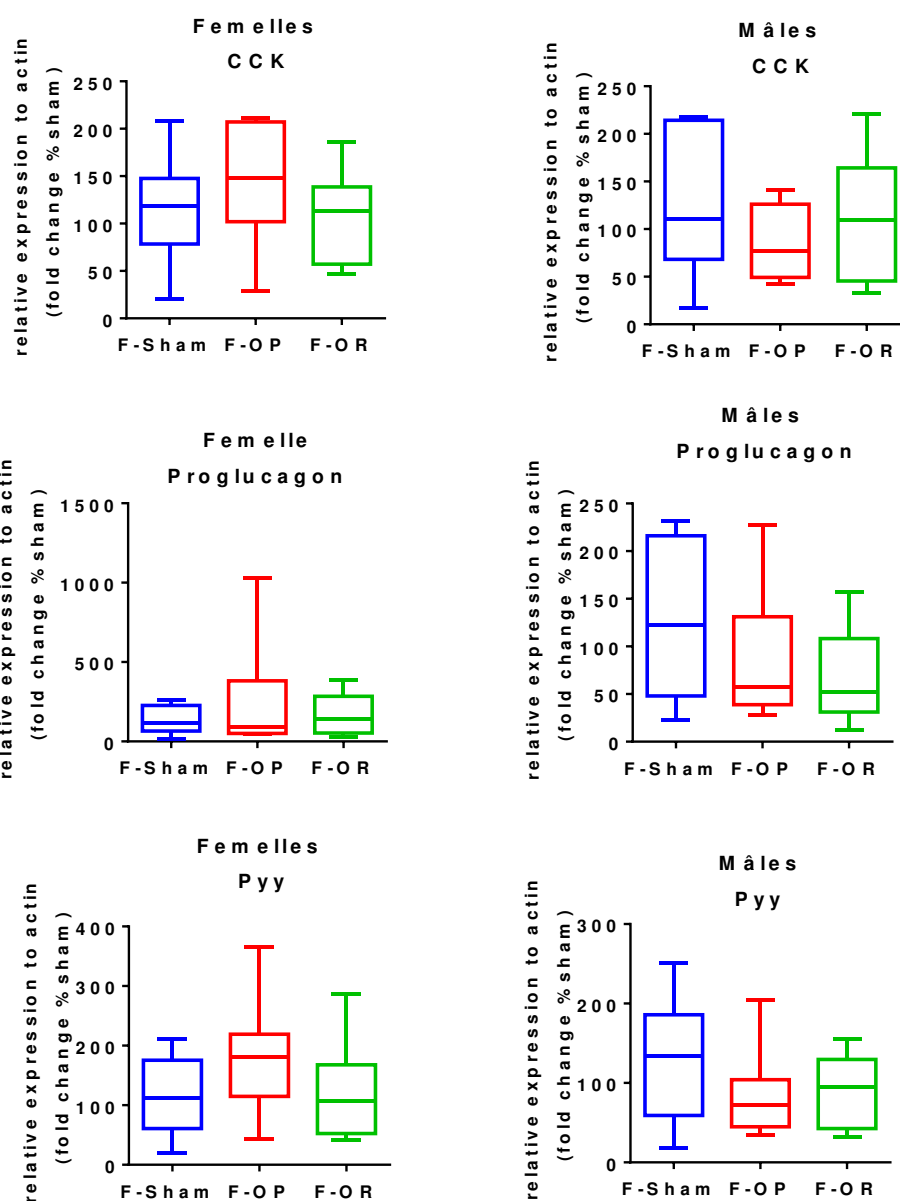
Les AGCC ont des effets pléiotropes sur l'organisme, potentiellement à long terme, *via* notamment la modulation des marques épigénétiques par le butyrate ou le propionate (Krautkramer et al., 2016; Stols-Gonçalves et al., 2019). Nos deux stratégies ont induit une modulation du profil des AGCC produits par le microbiote à court terme, bien que de façon différente. L'augmentation d'acétate que nous observons lors de la supplémentation en prébiotiques aurait pu avoir pour conséquence une diminution la prise alimentaire des rats puisqu'il a été démontré qu'il a pour effet de réduire l'apport énergétique (Frost et al., 2014), en particulier dans les modèles d'obésité d'origine alimentaire chez les rongeurs. Cependant, des résultats contradictoires existent en fonction de la façon dont sa concentration est augmentée (utilisation chronique ou aiguë de fibres fermentescibles). Nous ne pouvons conclure dans notre première étude sur cet effet de l'acétate car la consommation de lait n'a pas été mesurée durant cette période chez nos rats.

Dans la deuxième étude nous montrons une augmentation des AGCC ramifiés chez les rats F-OP au moment du sevrage. Peu de choses sont actuellement connues sur le rôle de ce type d'AGCC. Cependant, la diminution des apports alimentaires en acides aminés ramifiés, précurseurs de ces AGCC ramifiés, est associée à court terme à une diminution de la prise alimentaire induite en réponse à l'insuline (Karusheva et al., 2019). Les différences observées entre groupes sur les concentrations de ces métabolites bactériens au sevrage, ne sont plus retrouvées à l'âge adulte. Il est cependant possible qu'ils aient eu en début de vie un impact important sur le fonctionnement cérébral et la prise alimentaire. L'impact des AGCC a été illustré par de nombreux travaux chez l'Homme sur les paramètres liés à l'appétit ainsi que par des observations de réponse hédonique

réduite aux aliments à haute teneur en énergie régulés par le striatum. Cependant ces effets font encore l'objet de recherches expérimentales sur des modèles animaux et d'essais cliniques sur les humains pour déterminer si les AGCC régulent l'appétit en agissant directement au niveau hypothalamique ou via un mécanisme dépendant du nerf vague, par l'intermédiaire des peptides gastro-intestinaux de la satiété (GLP-1 et PYY), suite à l'interaction de ces métabolites avec les récepteurs FFAR sur les cellules L.

Analyse transcriptomique par RT-qPCR dans l'iléon des ratons F-Sham, F-OP et F-OR à J21

Peptides gastro-intestinaux



Concernant l'apport de bactéries maternelles, l'impact du microbiote intestinal néonatal sur le comportement alimentaire à l'âge adulte pourrait provenir d'une **modulation du système immunitaire**. En effet, nos premiers résultats de transcriptomique au niveau intestinal indiquent une augmentation de l'expression du gène codant pour le TLR-4, agoniste du LPS de bactéries à Gram négative chez les femelles OP et OR, ainsi que chez les mâles OR (voir planche suivante). Cette modulation d'expression pourrait être due à l'influence des AGCC sur les marques épigénétiques de ce gène. Si le rôle du TLR-4 et de son activation ont été mis en évidence dans le développement d'une inflammation associée à des désordres métaboliques lors d'un régime riche en graisse (Everard et Cani, 2017), son activation permet également la prévention du développement du syndrome métabolique (Lu et al., 2018), la sécrétion de PAMs dans la lumière intestinale ainsi qu'une réparation épithéliale optimale, concourant à l'homéostasie intestinale (Sokol, 2017b). Le dosage de cytokines pro- ou anti-inflammatoire telles que l'IL-10, le TNF α , l'IL-1 et l'IL-6 dans le plasma de nos animaux pourrait nous permettre d'aiguiller notre réflexion sur le rôle potentiel de ce TLR-4 chez les F-OP et les F-OR respectivement. L'expression de ce TLR-4 n'a pas été mesurée chez les rats suite à la supplémentation en prébiotiques. Les FOS et GOS sont cependant connus pour être des ligands de ce récepteur, induisant de multiples effets sur le système immunitaire, notamment une augmentation de la production d'IL-10 anti-inflammatoire par des cellules dendritiques (Lehmann et al., 2015; Wu et al., 2016). **Dans le contexte de ce travail de thèse, cette piste du système immunitaire est intéressante en regard des altérations de ce système dans les troubles du comportement alimentaire** (Fetissov and Hökfelt, 2019).

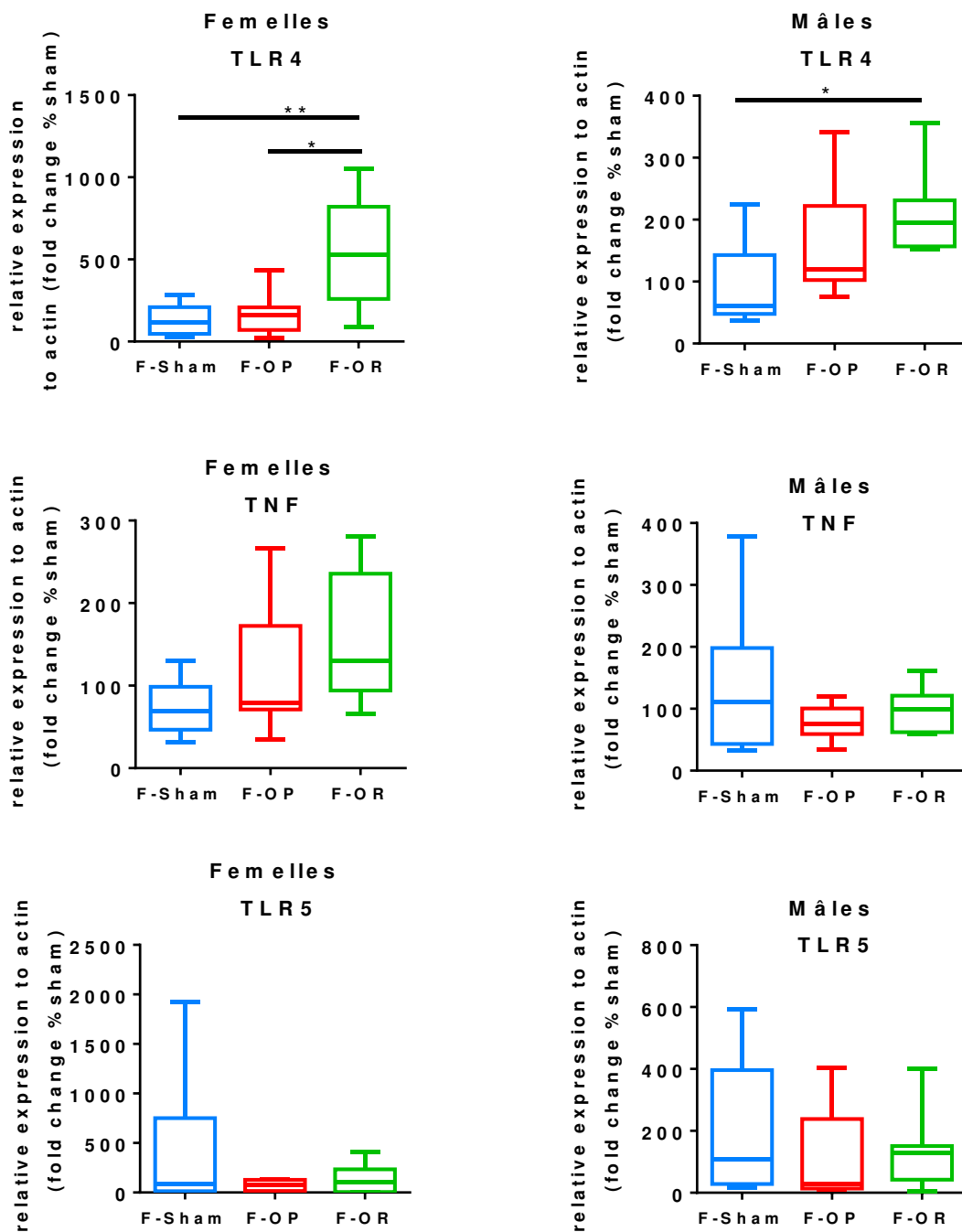
Les **amines** (en particulier les monoamines) et les **acides biliaires** produits par le métabolisme du microbiote intestinal seraient également intéressants à caractériser à court et à long terme chez nos rats ayant reçu des bactéries maternelles à la naissance. Cet aspect de notre travail est encore en cours d'exploitation.

La composition du microbiote intestinal pourrait elle-même être programmée par une perturbation induite au moment de sa mise en place. Cette perturbation pourrait conduire à un microbiote de composition différente à l'âge adulte qui interagirait de façon différente avec l'hôte. La majorité des études modulant précocement et transitoirement le microbiote intestinal ne retrouve pas de différences de composition à long terme, notamment une supplémentation en prébiotiques chez la mère (Fujiwara et al., 2010) ou encore une antibiothérapie à dose sub-optimale donnée à la mère et aux descendants jusqu'au sevrage (Cox et al., 2014). Ces résultats sont concordants avec nos observations issues des deux stratégies mises en place pour moduler le microbiote intestinal néonatal. Cependant, quelques études chez le rongeur démontrent, en utilisant les mêmes types de modulateurs (prébiotiques et antibiothérapie sub-optimale), des effets à long terme sur la composition du microbiote intestinal (Morel et al., 2015c; Leclercq et

al., 2017a). **L'ensemble de ces résultats démontrent que la programmation du microbiote intestinal et les facteurs impliqués restent encore à démontrer.**

Analyse transcriptomique par RT-qPCR dans le côlon des rats F-Sham, F-OP et F-OR à J21

Marqueur d'inflammation et TLRs



Que la composition du microbiote intestinal soit ou non programmable, le microbiote néonatal pourrait **influencer la mise en place des structures cérébrales**. Les modulations de ces structures et/ou de leur fonctionnement persisteraient ensuite à l'âge adulte. Pour vérifier cette hypothèse, une quantification des phénomènes d'apoptose et de la prolifération cellulaire au niveau central à un stade précoce du neurodéveloppement est en cours de réalisation. L'analyse de l'expression de différents gènes impliqués dans le circuit hédonique ou homéostasique au sevrage et à l'âge adulte chez les rats Fischer est également en cours. Nous nous sommes essentiellement focalisées sur les différents noyaux hypothalamiques et le NTS, impliqués dans la régulation homéostasique de la prise alimentaire et les structures du système mésocorticolimbique. **Ces premiers résultats préliminaires confirment l'existence d'une programmation du fonctionnement neuronal dont l'étude des mécanismes doit être approfondie, en particulier par des études de corrélation entre les données comportementales, les données transcriptomiques, neuroanatomiques et microbiologiques.**

7. Poursuite du projet MAMIPROFFI et perspectives

Durant ce travail de thèse, le premier objectif du projet a pu être réalisé. Ainsi, l'impact à long terme d'un transfert de microbiotes maternels associés à des phénotypes métaboliques différents sur le neurodéveloppement et le comportement alimentaire des descendants a été confirmé. Le travail d'analyse se poursuit afin de dégager des pistes mécanistiques par lesquelles cette influence du microbiote a eu lieu.

Dans le cadre de notre collaboration avec MétaGénoPoliS, les inocula transférés aux rats Fischer ainsi que le microbiote intestinal au sevrage et à l'âge adulte de ceux-ci ont été séquencés par métagénomique. Les premiers résultats confirment et approfondissent ceux obtenus par le séquençage de l'ADNr 16S. L'ensemble des données générées par MétaGénoPoliS va être croisé avec les données physiologiques et comportementales issues de notre laboratoire afin d'identifier le plus précisément possible des taxa bactériens, puis des gènes et des voies métaboliques potentielles marqueurs d'un comportement alimentaire à risque ou plutôt protecteur. Après identification de ces bactéries, leur rôle causal dans la programmation du comportement alimentaire sera confirmé par un ou plusieurs autres protocoles expérimentaux. Cette partie, sans doute la plus épineuse, par les nombreuses limites techniques potentielles, souligne le décalage entre l'aspect descriptif très détaillé obtenu par des techniques d'analyses de pointe, et la transformation de ces résultats en applications concrètes, validées dans des modèles *in vitro*, chez le rongeur puis chez l'Homme.

CONCLUSION

Ce travail de thèse participe à l'approfondissement des connaissances sur le rôle du microbiote intestinal dans la programmation du comportement alimentaire. Cependant, de nombreuses questions restent encore en suspens concernant les choix du type de modulateur du microbiote intestinal, du protocole de modulation, de la fenêtre comportementale ciblée par la modulation, et de la composante comportementale ciblée ; l'impact de ces choix étant potentiellement modulé par le sexe et la génétique de l'hôte. Le rôle de l'environnement maternel, métabolique comme microbien, semble se dégager particulièrement dans la littérature. Une intervention nutritionnelle chez la mère permettrait d'influencer à la fois la voie métabolique et la voie bactérienne influençant le neurodéveloppement du descendant, potentiellement renforcée par une modulation directe chez le descendant. Une telle prise en charge serait donc particulièrement indiquée dans le cas de patientes présentant des troubles du comportement alimentaire et souhaitant avoir un enfant, afin de prévenir les risques de transmission d'altérations de ce comportement.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- A -

- Abbott, A. (2016). Scientists bust myth that our bodies have more bacteria than human cells. *Nature News*. doi:10.1038/nature.2016.19136.
- Abegg, K., Hermann, A., Boyle, C. N., Bouret, S. G., Lutz, T. A., and Riediger, T. (2017). Involvement of Amylin and Leptin in the Development of Projections from the Area Postrema to the Nucleus of the Solitary Tract. *Front Endocrinol (Lausanne)* 8. doi:10.3389/fendo.2017.00324.
- Abraham, M. A., and Lam, T. K. T. (2016). Glucagon action in the brain. *Diabetologia* 59, 1367–1371. doi:10.1007/s00125-016-3950-3.
- Ackerman, S. H., Albert, M., Shindedecker, R. D., Gayle, C., and Smith, G. P. (1992). Intake of different concentrations of sucrose and corn oil in preweanling rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 262, R624–R627. doi:10.1152/ajpregu.1992.262.4.R624.
- Adams, J. B., Johansen, L. J., Powell, L. D., Quig, D., and Rubin, R. A. (2011). Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism--comparisons to typical children and correlation with autism severity. *BMC Gastroenterol* 11, 22. doi:10.1186/1471-230X-11-22.
- Adriaenssens, A. E., Biggs, E. K., Darwish, T., Tadross, J., Sukthankar, T., Girish, M., et al. (2019). Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide Receptor-Expressing Cells in the Hypothalamus Regulate Food Intake. *Cell Metabolism* 30, 987-996.e6. doi:10.1016/j.cmet.2019.07.013.
- Ahima, R. S., and Hileman, S. M. (2000). Postnatal regulation of hypothalamic neuropeptide expression by leptin: implications for energy balance and body weight regulation. *Regulatory Peptides* 92, 1–7. doi:10.1016/S0167-0115(00)00142-7.
- Ahima, R. S., Prabakaran, D., and Flier, J. S. (1998). Postnatal leptin surge and regulation of circadian rhythm of leptin by feeding. Implications for energy homeostasis and neuroendocrine function. *J Clin Invest* 101, 1020–1027.
- Ahlman, H., and Nilsson, null (2001). The gut as the largest endocrine organ in the body. *Ann. Oncol.* 12 Suppl 2, S63-68. doi:10.1093/annonc/12.suppl_2.s63.
- Ahrén, B. (2000). Autonomic regulation of islet hormone secretion - Implications for health and disease. *Diabetologia* 43, 393–410. doi:10.1007/s001250051322.
- Aizenman, Y., and de Vellis, J. (1987). Brain neurons develop in a serum and glial free environment: effects of transferrin, insulin- insulin-like growth factor-I and thyroid hormone on neuronal survival, growth and differentiation. *Brain Research* 406, 32–42. doi:10.1016/0006-8993(87)90766-9.
- Akiba, Y., Inoue, T., Kaji, I., Higashiyama, M., Narimatsu, K., Iwamoto, K., et al. (2015). Short-chain fatty acid sensing in rat duodenum. *The Journal of Physiology* 593, 585–599. doi:10.1113/jphysiol.2014.280792.
- Albenberg, L., Esipova, T., Judge, C., Bittinger, K., Chen, J., Laughlin, A., et al. (2014). Correlation Between Intraluminal Oxygen Gradient and Radial Partitioning of Intestinal Microbiota in Humans and Mice. *Gastroenterology* 147, 1055-1063.e8. doi:10.1053/j.gastro.2014.07.020.
- Allbrand, M., Åman, J., and Lodefalk, M. (2018). Placental ghrelin and leptin expression and cord blood ghrelin, adiponectin, leptin, and C-peptide levels in severe maternal obesity.

- The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 31, 2839–2846. doi:10.1080/14767058.2017.1358262.
- Allen, N. J., and Lyons, D. A. (2018). Glia as architects of central nervous system formation and function. *Science* 362, 181–185. doi:10.1126/science.aat0473.
- Altman, J., and Bayer, S. A. (1986). The development of the rat hypothalamus. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 100, 1–178.
- Anahtar, M. N., Byrne, E. H., Doherty, K. E., Bowman, B. A., Yamamoto, H. S., Soumillon, M., et al. (2015). Cervicovaginal bacteria are a major modulator of host inflammatory responses in the female genital tract. *Immunity* 42, 965–976. doi:10.1016/j.immuni.2015.04.019.
- Anand, B. K., and Brobeck, J. R. (1951). Hypothalamic Control of Food Intake in Rats and Cats. *Yale J Biol Med* 24, 123–140.
- Antonopoulos, J., Dori, I., Dinopoulos, A., Chiotelli, M., and Parnavelas, J. G. (2002). Postnatal development of the dopaminergic system of the striatum in the rat. *Neuroscience* 110, 245–256. doi:10.1016/s0306-4522(01)00575-9.
- Aponte, Y., Atasoy, D., and Sternson, S. M. (2011). AGRP neurons are sufficient to orchestrate feeding behavior rapidly and without training. *Nat Neurosci* 14, 351–355. doi:10.1038/nn.2739.
- Arentsen, T., Raith, H., Qian, Y., Forsberg, H., and Diaz Heijtz, R. (2015). Host microbiota modulates development of social preference in mice. *Microb. Ecol. Health Dis.* 26, 29719. doi:10.3402/mehd.v26.29719.
- Aron-Wisniewsky, J., and Clément, K. (2017). “Microbiote et obésité, Apports alimentaires, Chirurgie bariatrique,” in *Le microbiote intestinal : un organe à part entière* (France: Maud Thévenin), 175–184.
- Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D. R., et al. (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 473, 174–180. doi:10.1038/nature09944.
- Astbury, S., Song, A., Zhou, M., Nielsen, B., Hoedl, A., Willing, B. P., et al. (2018). High Fructose Intake During Pregnancy in Rats Influences the Maternal Microbiome and Gut Development in the Offspring. *Front. Genet.* 9. doi:10.3389/fgene.2018.00203.
- Atarashi, K., Tanoue, T., Oshima, K., Suda, W., Nagano, Y., Nishikawa, H., et al. (2013). Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature* 500, 232–236. doi:10.1038/nature12331.
- Atasoy, D., Betley, J. N., Su, H. H., and Sternson, S. M. (2012). Deconstruction of a neural circuit for hunger. *Nature* 488, 172–177. doi:10.1038/nature11270.
- Azad, M. B., Robertson, B., Atakora, F., Becker, A. B., Subbarao, P., Moraes, T. J., et al. (2018). Human Milk Oligosaccharide Concentrations Are Associated with Multiple Fixed and Modifiable Maternal Characteristics, Environmental Factors, and Feeding Practices. *J. Nutr.* 148, 1733–1742. doi:10.1093/jn/nxy175.

- B -

- Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Koh, G. Y., Nagy, A., et al. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101, 15718–15723. doi:10.1073/pnas.0407076101.
- Bäckhed, F., Ley, R. E., Sonnenburg, J. L., Peterson, D. A., and Gordon, J. I. (2005). Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 307, 1915–1920. doi:10.1126/science.1104816.

- Bäckhed, F., Roswall, J., Peng, Y., Feng, Q., Jia, H., Kovatcheva-Datchary, P., et al. (2015). Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host & Microbe* 17, 690–703. doi:10.1016/j.chom.2015.04.004.
- Bady, I., Marty, N., Dallaporta, M., Emery, M., Gyger, J., Tarussio, D., et al. (2006). Evidence From Glut2-Null Mice That Glucose Is a Critical Physiological Regulator of Feeding. *Diabetes* 55, 988–995. doi:10.2337/diabetes.55.04.06.db05-1386.
- Baldassarre, M. E., Palladino, V., Amoruso, A., Pindinelli, S., Mastromarino, P., Fanelli, M., et al. (2018). Rationale of Probiotic Supplementation during Pregnancy and Neonatal Period. *Nutrients* 10. doi:10.3390/nu10111693.
- Ballard, I. C., Murty, V. P., Carter, R. M., MacInnes, J. J., Huettel, S. A., and Adcock, R. A. (2011). Dorsolateral Prefrontal Cortex Drives Mesolimbic Dopaminergic Regions to Initiate Motivated Behavior. *J Neurosci* 31, 10340–10346. doi:10.1523/JNEUROSCI.0895-11.2011.
- Ballard, O., and Morrow, A. L. (2013). Human Milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors. *Pediatr Clin North Am* 60, 49–74. doi:10.1016/j.pcl.2012.10.002.
- Baquero, A. F., de Solis, A. J., Lindsley, S. R., Kirigiti, M. A., Smith, M. S., Cowley, M. A., et al. (2014). Developmental Switch of Leptin Signaling in Arcuate Nucleus Neurons. *J Neurosci* 34, 9982–9994. doi:10.1523/JNEUROSCI.0933-14.2014.
- Baquero, A. F., Kirigiti, M. A., Baquero, K. C., Lee, S. J., Smith, M. S., and Grove, K. L. (2015). Developmental Changes in Synaptic Distribution in Arcuate Nucleus Neurons. *J Neurosci* 35, 8558–8569. doi:10.1523/JNEUROSCI.0058-15.2015.
- Barile, D., and Rastall, R. A. (2013). Human milk and related oligosaccharides as prebiotics. *Current Opinion in Biotechnology* 24, 214–219. doi:10.1016/j.copbio.2013.01.008.
- Barouei, J., Moussavi, M., and Hodgson, D. M. (2015). Perinatal maternal probiotic intervention impacts immune responses and ileal mucin gene expression in a rat model of irritable bowel syndrome. *Benef Microbes* 6, 83–95. doi:10.3920/BM2013.0011.
- Barsh, G. S., and Schwartz, M. W. (2002). Genetic approaches to studying energy balance: perception and integration. *Nat Rev Genet* 3, 589–600. doi:10.1038/nrg862.
- Baumann, M. U., Deborde, S., and Illsley, N. P. (2002). Placental glucose transfer and fetal growth. *Endocrine* 19, 13–22. doi:10.1385/ENDO:19:1:13.
- Bayer, S. A., and Altman, J. (1991). *Neocortical development*. New York: Raven Press.
- Bayer, S. A., Altman, J., Russo, R. J., Dai, X., and Simmons, J. A. (1991). Cell migration in the rat embryonic neocortex. *J. Comp. Neurol.* 307, 499–516. doi:10.1002/cne.903070312.
- Bayol, S. A., Farrington, S. J., and Stickland, N. C. (2007). A maternal “junk food” diet in pregnancy and lactation promotes an exacerbated taste for “junk food” and a greater propensity for obesity in rat offspring. *Br. J. Nutr.* 98, 843–851. doi:10.1017/S0007114507812037.
- Becattini, S., Taur, Y., and Pamer, E. G. (2016). Antibiotic-Induced Changes in the Intestinal Microbiota and Disease. *Trends Mol Med* 22, 458–478. doi:10.1016/j.molmed.2016.04.003.
- Bellinger, L. L., and Bernardis, L. L. (2002). The dorsomedial hypothalamic nucleus and its role in ingestive behavior and body weight regulation: Lessons learned from lesioning studies. *Physiology & Behavior* 76, 431–442. doi:10.1016/S0031-9384(02)00756-4.
- Ben-Ari, Y., Khalilov, I., Kahle, K. T., and Cherubini, E. (2012). The GABA excitatory/inhibitory shift in brain maturation and neurological disorders. *Neuroscientist* 18, 467–486. doi:10.1177/1073858412438697.
- Bercik, P., Denou, E., Collins, J., Jackson, W., Lu, J., Jury, J., et al. (2011). The Intestinal Microbiota Affect Central Levels of Brain-Derived Neurotropic Factor and Behavior in Mice. *Gastroenterology* 141, 599-609.e3. doi:10.1053/j.gastro.2011.04.052.

- Berglund, E. D., Vianna, C. R., Donato, J., Kim, M. H., Chuang, J.-C., Lee, C. E., et al. (2012). Direct leptin action on POMC neurons regulates glucose homeostasis and hepatic insulin sensitivity in mice. *J Clin Invest* 122, 1000–1009. doi:10.1172/JCI59816.
- Bergman, E. N. (1990). Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.* 70, 567–590. doi:10.1152/physrev.1990.70.2.567.
- Berke, J. D., and Hyman, S. E. (2000). Addiction, Dopamine, and the Molecular Mechanisms of Memory. *Neuron* 25, 515–532. doi:10.1016/S0896-6273(00)81056-9.
- Bernalier-Donadille, A., and Pochart, P. (2017). “Microbiote intestinale et capacités métaboliques,” in *Le microbiote intestinal : un organe à part entière* (France: Maud Thévenin), 13–23.
- Berthoud, H.-R. (2006). Homeostatic and Non-homeostatic Pathways Involved in the Control of Food Intake and Energy Balance. *Obesity* 14, 197S-200S. doi:10.1038/oby.2006.308.
- Bertotto, A., Gerli, R., Castellucci, G., and Scalise, F. (1991). Human milk lymphocytes bearing the y/b T-cell receptor are mostly 6TCS1-positive cells.
- Betley, J. N., Xu, S., Cao, Z. F. H., Gong, R., Magnus, C. J., Yu, Y., et al. (2015). Neurons for hunger and thirst transmit a negative-valence teaching signal. *Nature* 521, 180–185. doi:10.1038/nature14416.
- Birchough, G. M. H., Johansson, M. E. V., Gustafsson, J. K., Bergström, J. H., and Hansson, G. C. (2015). New developments in goblet cell mucus secretion and function. *Mucosal Immunol* 8, 712–719. doi:10.1038/mi.2015.32.
- Blum, H. E. (2017). The human microbiome. *Advances in Medical Sciences* 62, 414–420. doi:10.1016/j.advms.2017.04.005.
- Blustein, J., and Liu, J. (2015). Time to consider the risks of caesarean delivery for long term child health. *BMJ* 350, h2410. doi:10.1136/bmj.h2410.
- Boix-Amorós, A., Collado, M. C., and Mira, A. (2016). Relationship between Milk Microbiota, Bacterial Load, Macronutrients, and Human Cells during Lactation. *Front Microbiol* 7. doi:10.3389/fmicb.2016.00492.
- Bonnefil, V., Dietz, K., Amatruda, M., Wentling, M., Aubry, A. V., Dupree, J. L., et al. (2019). Region-specific myelin differences define behavioral consequences of chronic social defeat stress in mice. *eLife* 8. doi:10.7554/eLife.40855.
- Bonnin, A., Goeden, N., Chen, K., Wilson, M. L., King, J., Shih, J. C., et al. (2011). A transient placental source of serotonin for the fetal forebrain. *Nature* 472, 347–350. doi:10.1038/nature09972.
- Bookstaver, P. B., Bland, C. M., Griffin, B., Stover, K. R., Eiland, L. S., and McLaughlin, M. (2015). A Review of Antibiotic Use in Pregnancy. *Pharmacotherapy* 35, 1052–1062. doi:10.1002/phar.1649.
- Borewicz, K., Suarez-Diez, M., Hechler, C., Beijers, R., Weerth, C. de, Arts, I., et al. (2019). The effect of prebiotic fortified infant formulas on microbiota composition and dynamics in early life. *Sci Rep* 9, 1–13. doi:10.1038/s41598-018-38268-x.
- Bosi, P., Merialdi, G., Scandurra, S., Messori, S., Bardasi, L., Nisi, I., et al. (2011). Feed supplemented with 3 different antibiotics improved food intake and decreased the activation of the humoral immune response in healthy weaned pigs but had differing effects on intestinal microbiota. *J Anim Sci* 89, 4043–4053. doi:10.2527/jas.2010-3311.
- Boskey, E. R., Cone, R. A., Whaley, K. J., and Moench, T. R. (2001). Origins of vaginal acidity: high D/L lactate ratio is consistent with bacteria being the primary source. *Hum. Reprod.* 16, 1809–1813. doi:10.1093/humrep/16.9.1809.
- Bouret, S. G. (2017a). “Development of Hypothalamic Circuits That Control Food Intake and Energy Balance,” in *Appetite and Food Intake: Central Control*, ed. R. B. S. Harris (Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis). Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK453139/> [Accessed August 7, 2019].

- Bouret, S. G. (2017b). “Development of Hypothalamic Circuits That Control Food Intake and Energy Balance,” in *Appetite and Food Intake: Central Control*, ed. R. B. S. Harris (Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis). Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK453139/> [Accessed August 27, 2019].
- Bouret, S. G., Bates, S. H., Chen, S., Myers, M. G., and Simerly, R. B. (2012). Distinct Roles for Specific Leptin Receptor Signals in the Development of Hypothalamic Feeding Circuits. *J Neurosci* 32, 1244–1252. doi:10.1523/JNEUROSCI.2277-11.2012.
- Bouret, S. G., Draper, S. J., and Simerly, R. B. (2004a). Formation of Projection Pathways from the Arcuate Nucleus of the Hypothalamus to Hypothalamic Regions Implicated in the Neural Control of Feeding Behavior in Mice. *J. Neurosci.* 24, 2797–2805. doi:10.1523/JNEUROSCI.5369-03.2004.
- Bouret, S. G., Draper, S. J., and Simerly, R. B. (2004b). Trophic action of leptin on hypothalamic neurons that regulate feeding. *Science* 304, 108–110. doi:10.1126/science.1095004.
- Bouter, K., Bakker, G., Levin, E., Hartstra, A., Kootte, R., Udayappan, S., et al. (2018). Differential metabolic effects of oral butyrate treatment in lean versus metabolic syndrome subjects. *Clin Transl Gastroenterol* 9. doi:10.1038/s41424-018-0025-4.
- Bouyer, K., and Simerly, R. B. (2013). Neonatal Leptin Exposure Specifies Innervation of Presympathetic Hypothalamic Neurons and Improves the Metabolic Status of Leptin-Deficient Mice. *J Neurosci* 33, 840–851. doi:10.1523/JNEUROSCI.3215-12.2013.
- Bowcutt, R., Forman, R., Glymenaki, M., Carding, S. R., Else, K. J., and Cruickshank, S. M. (2014). Heterogeneity across the murine small and large intestine. *World J Gastroenterol* 20, 15216–15232. doi:10.3748/wjg.v20.i41.15216.
- Boyle, C. N., Lutz, T. A., and Le Foll, C. (2018). Amylin – Its role in the homeostatic and hedonic control of eating and recent developments of amylin analogs to treat obesity. *Molecular Metabolism* 8, 203–210. doi:10.1016/j.molmet.2017.11.009.
- Braniste, V., Al-Asmakh, M., Kowal, C., Anuar, F., Abbaspour, A., Tóth, M., et al. (2014). The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Sci Transl Med* 6, 263ra158. doi:10.1126/scitranslmed.3009759.
- Bravo, J. A., Forsythe, P., Chew, M. V., Escaravage, E., Savignac, H. M., Dinan, T. G., et al. (2011). Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108, 16050–16055. doi:10.1073/pnas.1102999108.
- Breton, J., Legrand, R., Akkermann, K., Järv, A., Harro, J., Déchelotte, P., et al. (2016a). Elevated plasma concentrations of bacterial ClpB protein in patients with eating disorders. *International Journal of Eating Disorders*. doi:10.1002/eat.22531.
- Breton, J., Tennaoune, N., Lucas, N., Francois, M., Legrand, R., Jacquemot, J., et al. (2016b). Gut Commensal E. coli Proteins Activate Host Satiety Pathways following Nutrient-Induced Bacterial Growth. *Cell Metabolism* 23, 324–334. doi:10.1016/j.cmet.2015.10.017.
- Brezun, J. M., and Daszuta, A. (1999). Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats. *Neuroscience* 89, 999–1002. doi:10.1016/S0306-4522(98)00693-9.
- Brial, F., Le Lay, A., Dumas, M.-E., and Gauguier, D. (2018). Implication of gut microbiota metabolites in cardiovascular and metabolic diseases. *Cell. Mol. Life Sci.* 75, 3977–3990. doi:10.1007/s00018-018-2901-1.
- Bridgman, S. L., Azad, M. B., Field, C. J., Haqq, A. M., Becker, A. B., Mandhane, P. J., et al. (2017). Fecal Short-Chain Fatty Acid Variations by Breastfeeding Status in Infants at 4 Months: Differences in Relative versus Absolute Concentrations. *Front Nutr* 4. doi:10.3389/fnut.2017.00011.

- Brischoux, F., Fellmann, D., and Risold, P. Y. (2001). Ontogenetic development of the diencephalic MCH neurons: a hypothalamic ‘MCH area’ hypothesis. *European Journal of Neuroscience* 13, 1733–1744. doi:10.1046/j.0953-816x.2001.01552.x.
- Brobeck, J. R. (1946). MECHANISM OF THE DEVELOPMENT OF OBESITY IN ANIMALS WITH HYPOTHALAMIC LESIONS. *Physiological Reviews*. doi:10.1152/physrev.1946.26.4.541.
- Bronstein, D. M., Schafer, M. K., Watson, S. J., and Akil, H. (1992). Evidence that beta-endorphin is synthesized in cells in the nucleus tractus solitarius: detection of POMC mRNA. *Brain Res.* 587, 269–275. doi:10.1016/0006-8993(92)91007-2.
- Browne, H. P., Neville, B. A., Forster, S. C., and Lawley, T. D. (2017). Transmission of the gut microbiota: spreading of health. *Nat Rev Microbiol* 15, 531–543. doi:10.1038/nrmicro.2017.50.
- Bruce-Keller, A. J., Fernandez-Kim, S.-O., Townsend, R. L., Kruger, C., Carmouche, R., Newman, S., et al. (2017). Maternal obese-type gut microbiota differentially impact cognition, anxiety and compulsive behavior in male and female offspring in mice. *PLoS ONE* 12, e0175577. doi:10.1371/journal.pone.0175577.
- Brunner, S., Schmid, D., Zang, K., Much, D., Knoefler, B., Kratzsch, J., et al. (2015). Breast milk leptin and adiponectin in relation to infant body composition up to 2 years. *Pediatr Obes* 10, 67–73. doi:10.1111/j.2047-6310.2014.222.x.
- Buchberger, P., and Schmidt, I. (1996). Is the onset of obesity in suckling fa/fa rats linked to a potentially larger milk intake? *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 271, R472–R476. doi:10.1152/ajpregu.1996.271.2.R472.
- Buffa, R., Polak, J. M., Pearce, A. G. E., Solcia, E., Grimelius, L., and Capella, C. (1975). Identification of the intestinal cell storing gastric inhibitory peptide. *HISTOCHEMISTRY* 43, 249–255. doi:10.1007/BF00499706.
- Buffington, S. A., Di Prisco, G. V., Auchtung, T. A., Ajami, N. J., Petrosino, J. F., and Costa-Mattioli, M. (2016). Microbial Reconstitution Reverses Maternal Diet-Induced Social and Synaptic Deficits in Offspring. *Cell* 165, 1762–1775. doi:10.1016/j.cell.2016.06.001.
- Burdyga, G., Spiller, D., Morris, R., Lal, S., Thompson, D. G., Saeed, S., et al. (2002). Expression of the leptin receptor in rat and human nodose ganglion neurones. *Neuroscience* 109, 339–347. doi:10.1016/S0306-4522(01)00474-2.
- Butel, M.-J., Lepage, P., and Collignon, A. (2017). “Établissement du microbiote: de la période in utero aux premières années de la vie,” in *Le microbiote intestinal : un organe à part entière* (France: Maud Thévenin), 25–34.
- Buyse, M., Ovesjö, M.-L., Goïot, H., Guilmeau, S., Péranzi, G., Moizo, L., et al. (2001). Expression and regulation of leptin receptor proteins in afferent and efferent neurons of the vagus nerve. *European Journal of Neuroscience* 14, 64–72. doi:10.1046/j.0953-816x.2001.01628.x.
- Byrne, C. S., Chambers, E. S., Alhabeeb, H., Chhina, N., Morrison, D. J., Preston, T., et al. (2016). Increased colonic propionate reduces anticipatory reward responses in the human striatum to high-energy foods. *Am. J. Clin. Nutr.* 104, 5–14. doi:10.3945/ajcn.115.126706.

- C -

- Caballero, S., and Pamer, E. G. (2015). Microbiota-mediated inflammation and antimicrobial defense in the intestine. *Annu. Rev. Immunol.* 33, 227–256. doi:10.1146/annurev-immunol-032713-120238.
- Cabrera-Rubio, R., Collado, M. C., Laitinen, K., Salminen, S., Isolauri, E., and Mira, A. (2012). The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am. J. Clin. Nutr.* 96, 544–551. doi:10.3945/ajcn.112.037382.
- Cabrera-Rubio, R., Mira-Pascual, L., Mira, A., and Collado, M. C. (2016). Impact of mode of delivery on the milk microbiota composition of healthy women. *J Dev Orig Health Dis* 7, 54–60. doi:10.1017/S2040174415001397.
- Campos, A. C., Rocha, N. P., Nicoli, J. R., Vieira, L. Q., Teixeira, M. M., and Teixeira, A. L. (2016a). Absence of gut microbiota influences lipopolysaccharide-induced behavioral changes in mice. *Behavioural Brain Research* 312, 186–194. doi:10.1016/j.bbr.2016.06.027.
- Campos, C. A., Bowen, A. J., Schwartz, M. W., and Palmiter, R. D. (2016b). Parabrachial CGRP Neurons Control Meal Termination. *Cell Metab.* 23, 811–820. doi:10.1016/j.cmet.2016.04.006.
- Cani, P. D., Amar, J., Iglesias, M. A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., et al. (2007a). Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes* 56, 1761–1772. doi:10.2337/db06-1491.
- Cani, P. D., Bibiloni, R., Knauf, C., Waget, A., Neyrinck, A. M., Delzenne, N. M., et al. (2008). Changes in Gut Microbiota Control Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes in Mice. *Diabetes* 57, 1470–1481. doi:10.2337/db07-1403.
- Cani, P. D., Dewever, C., and Delzenne, N. M. (2004). Inulin-type fructans modulate gastrointestinal peptides involved in appetite regulation (glucagon-like peptide-1 and ghrelin) in rats. *Br. J. Nutr.* 92, 521–526. doi:10.1079/bjn20041225.
- Cani, P. D., Hoste, S., Guiot, Y., and Delzenne, N. M. (2007b). Dietary non-digestible carbohydrates promote L-cell differentiation in the proximal colon of rats. *Br. J. Nutr.* 98, 32–37. doi:10.1017/S0007114507691648.
- Cani, P. D., Lecourt, E., Dewulf, E. M., Sohet, F. M., Pachikian, B. D., Naslain, D., et al. (2009). Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. *Am. J. Clin. Nutr.* 90, 1236–1243. doi:10.3945/ajcn.2009.28095.
- Cani, P. D., Neyrinck, A. M., Fava, F., Knauf, C., Burcelin, R. G., Tuohy, K. M., et al. (2007c). Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia* 50, 2374–2383. doi:10.1007/s00125-007-0791-0.
- Capuano, C. A., Leibowitz, S. F., and Barr, G. A. (1993). Effect of paraventricular injection of neuropeptide Y on milk and water intake of preweanling rats. *Neuropeptides* 24, 177–182. doi:10.1016/0143-4179(93)90083-m.
- Carbonero, F., Benefiel, A. C., Alizadeh-Ghamsari, A. H., and Gaskins, H. R. (2012). Microbial pathways in colonic sulfur metabolism and links with health and disease. *Front Physiol* 3. doi:10.3389/fphys.2012.00448.
- Caron, E., Sachot, C., Prevot, V., and Bouret, S. G. (2010). Distribution of leptin-sensitive cells in the postnatal and adult mouse brain. *J. Comp. Neurol.* 518, 459–476. doi:10.1002/cne.22219.

- Carter, M. E., Han, S., and Palmiter, R. D. (2015). Parabrachial calcitonin gene-related peptide neurons mediate conditioned taste aversion. *J. Neurosci.* 35, 4582–4586. doi:10.1523/JNEUROSCI.3729-14.2015.
- Carter, M. E., Soden, M. E., Zweifel, L. S., and Palmiter, R. D. (2013). Genetic identification of a neural circuit that suppresses appetite. *Nature* 503, 111–114. doi:10.1038/nature12596.
- Cash, H. L., Whitham, C. V., Behrendt, C. L., and Hooper, L. V. (2006). Symbiotic bacteria direct expression of an intestinal bactericidal lectin. *Science* 313, 1126–1130. doi:10.1126/science.1127119.
- Cassard, A.-M., and Thomas, M. (2017). Les microbiotes humains : des alliés pour notre santé. *Encyclopédie de l'environnement*. Available at: <https://www.encyclopedie-environnement.org/sante/les-microbiotes-humains-des-allies-pour-notre-sante/> [Accessed September 25, 2019].
- Cassidy, R. M., and Tong, Q. (2017). Hunger and Satiety Gauge Reward Sensitivity. *Front Endocrinol (Lausanne)* 8, 104. doi:10.3389/fendo.2017.00104.
- Castillo, M. (2010). Weaner diets: Prebiotics or probiotics? *PigProgress*. Available at: <https://www.pigprogress.net/Breeding/Piglet-Feeding/2010/3/Weaner-diets-Prebiotics-or-probiotics-PP005996W/> [Accessed January 20, 2020].
- Castro, D. C., and Berridge, K. C. (2014). Opioid Hedonic Hotspot in Nucleus Accumbens Shell: Mu, Delta, and Kappa Maps for Enhancement of Sweetness “Liking” and “Wanting.” *J Neurosci* 34, 4239–4250. doi:10.1523/JNEUROSCI.4458-13.2014.
- Chagnon, Y. C., Chen, W. J., Pérusse, L., Chagnon, M., Nadeau, A., Wilkison, W. O., et al. (1997). Linkage and association studies between the melanocortin receptors 4 and 5 genes and obesity-related phenotypes in the Québec Family Study. *Mol. Med.* 3, 663–673.
- Chambers, E. S., Viardot, A., Psichas, A., Morrison, D. J., Murphy, K. G., Zac-Varghese, S. E. K., et al. (2015). Effects of targeted delivery of propionate to the human colon on appetite regulation, body weight maintenance and adiposity in overweight adults. *Gut* 64, 1744–1754. doi:10.1136/gutjnl-2014-307913.
- Chang, G.-Q., Gaysinskaya, V., Karatayev, O., and Leibowitz, S. F. (2008). Maternal high-fat diet and fetal programming: increased proliferation of hypothalamic peptide-producing neurons that increase risk for overeating and obesity. *J. Neurosci.* 28, 12107–12119. doi:10.1523/JNEUROSCI.2642-08.2008.
- Chanoine, J.-P., and Wong, A. C. K. (2004). Ghrelin gene expression is markedly higher in fetal pancreas compared with fetal stomach: effect of maternal fasting. *Endocrinology* 145, 3813–3820. doi:10.1210/en.2004-0053.
- Chaudhri, O., Small, C., and Bloom, S. (2006). Gastrointestinal hormones regulating appetite. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361, 1187–1209. doi:10.1098/rstb.2006.1856.
- Chelakkot, C., Ghim, J., and Ryu, S. H. (2018). Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. *Exp Mol Med* 50, 1–9. doi:10.1038/s12276-018-0126-x.
- Chen, Y., Lin, Y.-C., Kuo, T.-W., and Knight, Z. A. (2015). Sensory detection of food rapidly modulates arcuate feeding circuits. *Cell* 160, 829–841. doi:10.1016/j.cell.2015.01.033.
- Cho, I., Yamanishi, S., Cox, L., Methé, B. A., Zavadil, J., Li, K., et al. (2012). Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature* 488, 621–626. doi:10.1038/nature11400.
- Chowdhury, S. R., King, D. E., Willing, B. P., Band, M. R., Beever, J. E., Lane, A. B., et al. (2007). Transcriptome profiling of the small intestinal epithelium in germfree versus conventional piglets. *BMC Genomics* 8, 215. doi:10.1186/1471-2164-8-215.

- Christensen, H. R., Frøkiær, H., and Pestka, J. J. (2002). Lactobacilli Differentially Modulate Expression of Cytokines and Maturation Surface Markers in Murine Dendritic Cells. *The Journal of Immunology* 168, 171–178. doi:10.4049/jimmunol.168.1.171.
- Chu, D. M., Ma, J., Prince, A. L., Antony, K. M., Seferovic, M. D., and Aagaard, K. M. (2017). Maturation of the Infant Microbiome Community Structure and Function Across Multiple Body Sites and in Relation to Mode of Delivery. *Nat Med* 23, 314–326. doi:10.1038/nm.4272.
- Chung, S.-Y., Ravel, J., and Regan, M. (2018). Clinical Relevance of Gastrointestinal Microbiota During Pregnancy: A Primer for Nurses. *Biol Res Nurs* 20, 84–102. doi:10.1177/1099800417732412.
- Clark, J. T., Kalra, P. S., Crowley, W. R., and Kalra, S. P. (1984). NEUROPEPTIDE Y AND HUMAN PANCREATIC POLYPEPTIDE STIMULATE FEEDING BEHAVIOR IN RATS. *Endocrinology* 115, 427–429. doi:10.1210/endo-115-1-427.
- Clarke, G., Grenham, S., Scully, P., Fitzgerald, P., Moloney, R. D., Shanahan, F., et al. (2013a). The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Mol Psychiatry* 18, 666–673. doi:10.1038/mp.2012.77.
- Clarke, G., Grenham, S., Scully, P., Fitzgerald, P., Moloney, R. D., Shanahan, F., et al. (2013b). The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Mol. Psychiatry* 18, 666–673. doi:10.1038/mp.2012.77.
- Clarke, S. F., Murphy, E. F., O’Sullivan, O., Ross, R. P., O’Toole, P. W., Shanahan, F., et al. (2013c). Targeting the Microbiota to Address Diet-Induced Obesity: A Time Dependent Challenge. *PLoS One* 8. doi:10.1371/journal.pone.0065790.
- Clément, Y., Le Guisquet, A.-M., Venault, P., Chapouthier, G., and Belzung, C. (2009). Pharmacological Alterations of Anxious Behaviour in Mice Depending on Both Strain and the Behavioural Situation. *PLoS ONE* 4, e7745. doi:10.1371/journal.pone.0007745.
- Codagnone, M. G., Stanton, C., O’Mahony, S. M., Dinan, T. G., and Cryan, J. F. (2019). Microbiota and Neurodevelopmental Trajectories: Role of Maternal and Early-Life Nutrition. *ANM* 74, 16–27. doi:10.1159/000499144.
- Collado, M. C., Delgado, S., Maldonado, A., and Rodríguez, J. M. (2009). Assessment of the bacterial diversity of breast milk of healthy women by quantitative real-time PCR. *Lett. Appl. Microbiol.* 48, 523–528. doi:10.1111/j.1472-765X.2009.02567.x.
- Collado, M. C., Isolauri, E., Laitinen, K., and Salminen, S. (2008). Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *Am J Clin Nutr* 88, 894–899. doi:10.1093/ajcn/88.4.894.
- Collignon, A., Lepage, P., and Butel, M.-J. (2017). “Evolution du microbiote intestinal jusqu’à la sénescence,” in *Le microbiote intestinal : un organe à part entière* (France: Maud Thévenin), 35–43.
- Collins, S. L., McMillan, A., Seney, S., van der Veer, C., Kort, R., Sumarah, M. W., et al. (2018). Promising Prebiotic Candidate Established by Evaluation of Lactitol, Lactulose, Raffinose, and Oligofructose for Maintenance of a Lactobacillus-Dominated Vaginal Microbiota. *Appl. Environ. Microbiol.* 84. doi:10.1128/AEM.02200-17.
- Cone, R. D. (2006). Studies on the physiological functions of the melanocortin system. *Endocr. Rev.* 27, 736–749. doi:10.1210/er.2006-0034.
- Costa, M. B., and Melnik, T. (2016). Effectiveness of psychosocial interventions in eating disorders: an overview of Cochrane systematic reviews. *Einstein (Sao Paulo)* 14, 235–277. doi:10.1590/S1679-45082016RW3120.

- Costello, E. K., Lauber, C. L., Hamady, M., Fierer, N., Gordon, J. I., and Knight, R. (2009). Bacterial Community Variation in Human Body Habitats Across Space and Time. *Science* 326, 1694–1697. doi:10.1126/science.1177486.
- Cottrell, E. C., Cripps, R. L., Duncan, J. S., Barrett, P., Mercer, J. G., Herwig, A., et al. (2009). Developmental changes in hypothalamic leptin receptor: relationship with the postnatal leptin surge and energy balance neuropeptides in the postnatal rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 296, R631–R639. doi:10.1152/ajpregu.90690.2008.
- Coupé, B., Amarger, V., Grit, I., Benani, A., and Parnet, P. (2010). Nutritional programming affects hypothalamic organization and early response to leptin. *Endocrinology* 151, 702–713. doi:10.1210/en.2009-0893.
- Cowan, C. S. M., Stylianakis, A. A., and Richardson, R. (2019). Early-life stress, microbiota, and brain development: probiotics reverse the effects of maternal separation on neural circuits underpinning fear expression and extinction in infant rats. *Developmental Cognitive Neuroscience* 37, 100627. doi:10.1016/j.dcn.2019.100627.
- Cowley, M. A., Smart, J. L., Rubinstein, M., Cerdán, M. G., Diano, S., Horvath, T. L., et al. (2001). Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature* 411, 480–484. doi:10.1038/35078085.
- Cox, M. J., Huang, Y. J., Fujimura, K. E., Liu, J. T., McKean, M., Boushey, H. A., et al. (2010). Lactobacillus casei Abundance Is Associated with Profound Shifts in the Infant Gut Microbiome. *PLOS ONE* 5, e8745. doi:10.1371/journal.pone.0008745.
- Cremer, J., Segota, I., Yang, C., Arnoldini, M., Sauls, J. T., Zhang, Z., et al. (2016). Effect of flow and peristaltic mixing on bacterial growth in a gut-like channel. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113, 11414–11419. doi:10.1073/pnas.1601306113.
- Crowell, M. D., Murphy, T. B., Levy, R. L., Langer, S. L., Kunin-Batson, A., Seburg, E. M., et al. (2015). Eating behaviors and quality of life in preadolescents at risk for obesity with and without abdominal pain. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 60, 217–223. doi:10.1097/MPG.0000000000000585.
- Crumeyrolle-Arias, M., Jaglin, M., Bruneau, A., Vancassel, S., Cardona, A., Daugé, V., et al. (2014). Absence of the gut microbiota enhances anxiety-like behavior and neuroendocrine response to acute stress in rats. *Psychoneuroendocrinology* 42, 207–217. doi:10.1016/j.psyneuen.2014.01.014.
- Cummings, J. H., Pomare, E. W., Branch, W. J., Naylor, C. P., and Macfarlane, G. T. (1987). Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut* 28, 1221–1227. doi:10.1136/gut.28.10.1221.

- D -

- D'Agostino, G., Lyons, D., Cristiano, C., Lettieri, M., Olarte-Sanchez, C., Burke, L. K., et al. (2018). Nucleus of the Solitary Tract Serotonin 5-HT_{2C} Receptors Modulate Food Intake. *Cell Metabolism* 28, 619. doi:10.1016/j.cmet.2018.07.017.
- Date, Y., Kojima, M., Hosoda, H., Sawaguchi, A., Mondal, M. S., Suganuma, T., et al. (2000). Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 141, 4255–4261. doi:10.1210/endo.141.11.7757.
- Date, Y., Shimbara, T., Koda, S., Toshinai, K., Ida, T., Murakami, N., et al. (2006). Peripheral ghrelin transmits orexigenic signals through the noradrenergic pathway from the hindbrain to the hypothalamus. *Cell Metabolism* 4, 323–331. doi:10.1016/j.cmet.2006.09.004.

- De Felipe, J., Marco, P., Fairén, A., and Jones, E. G. (1997). Inhibitory synaptogenesis in mouse somatosensory cortex. *Cereb. Cortex* 7, 619–634. doi:10.1093/cercor/7.7.619.
- de Magistris, L., Familiari, V., Pascotto, A., Sapone, A., Froli, A., Iardino, P., et al. (2010). Alterations of the intestinal barrier in patients with autism spectrum disorders and in their first-degree relatives. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 51, 418–424. doi:10.1097/MPG.0b013e3181dcc4a5.
- de Moreno de LeBlanc, A., Dogi, C. A., Galdeano, C. M., Carmuega, E., Weill, R., and Perdigón, G. (2008). Effect of the administration of a fermented milk containing *Lactobacillus casei* DN-114001 on intestinal microbiota and gut associated immune cells of nursing mice and after weaning until immune maturity. *BMC Immunology* 9, 27. doi:10.1186/1471-2172-9-27.
- De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., Goncalves, D., Vinera, J., Zitoun, C., Duchampt, A., et al. (2014). Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell* 156, 84–96. doi:10.1016/j.cell.2013.12.016.
- De Vadder, F., Plessier, F., Gautier-Stein, A., and Mithieux, G. (2015). Vasoactive intestinal peptide is a local mediator in a gut-brain neural axis activating intestinal gluconeogenesis. *Neurogastroenterol. Motil.* 27, 443–448. doi:10.1111/nmo.12508.
- de Vos, W. M., Engstrand, L., Drago, L., Reid, G., Schaubert, J., Hay, R., et al. (2012). Human microbiota in health and disease. *SelfCare* 3, 1–68.
- Dearden, L., and Ozanne, S. E. (2015). Early life origins of metabolic disease: Developmental programming of hypothalamic pathways controlling energy homeostasis. *Front Neuroendocrinol* 39, 3–16. doi:10.1016/j.yfrne.2015.08.001.
- Del Fiol, F. S., Balcão, V. M., Barberato-Fillho, S., Lopes, L. C., and Bergamaschi, C. C. (2018). Obesity: A New Adverse Effect of Antibiotics? *Front. Pharmacol.* 9. doi:10.3389/fphar.2018.01408.
- Delgado, J. M. R., and Anand, B. K. (1952). Increase of Food Intake Induced by Electrical Stimulation of the Lateral Hypothalamus. *American Journal of Physiology-Legacy Content* 172, 162–168. doi:10.1152/ajplegacy.1952.172.1.162.
- Delgado, S., Arroyo, R., Martín, R., and Rodríguez, J. M. (2008). PCR-DGGE assessment of the bacterial diversity of breast milk in women with lactational infectious mastitis. *BMC Infect. Dis.* 8, 51. doi:10.1186/1471-2334-8-51.
- Delzenne, N. M., Cani, P. D., and Neyrinck, A. M. (2007). Modulation of Glucagon-like Peptide 1 and Energy Metabolism by Inulin and Oligofructose: Experimental Data. *J Nutr* 137, 2547S–2551S. doi:10.1093/jn/137.11.2547S.
- Derrien, M., Alvarez, A.-S., and de Vos, W. M. (2019). The Gut Microbiota in the First Decade of Life. *Trends in Microbiology*. doi:10.1016/j.tim.2019.08.001.
- Desai, M., Li, T., and Ross, M. G. (2011). Hypothalamic Neurosphere Progenitor Cells in Low Birth-Weight Rat Newborns: Neurotrophic Effects of Leptin and Insulin. *Brain Res* 1378, 29–42. doi:10.1016/j.brainres.2010.12.080.
- Desai, M. S., Seekatz, A. M., Koropatkin, N. M., Kamada, N., Hickey, C. A., Wolter, M., et al. (2016). A dietary fiber-deprived gut microbiota degrades the colonic mucus barrier and enhances pathogen susceptibility. *Cell* 167, 1339–1353.e21. doi:10.1016/j.cell.2016.10.043.
- Desbonnet, L., Clarke, G., Shanahan, F., Dinan, T. G., and Cryan, J. F. (2014). Microbiota is essential for social development in the mouse. *Mol Psychiatry* 19, 146–148. doi:10.1038/mp.2013.65.
- Desbonnet, L., Garrett, L., Clarke, G., Bienenstock, J., and Dinan, T. G. (2008). The probiotic *Bifidobacteria infantis*: An assessment of potential antidepressant properties in the rat. *J Psychiatr Res* 43, 164–174. doi:10.1016/j.jpsychires.2008.03.009.

- Deshmukh, H. S., Liu, Y., Menkiti, O. R., Mei, J., Dai, N., O’Leary, C. E., et al. (2014). The microbiota regulates neutrophil homeostasis and host resistance to *Escherichia coli* K1 sepsis in neonatal mice. *Nat. Med.* 20, 524–530. doi:10.1038/nm.3542.
- Desoye, G., Gauster, M., and Wadsack, C. (2011). Placental transport in pregnancy pathologies. *Am. J. Clin. Nutr.* 94, 1896S–1902S. doi:10.3945/ajcn.110.000851.
- Devaskar, S. U., Ollesch, C., Rajakumar, R. A., and Rajakumar, P. A. (1997). Developmental changes in ob gene expression and circulating leptin peptide concentrations. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 238, 44–47. doi:10.1006/bbrc.1997.7237.
- Di Girolamo, G., Valente, S., Cerrato, F., Scudellari, P., Atti, A. R., and De Ronchi, D. (2017). Sex-specific issues in eating disorders: A clinical and psychopathological investigation. *European Psychiatry* 41, S548–S549. doi:10.1016/j.eurpsy.2017.01.774.
- Di Mauro, A., Neu, J., Riezzo, G., Raimondi, F., Martinelli, D., Francavilla, R., et al. (2013). Gastrointestinal function development and microbiota. *Ital J Pediatr* 39, 15. doi:10.1186/1824-7288-39-15.
- Dickson, S. L., Shirazi, R. H., Hansson, C., Bergquist, F., Nissbrandt, H., and Skibicka, K. P. (2012). The Glucagon-Like Peptide 1 (GLP-1) Analogue, Exendin-4, Decreases the Rewarding Value of Food: A New Role for Mesolimbic GLP-1 Receptors. *J Neurosci* 32, 4812–4820. doi:10.1523/JNEUROSCI.6326-11.2012.
- DiGiulio, D. B., Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Costello, E. K., Lyell, D. J., Robaczewska, A., et al. (2015). Temporal and spatial variation of the human microbiota during pregnancy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112, 11060–11065. doi:10.1073/pnas.1502875112.
- Doetsch, F. (2003). The glial identity of neural stem cells. *Nat Neurosci* 6, 1127–1134. doi:10.1038/nn1144.
- Dolatkhah, N., Hajifaraji, M., Abbasalizadeh, F., Aghamohammadzadeh, N., Mehrabi, Y., and Mesgari Abbasi, M. (2015). Is there a value for probiotic supplements in gestational diabetes mellitus? A randomized clinical trial. *Journal of Health, Population and Nutrition* 33, 25. doi:10.1186/s41043-015-0034-9.
- Dominguez-Bello, M. G., De Jesus-Laboy, K. M., Shen, N., Cox, L. M., Amir, A., Gonzalez, A., et al. (2016). Partial restoration of the microbiota of cesarean-born infants via vaginal microbial transfer. *Nat. Med.* 22, 250–253. doi:10.1038/nm.4039.
- Dominguez-Bello, M. G., Godoy-Vitorino, F., Knight, R., and Blaser, M. J. (2019). Role of the microbiome in human development. *Gut* 68, 1108–1114. doi:10.1136/gutjnl-2018-317503.
- Dominique, M., Boulete, I., Bole-Feysot, C., Leon, F., Do Rego, J.-C., Fetisso, S. O., et al. (2019). Rôle de la protéine bactérienne ClpB et d’un de ses fragments peptidiques dans la régulation de la prise alimentaire. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 33, 23–24. doi:10.1016/j.nupar.2019.01.258.
- Donaldson, G. P., Ladinsky, M. S., Yu, K. B., Sanders, J. G., Yoo, B. B., Chou, W.-C., et al. (2018). Gut microbiota utilize immunoglobulin A for mucosal colonization. *Science* 360, 795–800. doi:10.1126/science.aag0926.
- Donohoe, D. R., Garge, N., Zhang, X., Sun, W., O’Connell, T. M., Bunger, M. K., et al. (2011). The Microbiome and Butyrate Regulate Energy Metabolism and Autophagy in the Mammalian Colon. *Cell Metab* 13, 517–526. doi:10.1016/j.cmet.2011.02.018.
- Dooley, A. E., Pappas, I. S., and Parnavelas, J. G. (1997). Serotonin promotes the survival of cortical glutamatergic neurons in vitro. *Exp. Neurol.* 148, 205–214. doi:10.1006/exnr.1997.6633.
- Doré, J., Multon, M.-C., Béhier, J.-M., Affagard, H., Andremont, A., Barthélémy, P., et al. (2017a). Microbiote intestinale : qu’en attendre au plan physiologique et thérapeutique ? *Thérapies* 72, 1–19. doi:10.1016/j.therap.2017.01.001.

- Doré, J., Tap, J., and Ehrlich, S. D. (2017b). “Analyse et composition du microbiote : Techniques d’identification et d’exploration du microbiote,” in *Le microbiote intestinal : un organe à part entière* (France: Maud Thévenin), 3–12.
- Doré, J., Tap, J., and Ehrlich, S. D. (2017c). “Composition du microbiote intestinal,” in *Le microbiote intestinal : un organe à part entière* (France: Maud Thévenin), 3–12.
- Douglass, A. M., Kucukdereli, H., Ponsere, M., Markovic, M., Gründemann, J., Strobel, C., et al. (2017). Central amygdala circuits modulate food consumption through a positive-valence mechanism. *Nature Neuroscience* 20, 1384–1394. doi:10.1038/nn.4623.
- Drell, T., Štšepetova, J., Simm, J., Rull, K., Aleksejeva, A., Antson, A., et al. (2017). The Influence of Different Maternal Microbial Communities on the Development of Infant Gut and Oral Microbiota. *Sci Rep* 7. doi:10.1038/s41598-017-09278-y.
- Dubos, R. (1966). The microbiota of the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 51, 868–874.
- Dumont, Y., Fournier, A., St-Pierre, S., and Quirion, R. (1995). Characterization of neuropeptide Y binding sites in rat brain membrane preparations using [125I][Leu31,Pro34]peptide YY and [125I]peptide YY3-36 as selective Y1 and Y2 radioligands. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 272, 673–680.
- Dunn, A. B., Jordan, S., Baker, B. J., and Carlson, N. S. (2017). The Maternal Infant Microbiome: Considerations for Labor and Birth. *MCN Am J Matern Child Nurs* 42, 318–325. doi:10.1097/NMC.0000000000000373.
- Dunn, G. A., and Bale, T. L. (2009). Maternal High-Fat Diet Promotes Body Length Increases and Insulin Insensitivity in Second-Generation Mice. *Endocrinology* 150, 4999–5009. doi:10.1210/en.2009-0500.
- Dunn, G. A., and Bale, T. L. (2011). Maternal High-Fat Diet Effects on Third-Generation Female Body Size via the Paternal Lineage. *Endocrinology* 152, 2228–2236. doi:10.1210/en.2010-1461.

- E -

- Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., et al. (2005). Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora. *Science* 308, 1635–1638. doi:10.1126/science.1110591.
- Elson, A. E. T., and Simerly, R. B. (2015). Developmental Specification of Metabolic Circuitry. *Front Neuroendocrinol* 39, 38–51. doi:10.1016/j.yfrne.2015.09.003.
- Engelstoft, M. S., Egerod, K. L., Lund, M. L., and Schwartz, T. W. (2013). Enteroendocrine cell types revisited. *Current Opinion in Pharmacology* 13, 912–921. doi:10.1016/j.coph.2013.09.018.
- Erny, D., Angelis, A. L. H. de, Jaitin, D., Wieghofer, P., Staszewski, O., David, E., et al. (2015a). Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nature Neuroscience* 18, 965–977. doi:10.1038/nn.4030.
- Erny, D., Hrabě de Angelis, A. L., Jaitin, D., Wieghofer, P., Staszewski, O., David, E., et al. (2015b). Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nat. Neurosci.* 18, 965–977. doi:10.1038/nn.4030.
- Espey, M. G. (2013). Role of oxygen gradients in shaping redox relationships between the human intestine and its microbiota. *Free Radic. Biol. Med.* 55, 130–140. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2012.10.554.
- Everard, A., and Cani, P. D. (2014). Gut microbiota and GLP-1. *Rev Endocr Metab Disord* 15, 189–196. doi:10.1007/s11154-014-9288-6.
- Everard, A., and Cani, P. D. (2017). “Syndrome métabolique/diabète,” in *Le microbiote intestinal : un organe à part entière* (France: Maud Thévenin), 189–199.

Everard, A., Lazarevic, V., Derrien, M., Girard, M., Muccioli, G. M., Neyrinck, A. M., et al. (2011). Responses of Gut Microbiota and Glucose and Lipid Metabolism to Prebiotics in Genetic Obese and Diet-Induced Leptin-Resistant Mice. *Diabetes* 60, 2775–2786. doi:10.2337/db11-0227.

- F -

- Fahrenkrog, S., Harder, T., Stolaczyk, E., Melchior, K., Franke, K., Dudenhausen, J. W., et al. (2004). Cross-fostering to diabetic rat dams affects early development of mediobasal hypothalamic nuclei regulating food intake, body weight, and metabolism. *J. Nutr.* 134, 648–654. doi:10.1093/jn/134.3.648.
- Fan, P., Bian, B., Teng, L., Nelson, C. D., Driver, J., Elzo, M. A., et al. (2020). Host genetic effects upon the early gut microbiota in a bovine model with graduated spectrum of genetic variation. *ISME J* 14, 302–317. doi:10.1038/s41396-019-0529-2.
- Fan, W., Boston, B. A., Kesterson, R. A., Hruby, V. J., and Cone, R. D. (1997). Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. *Nature* 385, 165–168. doi:10.1038/385165a0.
- Fança-Berthon, P., Hoebler, C., Mouzet, E., David, A., and Michel, C. (2010). Intrauterine Growth Restriction Not Only Modifies the Cecocolonic Microbiota in Neonatal Rats But Also Affects Its Activity in Young Adult Rats: *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 51, 402–413. doi:10.1097/MPG.0b013e3181d75d52.
- Farkas, K., Yeruva, S., Rakonczay, Z., Ludolph, L., Molnár, T., Nagy, F., et al. (2011). New therapeutic targets in ulcerative colitis: the importance of ion transporters in the human colon. *Inflamm. Bowel Dis.* 17, 884–898. doi:10.1002/ibd.21432.
- Fernandes-Santos, C., Zhang, Z., Morgan, D. A., Guo, D.-F., Russo, A. F., and Rahmouni, K. (2013). Amylin acts in the central nervous system to increase sympathetic nerve activity. *Endocrinology* 154, 2481–2488. doi:10.1210/en.2012-2172.
- Fernández, L., Langa, S., Martín, V., Maldonado, A., Jiménez, E., Martín, R., et al. (2013). The human milk microbiota: Origin and potential roles in health and disease. *Pharmacological Research* 69, 1–10. doi:10.1016/j.phrs.2012.09.001.
- Fernandez-Real, J.-M., Serino, M., Blasco, G., Puig, J., Daunis-i-Estadella, J., Ricart, W., et al. (2015). Gut Microbiota Interacts With Brain Microstructure and Function. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 100, 4505–4513. doi:10.1210/jc.2015-3076.
- Ferrocino, I., Ponzio, V., Gambino, R., Zarovska, A., Leone, F., Monzeglio, C., et al. (2018). Changes in the gut microbiota composition during pregnancy in patients with gestational diabetes mellitus (GDM). *Sci Rep* 8, 1–13. doi:10.1038/s41598-018-30735-9.
- Fetissov, S., and Déchelotte, P. (2011). The new link between gut–brain axis and neuropsychiatric disorders. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 14, 477–482. doi:10.1097/MCO.0b013e32834936e7.
- Fetissov, S. O., Hallman, J., Orelund, L., Klinteberg, B. af, Grenbäck, E., Hulting, A.-L., et al. (2002). Autoantibodies against α -MSH, ACTH, and LHRH in anorexia and bulimia nervosa patients. *PNAS* 99, 17155–17160. doi:10.1073/pnas.222658699.
- Fetissov, S. O., Hamze Sinno, M., Coëffier, M., Bole-Feysot, C., Ducrotté, P., Hökfelt, T., et al. (2008). Autoantibodies against appetite-regulating peptide hormones and neuropeptides: Putative modulation by gut microflora. *Nutrition* 24, 348–359. doi:10.1016/j.nut.2007.12.006.

- Fetissov, S. O., Harro, J., Jaanisk, M., Järv, A., Podar, I., Allik, J., et al. (2005). Autoantibodies against neuropeptides are associated with psychological traits in eating disorders. *PNAS* 102, 14865–14870. doi:10.1073/pnas.0507204102.
- Fields, D. A., and Demerath, E. W. (2012). Relationship of insulin, glucose, leptin, IL-6 and TNF- α in human breast-milk with infant growth and body composition. *Pediatr Obes* 7, 304–312. doi:10.1111/j.2047-6310.2012.00059.x.
- Figlewicz, D. P., Bennett, J. L., Aliakbari, S., Zavosh, A., and Sipols, A. J. (2008). Insulin acts at different CNS sites to decrease acute sucrose intake and sucrose self-administration in rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 295, R388-394. doi:10.1152/ajpregu.90334.2008.
- Figlewicz, D. P., Bennett, J. L., Naleid, A. M., Davis, C., and Grimm, J. W. (2006). Intraventricular insulin and leptin decrease sucrose self-administration in rats. *Physiology & Behavior* 89, 611–616. doi:10.1016/j.physbeh.2006.07.023.
- Fiol, F. de S. D., Ferreira, A. C. M. T., Marciano, J. J., Marques, M. C., and Sant'Ana, L. L. (2014). Obesity and the Use of Antibiotics and Probiotics in Rats. *CHE* 60, 162–167. doi:10.1159/000371737.
- Flier, J. S. (2006). AgRP in energy balance: Will the real AgRP please stand up? *Cell Metabolism* 3, 83–85. doi:10.1016/j.cmet.2006.01.003.
- Flint, H. J., Scott, K. P., Louis, P., and Duncan, S. H. (2012). The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 9, 577–589. doi:10.1038/nrgastro.2012.156.
- Forbes, J. D., Azad, M. B., Vehling, L., Tun, H. M., Konya, T. B., Guttman, D. S., et al. (2018). Association of Exposure to Formula in the Hospital and Subsequent Infant Feeding Practices With Gut Microbiota and Risk of Overweight in the First Year of Life. *JAMA Pediatr* 172, e181161. doi:10.1001/jamapediatrics.2018.1161.
- Forsythe, P., and Kunze, W. A. (2013). Voices from within: gut microbes and the CNS. *Cell. Mol. Life Sci.* 70, 55–69. doi:10.1007/s00018-012-1028-z.
- Fothergill, L. J., Callaghan, B., Hunne, B., Bravo, D. M., and Furness, J. B. (2017). Costorage of Enteroendocrine Hormones Evaluated at the Cell and Subcellular Levels in Male Mice. *Endocrinology* 158, 2113–2123. doi:10.1210/en.2017-00243.
- Frank, D. N., and Pace, N. R. (2008). Gastrointestinal microbiology enters the metagenomics era. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 24, 4–10. doi:10.1097/MOG.0b013e3282f2b0e8.
- Fredricks, D. N., Fiedler, T. L., and Marrazzo, J. M. (2008). Molecular Identification of Bacteria Associated with Bacterial Vaginosis. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa043802>. doi:10.1056/NEJMoa043802.
- Freeland, K. R., and Wolever, T. M. S. (2010). Acute effects of intravenous and rectal acetate on glucagon-like peptide-1, peptide YY, ghrelin, adiponectin and tumour necrosis factor-alpha. *Br. J. Nutr.* 103, 460–466. doi:10.1017/S0007114509991863.
- Fröhlich, E. E., Farzi, A., Mayerhofer, R., Reichmann, F., Jačan, A., Wagner, B., et al. (2016). Cognitive impairment by antibiotic-induced gut dysbiosis: Analysis of gut microbiota-brain communication. *Brain Behav. Immun.* 56, 140–155. doi:10.1016/j.bbi.2016.02.020.
- Frost, G., Sleeth, M. L., Sahuri-Arisoylu, M., Lizarbe, B., Cerdan, S., Brody, L., et al. (2014). The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nat Commun* 5. doi:10.1038/ncomms4611.
- Fu, J., Bonder, M. J., Cenit, M. C., Tigchelaar, E. F., Maatman, A., Dekens, J. A. M., et al. (2015). The Gut Microbiome Contributes to a Substantial Proportion of the Variation in Blood Lipids. *Circ Res* 117, 817–824. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.306807.
- Fuller, M., Priyadarshini, M., Gibbons, S., Angueira, A., Brodsky, M., Hayes, M., et al. (2015). The Short Chain Fatty Acid Receptor, FFA2, contributes to gestational glucose

homeostasis. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 309, ajpendo.00171.2015. doi:10.1152/ajpendo.00171.2015.

- G -

- Gacias, M., Gaspari, S., Santos, P.-M. G., Tamburini, S., Andrade, M., Zhang, F., et al. (2016). Microbiota-driven transcriptional changes in prefrontal cortex override genetic differences in social behavior. *eLife* 5. doi:10.7554/eLife.13442.
- Gadaleta, R. M., van Erpecum, K. J., Oldenburg, B., Willemsen, E. C. L., Renooij, W., Murzilli, S., et al. (2011). Farnesoid X receptor activation inhibits inflammation and preserves the intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *Gut* 60, 463–472. doi:10.1136/gut.2010.212159.
- Gajer, P., Brotman, R. M., Bai, G., Sakamoto, J., Schütte, U. M. E., Zhong, X., et al. (2012). Temporal Dynamics of the Human Vaginal Microbiota. *Sci Transl Med* 4, 132ra52. doi:10.1126/scitranslmed.3003605.
- Galmiche, M., Déchelotte, P., Lambert, G., and Tavolacci, M. P. (2019). Prevalence of eating disorders over the 2000–2018 period: a systematic literature review. *The American Journal of Clinical Nutrition* 109, 1402–1413. doi:10.1093/ajcn/nqy342.
- Gampel, S. B., and Nomura, Y. (2014). Short and Long-Term Effects of Compromised Birth Weight, Head Circumference, and Apgar Scores on Neuropsychological Development. *J Psychol Abnorm Child* 03. doi:10.4172/2329-9525.1000127.
- Gao, F., Lv, Y.-W., Long, J., Chen, J.-M., He, J., Ruan, X.-Z., et al. (2019). Butyrate Improves the Metabolic Disorder and Gut Microbiome Dysbiosis in Mice Induced by a High-Fat Diet. *Front Pharmacol* 10. doi:10.3389/fphar.2019.01040.
- Gao, Z., Yin, J., Zhang, J., Ward, R. E., Martin, R. J., Lefevre, M., et al. (2009). Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. *Diabetes* 58, 1509–1517. doi:10.2337/db08-1637.
- Gardiner, G. E., Heinemann, C., Baroja, M. L., Bruce, A. W., Beuerman, D., Madrenas, J., et al. (2002). Oral administration of the probiotic combination *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *L. fermentum* RC-14 for human intestinal applications. *International Dairy Journal* 12, 191–196. doi:10.1016/S0958-6946(01)00138-8.
- Garrido, D., Ruiz-Moyano, S., Jimenez-Espinoza, R., Eom, H.-J., Block, D. E., and Mills, D. A. (2013). Utilization of galactooligosaccharides by *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* isolates. *Food Microbiology* 33, 262–270. doi:10.1016/j.fm.2012.10.003.
- Ge, H., Li, X., Weiszmann, J., Wang, P., Baribault, H., Chen, J.-L., et al. (2008). Activation of G protein-coupled receptor 43 in adipocytes leads to inhibition of lipolysis and suppression of plasma free fatty acids. *Endocrinology* 149, 4519–4526. doi:10.1210/en.2008-0059.
- Georgii, C., Goldhofer, P., Meule, A., Richard, A., and Blechert, J. (2017). Food craving, food choice and consumption: The role of impulsivity and sham-controlled tDCS stimulation of the right dlPFC. *Physiol. Behav.* 177, 20–26. doi:10.1016/j.physbeh.2017.04.004.
- Getty-Kaushik, L., Song, D. H., Boylan, M. O., Corkey, B. E., and Wolfe, M. M. (2006). Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide Modulates Adipocyte Lipolysis and Reesterification. *Obesity* 14, 1124–1131. doi:10.1038/oby.2006.129.
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., et al. (2017). 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* 14, 491–502. doi:10.1038/nrgastro.2017.75.

- Girardet, C., and Butler, A. A. (2014). Neural melanocortin receptors in obesity and related metabolic disorders. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1842, 482–494. doi:10.1016/j.bbadis.2013.05.004.
- Gjerde, E., Long, H., Richard, D., and Walker, C.-D. (2016). Developmental Responses of the Lateral Hypothalamus to Leptin in Neonatal Rats, and its Implications for the Development of Functional Connections with the Ventral Tegmental Area. *Journal of Neuroendocrinology* 28. doi:10.1111/jne.12354.
- Glendinning, L., and Free, A. (2014). Supra-organismal interactions in the human intestine. *Front Cell Infect Microbiol* 4. doi:10.3389/fcimb.2014.00047.
- Glenny, E. M., Bulik-Sullivan, E. C., Tang, Q., Bulik, C. M., and Carroll, I. M. (2017). Eating disorders and the intestinal microbiota: Mechanisms of energy homeostasis and behavioral influence. *Curr Psychiatry Rep* 19, 51. doi:10.1007/s11920-017-0797-3.
- Gluck, M. E., Viswanath, P., and Stinson, E. J. (2017). Obesity, Appetite, and the Prefrontal Cortex. *Curr Obes Rep* 6, 380–388. doi:10.1007/s13679-017-0289-0.
- Goedert, J. J., Hua, X., Yu, G., and Shi, J. (2014). Diversity and composition of the adult fecal microbiome associated with history of cesarean birth or appendectomy: Analysis of the American Gut Project. *EBioMedicine* 1, 167–172. doi:10.1016/j.ebiom.2014.11.004.
- Goetz, A. (1950). Method for producing a microbicidal composition of matter. Available at: <https://patents.google.com/patent/US2521713A/en> [Accessed October 1, 2019].
- Gohir, W., Whelan, F. J., Surette, M. G., Moore, C., Schertzer, J. D., and Sloboda, D. M. (2015). Pregnancy-related changes in the maternal gut microbiota are dependent upon the mother's periconceptional diet. *Gut Microbes* 6, 310–320. doi:10.1080/19490976.2015.1086056.
- Gonzalez, A., Krieg, R., Massey, H. D., Carl, D., Ghosh, S., Gehr, T. W. B., et al. (2019). Sodium butyrate ameliorates insulin resistance and renal failure in CKD rats by modulating intestinal permeability and mucin expression. *Nephrol Dial Transplant* 34, 783–794. doi:10.1093/ndt/gfy238.
- González Hernández, M. A., Canfora, E. E., Jocken, J. W. E., and Blaak, E. E. (2019). The Short-Chain Fatty Acid Acetate in Body Weight Control and Insulin Sensitivity. *Nutrients* 11. doi:10.3390/nu11081943.
- Goodman, A. L., Kallstrom, G., Faith, J. J., Reyes, A., Moore, A., Dantas, G., et al. (2011). Extensive personal human gut microbiota culture collections characterized and manipulated in gnotobiotic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 6252–6257. doi:10.1073/pnas.1102938108.
- Goodrich, J. K., Waters, J. L., Poole, A. C., Sutter, J. L., Koren, O., Blekhman, R., et al. (2014). Human genetics shape the gut microbiome. *Cell* 159, 789–799. doi:10.1016/j.cell.2014.09.053.
- Gordon, H. A. (2006). MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF GERM-FREE LIFE*. *Annals of the New York Academy of Sciences* 78, 208–220. doi:10.1111/j.1749-6632.1959.tb53104.x.
- Gordon, H. A., and Pesti, L. (1971). The Gnotobiotic Animal as a Tool in the Study of Host Microbial Relationships. 35, 40.
- Grasset, E., Puel, A., Charpentier, J., Collet, X., Christensen, J. E., Tercé, F., et al. (2017). A Specific Gut Microbiota Dysbiosis of Type 2 Diabetic Mice Induces GLP-1 Resistance through an Enteric NO-Dependent and Gut-Brain Axis Mechanism. *Cell Metabolism* 26, 278. doi:10.1016/j.cmet.2017.06.003.
- Gray, G. E., and Sanes, J. R. (1991). Migratory paths and phenotypic choices of clonally related cells in the avian optic tectum. *Neuron* 6, 211–225. doi:10.1016/0896-6273(91)90357-6.

- Grayson, B. E., Levasseur, P. R., Williams, S. M., Smith, M. S., Marks, D. L., and Grove, K. L. (2010). Changes in melanocortin expression and inflammatory pathways in fetal offspring of nonhuman primates fed a high-fat diet. *Endocrinology* 151, 1622–1632. doi:10.1210/en.2009-1019.
- Greenbaum, S., Greenbaum, G., Moran-Gilad, J., and Weintraub, A. Y. (2019). Ecological dynamics of the vaginal microbiome in relation to health and disease. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 220, 324–335. doi:10.1016/j.ajog.2018.11.1089.
- Greer, M. A. (1955). Suggestive evidence of a primary drinking center in hypothalamus of the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 89, 59–62. doi:10.3181/00379727-89-21716.
- Grider, J. R., and Piland, B. E. (2007). The peristaltic reflex induced by short-chain fatty acids is mediated by sequential release of 5-HT and neuronal CGRP but not BDNF. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 292, G429–G437. doi:10.1152/ajpgi.00376.2006.
- Griebel, G., Belzung, C., Perrault, G., and Sanger, D. J. (2000). Differences in anxiety-related behaviours and in sensitivity to diazepam in inbred and outbred strains of mice. *Psychopharmacology* 148, 164–170.
- Grill, H. J., and Hayes, M. R. (2012). Hindbrain Neurons as an Essential Hub in the Neuroanatomically Distributed Control of Energy Balance. *Cell Metab* 16, 296–309. doi:10.1016/j.cmet.2012.06.015.
- Grill, H. J., and Norgren, R. (1978). The taste reactivity test. I. Mimetic responses to gustatory stimuli in neurologically normal rats. *Brain Res.* 143, 263–279. doi:10.1016/0006-8993(78)90568-1.
- Groschwitz, K. R., and Hogan, S. P. (2009). Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 124, 3–20; quiz 21–22. doi:10.1016/j.jaci.2009.05.038.
- Grove, K. L., and Smith, M. S. (2003). Ontogeny of the hypothalamic neuropeptide Y system. *Physiology & Behavior* 79, 47–63. doi:10.1016/S0031-9384(03)00104-5.
- Gueimonde, M., Laitinen, K., Salminen, S., and Isolauri, E. (2007). Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? *Neonatology* 92, 64–66. doi:10.1159/000100088.

- H -

- Haber, S. N. (2017). “Anatomy and Connectivity of the Reward Circuit,” in *Decision Neuroscience* (Elsevier), 3–19. doi:10.1016/B978-0-12-805308-9.00001-4.
- Hafner, L. M., Rush, C. M., and Timms, P. (1996). The Vaginal Microbiota of Guinea Pigs. *Microbial Ecology in Health and Disease* 9, 123–127. doi:10.3109/08910609609166452.
- Haque, M. S., Minokoshi, Y., Hamai, M., Iwai, M., Horiuchi, M., and Shimazu, T. (1999). Role of the sympathetic nervous system and insulin in enhancing glucose uptake in peripheral tissues after intrahypothalamic injection of leptin in rats. *Diabetes* 48, 1706–1712. doi:10.2337/diabetes.48.9.1706.
- Harder, T., Bergmann, R., Kallischnigg, G., and Plagemann, A. (2005). Duration of breastfeeding and risk of overweight: a meta-analysis. *Am. J. Epidemiol.* 162, 397–403. doi:10.1093/aje/kwi222.
- Harmsen, H., and de Goffau, M. (2016). “The human gut microbiota,” in *Microbiota of the human body: Implications in health and disease* Advances in Experimental Medicine and Biology. (Switzerland: Andreas Schwiertz), 95–108.

- Hasan, N., and Yang, H. (2019). Factors affecting the composition of the gut microbiota, and its modulation. *PeerJ* 7. doi:10.7717/peerj.7502.
- Hayashi, F., Smith, K. D., Ozinsky, A., Hawn, T. R., Yi, E. C., Goodlett, D. R., et al. (2001). The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature* 410, 1099–1103. doi:10.1038/35074106.
- Hayashida, T., Nakahara, K., Mondal, M. S., Date, Y., Nakazato, M., Kojima, M., et al. (2002). Ghrelin in neonatal rats: distribution in stomach and its possible role. *Journal of Endocrinology* 173, 239–245. doi:10.1677/joe.0.1730239.
- Hayes, M. R., Skibicka, K. P., Lechner, T. M., Guarnieri, D. J., DiLeone, R. J., Bence, K. K., et al. (2010). Endogenous Leptin Signaling in the Caudal Nucleus Tractus Solitarius and Area Postrema Is Required for Energy Balance Regulation. *Cell Metabolism* 11, 77–83. doi:10.1016/j.cmet.2009.10.009.
- Hegstrand, L. R., and Hine, R. J. (1986). Variations of brain histamine levels in germ-free and nephrectomized rats. *Neurochem. Res.* 11, 185–191. doi:10.1007/bf00967967.
- Heijtz, R. D., Wang, S., Anuar, F., Qian, Y., Bjorkholm, B., Samuelsson, A., et al. (2011). Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108, 3047–3052. doi:10.1073/pnas.1010529108.
- Heikkilä, M. P., and Saris, P. E. J. (2003). Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *Journal of Applied Microbiology* 95, 471–478. doi:10.1046/j.1365-2672.2003.02002.x.
- Hermansson, H., Kumar, H., Collado, M. C., Salminen, S., Isolauri, E., and Rautava, S. (2019). Breast Milk Microbiota Is Shaped by Mode of Delivery and Intrapartum Antibiotic Exposure. *Front. Nutr.* 6. doi:10.3389/fnut.2019.00004.
- Hernandez, L., and Hoebel, B. G. (1988). Feeding and hypothalamic stimulation increase dopamine turnover in the accumbens. *Physiol. Behav.* 44, 599–606. doi:10.1016/0031-9384(88)90324-1.
- Hetherington, A. W., and Ranson, S. W. (1983). Hypothalamic Lesions and Adiposity in the Rat. *Nutr Rev* 41, 124–127. doi:10.1111/j.1753-4887.1983.tb07169.x.
- Hickey, R. J., Zhou, X., Pierson, J. D., Ravel, J., and Forney, L. J. (2012). Understanding vaginal microbiome complexity from an ecological perspective. *Transl Res* 160, 267–282. doi:10.1016/j.trsl.2012.02.008.
- Hiippala, K., Jouhten, H., Ronkainen, A., Hartikainen, A., Kainulainen, V., Jalanka, J., et al. (2018). The Potential of Gut Commensals in Reinforcing Intestinal Barrier Function and Alleviating Inflammation. *Nutrients* 10. doi:10.3390/nu10080988.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., et al. (2014). Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 11, 506–514. doi:10.1038/nrgastro.2014.66.
- Hill, C. J., Lynch, D. B., Murphy, K., Ulaszewska, M., Jeffery, I. B., O’Shea, C. A., et al. (2017). Evolution of gut microbiota composition from birth to 24 weeks in the INFANTMET Cohort. *Microbiome* 5. doi:10.1186/s40168-016-0213-y.
- Hoban, A. E., Stilling, R. M., Ryan, F. J., Shanahan, F., Dinan, T. G., Claesson, M. J., et al. (2016). Regulation of prefrontal cortex myelination by the microbiota. *Transl Psychiatry* 6, e774–e774. doi:10.1038/tp.2016.42.
- Hoggard, N., Hunter, L., Duncan, J. S., Williams, L. M., Trayhurn, P., and Mercer, J. G. (1997). Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 11073–11078.
- Holingue, C., Newill, C., Lee, L.-C., Pasricha, P., and Fallin, M. D. (2018). Gastrointestinal Symptoms in Autism Spectrum Disorder: A Review of the Literature on Ascertainment and Prevalence. *Autism Res* 11, 24–36. doi:10.1002/aur.1854.

- Hollister, E. B., Riehle, K., Luna, R. A., Weidler, E. M., Rubio-Gonzales, M., Mistretta, T.-A., et al. (2015). Structure and function of the healthy pre-adolescent pediatric gut microbiome. *Microbiome* 3. doi:10.1186/s40168-015-0101-x.
- Holscher, H. D., Faust, K. L., Czerkies, L. A., Litov, R., Ziegler, E. E., Lessin, H., et al. (2012). Effects of Prebiotic-Containing Infant Formula on Gastrointestinal Tolerance and Fecal Microbiota in a Randomized Controlled Trial. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 36, 95S-105S. doi:10.1177/0148607111430087.
- Hommel, J. D., Trinko, R., Sears, R. M., Georgescu, D., Liu, Z.-W., Gao, X.-B., et al. (2006). Leptin receptor signaling in midbrain dopamine neurons regulates feeding. *Neuron* 51, 801–810. doi:10.1016/j.neuron.2006.08.023.
- Hommer, R. E., and Swedo, S. E. (2017). Anorexia and Autoimmunity: Challenging the Etiologic Constructs of Disordered Eating. *Pediatrics* 140. doi:10.1542/peds.2017-3060.
- Hong, J., Jia, Y., Pan, S., Jia, L., Li, H., Han, Z., et al. (2016). Butyrate alleviates high fat diet-induced obesity through activation of adiponectin-mediated pathway and stimulation of mitochondrial function in the skeletal muscle of mice. *Oncotarget* 7, 56071–56082. doi:10.18632/oncotarget.11267.
- Hong, Y.-H., Nishimura, Y., Hishikawa, D., Tsuzuki, H., Miyahara, H., Gotoh, C., et al. (2005). Acetate and propionate short chain fatty acids stimulate adipogenesis via GPCR43. *Endocrinology* 146, 5092–5099. doi:10.1210/en.2005-0545.
- Hooper, L. V. (2001). Molecular Analysis of Commensal Host-Microbial Relationships in the Intestine. *Science* 291, 881–884. doi:10.1126/science.291.5505.881.
- Hooper, L. V., and Gordon, J. I. (2001). Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science* 292, 1115–1118. doi:10.1126/science.1058709.
- Hsu, T. M., Suarez, A. N., and Kanoski, S. E. (2016). Ghrelin: A link between memory and ingestive behavior. *Physiol. Behav.* 162, 10–17. doi:10.1016/j.physbeh.2016.03.039.
- Hu, Z., Cooper, M., Crockett, D. P., and Zhou, R. (2004). Differentiation of the midbrain dopaminergic pathways during mouse development. *J. Comp. Neurol.* 476, 301–311. doi:10.1002/cne.20230.
- Huang, F., Wang, T., Lan, Y., Yang, L., Pan, W., Zhu, Y., et al. (2015). Deletion of mouse FXR gene disturbs multiple neurotransmitter systems and alters neurobehavior. *Front Behav Neurosci* 9, 70. doi:10.3389/fnbeh.2015.00070.
- Hurst, N. R., Kendig, D. M., Murthy, K. S., and Grider, J. R. (2014). The Short Chain Fatty Acids, Butyrate and Propionate, have Differential Effects on the Motility of the Guinea Pig Colon. *Neurogastroenterol Motil* 26, 1586–1596. doi:10.1111/nmo.12425.
- Husain, S., Allotey, J., Drymoussi, Z., Wilks, M., Fernandez-Felix, B. M., Whiley, A., et al. (2019). Effects of oral probiotic supplements on vaginal microbiota during pregnancy: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial with microbiome analysis. *BJOG*. doi:10.1111/1471-0528.15675.
- Hyun, J., Romero, L., Riveron, R., Flores, C., Kanagavelu, S., Chung, K. D., et al. (2015). Human intestinal epithelial cells express IL-10 through Toll-like receptor 4 (TLR4)-mediated epithelial-macrophage crosstalk. *J Innate Immun* 7, 87–101. doi:10.1159/000365417.

- I -

- Iannone, L. F., Preda, A., Blottièrè, H. M., Clarke, G., Albani, D., Belcastro, V., et al. (2019). Microbiota-gut brain axis involvement in neuropsychiatric disorders. *Expert Review of Neurotherapeutics* 19, 1037–1050. doi:10.1080/14737175.2019.1638763.
- Ifft, J. D. (1972). An autoradiographic study of the time of final division of neurons in rat hypothalamic nuclei. *Journal of Comparative Neurology* 144, 193–204. doi:10.1002/cne.901440204.
- Ignatova, V. (2019). Influence of Gut Microbiota on Behavior and Its Disturbances. *Behavioral Neuroscience*. doi:10.5772/intechopen.85317.
- Inagaki, T., Moschetta, A., Lee, Y.-K., Peng, L., Zhao, G., Downes, M., et al. (2006). Regulation of antibacterial defense in the small intestine by the nuclear bile acid receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 3920–3925. doi:10.1073/pnas.0509592103.
- Inoue, R., and Ushida, K. (2003). Development of the intestinal microbiota in rats and its possible interactions with the evolution of the luminal IgA in the intestine. *FEMS Microbiol Ecol* 45, 147–153. doi:10.1016/S0168-6496(03)00134-X.
- Inoue, Y., Nakahara, K., Kangawa, K., and Murakami, N. (2010). Transitional change in rat fetal cell proliferation in response to ghrelin and des-acyl ghrelin during the last stage of pregnancy. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 393, 455–460. doi:10.1016/j.bbrc.2010.02.022.
- In't Veld, P. A., Zhang, F., Madsen, O. D., and Klöppel, G. (1992). Islet amyloid polypeptide immunoreactivity in the human fetal pancreas. *Diabetologia* 35, 272–276. doi:10.1007/BF00400929.
- Ishii, Y., and Bouret, S. G. (2012). Embryonic Birthdate of Hypothalamic Leptin-Activated Neurons in Mice. *Endocrinology* 153, 3657–3667. doi:10.1210/en.2012-1328.

- J -

- Jaglin, M., Rhimi, M., Philippe, C., Pons, N., Bruneau, A., Goustard, B., et al. (2018). Indole, a Signaling Molecule Produced by the Gut Microbiota, Negatively Impacts Emotional Behaviors in Rats. *Front Neurosci* 12. doi:10.3389/fnins.2018.00216.
- Jašarević, E., Morrison, K. E., and Bale, T. L. (2016). Sex differences in the gut microbiome–brain axis across the lifespan. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 371, 20150122. doi:10.1098/rstb.2015.0122.
- Jerlhag, E., Egecioglu, E., Landgren, S., Salomé, N., Heilig, M., Moechars, D., et al. (2009). Requirement of central ghrelin signaling for alcohol reward. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106, 11318–11323. doi:10.1073/pnas.0812809106.
- Jespers, V., Menten, J., Smet, H., Poradosú, S., Abdellati, S., Verhelst, R., et al. (2012). Quantification of bacterial species of the vaginal microbiome in different groups of women, using nucleic acid amplification tests. *BMC Microbiol* 12, 83. doi:10.1186/1471-2180-12-83.
- Jiménez, E., Delgado, S., Fernández, L., García, N., Albújar, M., Gómez, A., et al. (2008a). Assessment of the bacterial diversity of human colostrum and screening of staphylococcal and enterococcal populations for potential virulence factors. *Research in Microbiology* 159, 595–601. doi:10.1016/j.resmic.2008.09.001.
- Jiménez, E., Fernández, L., Maldonado, A., Martín, R., Olivares, M., Xaus, J., et al. (2008b). Oral Administration of Lactobacillus Strains Isolated from Breast Milk as an Alternative

- for the Treatment of Infectious Mastitis during Lactation. *Appl Environ Microbiol* 74, 4650–4655. doi:10.1128/AEM.02599-07.
- Jiménez, E., Marín, M. L., Martín, R., Odriozola, J. M., Olivares, M., Xaus, J., et al. (2008c). Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Res. Microbiol.* 159, 187–193. doi:10.1016/j.resmic.2007.12.007.
- Johansson, M. E. V., Gustafsson, J. K., Holmén-Larsson, J., Jabbar, K. S., Xia, L., Xu, H., et al. (2014). Bacteria penetrate the normally impenetrable inner colon mucus layer in both murine colitis models and patients with ulcerative colitis. *Gut* 63, 281–291. doi:10.1136/gutjnl-2012-303207.
- Johansson, M. E. V., Larsson, J. M. H., and Hansson, G. C. (2011). The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host-microbial interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108 Suppl 1, 4659–4665. doi:10.1073/pnas.1006451107.
- Johnson, K. V.-A., and Foster, K. R. (2018). Why does the microbiome affect behaviour? *Nat Rev Microbiol* 16, 647–655. doi:10.1038/s41579-018-0014-3.
- Johnson, M. D., Bouret, S. G., Dunn-Meynell, A. A., Boyle, C. N., Lutz, T. A., and Levin, B. E. (2016). Early postnatal amylin treatment enhances hypothalamic leptin signaling and neural development in the selectively bred diet-induced obese rat. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 311, R1032–R1044. doi:10.1152/ajpregu.00326.2016.
- Jost, T., Lacroix, C., Braegger, C., and Chassard, C. (2014). Stability of the Maternal Gut Microbiota During Late Pregnancy and Early Lactation. *Curr Microbiol* 68, 419–427. doi:10.1007/s00284-013-0491-6.
- Jost, T., Lacroix, C., Braegger, C., and Chassard, C. (2015). Impact of human milk bacteria and oligosaccharides on neonatal gut microbiota establishment and gut health. *Nutr. Rev.* 73, 426–437. doi:10.1093/nutrit/nuu016.
- Jovanovic, L., and Pettitt, D. J. (2007). Treatment With Insulin and Its Analogs in Pregnancies Complicated by Diabetes. *Diabetes Care* 30, S220–S224. doi:10.2337/dc07-s220.

- K -

- Kaczmarek, J. L., Musaad, S. M., and Holscher, H. D. (2017). Time of day and eating behaviors are associated with the composition and function of the human gastrointestinal microbiota. *Am J Clin Nutr* 106, 1220–1231. doi:10.3945/ajcn.117.156380.
- Kagotani, Y., Hashimoto, T., Tsuruo, Y., Kawano, H., Daikoku, S., and Chihara, K. (1989). Development of the neuronal system containing neuropeptide Y in the rat hypothalamus. *International Journal of Developmental Neuroscience* 7, 359–374. doi:10.1016/0736-5748(89)90057-9.
- Kanoski, S. E., and Grill, H. J. (2015). Hippocampus Contributions to Food Intake Control: Mnemonic, Neuroanatomical, and Endocrine Mechanisms. *Biological Psychiatry*. doi:10.1016/j.biopsych.2015.09.011.
- Kanoski, S. E., Zhao, S., Guarnieri, D. J., DiLeone, R. J., Yan, J., De Jonghe, B. C., et al. (2012). Endogenous leptin receptor signaling in the medial nucleus tractus solitarius affects meal size and potentiates intestinal satiation signals. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 303, E496–E503. doi:10.1152/ajpendo.00205.2012.
- Kanwal, J. s. (2016). Brain Plasticity during Adolescence: Effects of Stress, Sleep, Sex and Sounds on Decision Making. *Anat Physiol* 06. doi:10.4172/2161-0940.1000e135.
- Karlsson, F. H., Tremaroli, V., Nookaew, I., Bergström, G., Behre, C. J., Fagerberg, B., et al. (2013). Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature* 498, 99–103. doi:10.1038/nature12198.

- Kawakubo, M., Ito, Y., Okimura, Y., Kobayashi, M., Sakura, K., Kasama, S., et al. (2004). Natural antibiotic function of a human gastric mucin against *Helicobacter pylori* infection. *Science* 305, 1003–1006. doi:10.1126/science.1099250.
- Keely, S., Kelly, C. J., Weissmueller, T., Burgess, A., Wagner, B. D., Robertson, C. E., et al. (2012). Activated fluid transport regulates bacterial-epithelial interactions and significantly shifts the murine colonic microbiome. *Gut Microbes* 3, 250–260. doi:10.4161/gmic.20529.
- Keller, J. M., and Krohmer, J. S. (1968). Insulin transfer in the isolated human placenta. *Obstet Gynecol* 32, 77–80.
- Kellermayer, R., Dowd, S. E., Harris, R. A., Balasa, A., Schaible, T. D., Wolcott, R. D., et al. (2011). Colonic mucosal DNA methylation, immune response, and microbiome patterns in Toll-like receptor 2-knockout mice. *FASEB J.* 25, 1449–1460. doi:10.1096/fj.10-172205.
- Kelly, D., Campbell, J. I., King, T. P., Grant, G., Jansson, E. A., Coutts, A. G. P., et al. (2004). Commensal anaerobic gut bacteria attenuate inflammation by regulating nuclear-cytoplasmic shuttling of PPAR-gamma and RelA. *Nat. Immunol.* 5, 104–112. doi:10.1038/ni1018.
- Kelly, J., and Grossman, S. P. (1979). GABA and hypothalamic feeding systems. II. A comparison of GABA, glycine and acetylcholine agonists and their antagonists. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 11, 647–652. doi:10.1016/0091-3057(79)90257-0.
- Kemis, J. H., Linke, V., Barrett, K. L., Boehm, F. J., Traeger, L. L., Keller, M. P., et al. (2019). Genetic determinants of gut microbiota composition and bile acid profiles in mice. *PLOS Genetics* 15, e1008073. doi:10.1371/journal.pgen.1008073.
- Kennedy, G. C. (1957). THE DEVELOPMENT WITH AGE OF HYPOTHALAMIC RESTRAINT UPON THE APPETITE OF THE RAT. *Journal of Endocrinology* 16, 9–17. doi:10.1677/joe.0.0160009.
- Kernie, S. G., Liebl, D. J., and Parada, L. F. (2000). BDNF regulates eating behavior and locomotor activity in mice. *EMBO J* 19, 1290–1300. doi:10.1093/emboj/19.6.1290.
- Khan, T. J., Hasan, M. N., Azhar, E. I., and Yasir, M. (2019). Association of gut dysbiosis with intestinal metabolites in response to antibiotic treatment. *Human Microbiome Journal* 11, 100054. doi:10.1016/j.humic.2018.11.004.
- Khodayar-Pardo, P., Mira-Pascual, L., Collado, M. C., and Martínez-Costa, C. (2014). Impact of lactation stage, gestational age and mode of delivery on breast milk microbiota. *J Perinatol* 34, 599–605. doi:10.1038/jp.2014.47.
- Kido, K., Tejima, S., Haramiishi, M., Uyeno, Y., Ide, Y., Kurosu, K., et al. (2019). Provision of beta-glucan prebiotics (cellooligosaccharides and kraft pulp) to calves from pre- to post-weaning period on pasture. *Animal Science Journal* 90, 1537–1543. doi:10.1111/asj.13299.
- Kim, H. J., Leeds, P., and Chuang, D.-M. (2009). The HDAC inhibitor, sodium butyrate, stimulates neurogenesis in the ischemic brain. *J Neurochem* 110, 1226–1240. doi:10.1111/j.1471-4159.2009.06212.x.
- Kim, Y. S., and Ho, S. B. (2010). Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. *Curr Gastroenterol Rep* 12, 319–330. doi:10.1007/s11894-010-0131-2.
- Kimura, I., Ozawa, K., Inoue, D., Imamura, T., Kimura, K., Maeda, T., et al. (2013). The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nat Commun* 4, 1829. doi:10.1038/ncomms2852.

- Kinasz, K., Accurso, E. C., Kass, A. E., and Le Grange, D. (2016). Sex differences in the clinical presentation of eating disorders in youth. *J Adolesc Health* 58, 410–416. doi:10.1016/j.jadohealth.2015.11.005.
- King, B. M. (2006). The rise, fall, and resurrection of the ventromedial hypothalamus in the regulation of feeding behavior and body weight. *Physiology & Behavior* 87, 221–244. doi:10.1016/j.physbeh.2005.10.007.
- King, J. C. (2000). Physiology of pregnancy and nutrient metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.* 71, 1218S–25S. doi:10.1093/ajcn/71.5.1218s.
- Kirk, S. L., Samuelsson, A.-M., Argenton, M., Dhonye, H., Kalamatianos, T., Poston, L., et al. (2009). Maternal Obesity Induced by Diet in Rats Permanently Influences Central Processes Regulating Food Intake in Offspring. *PLoS One* 4. doi:10.1371/journal.pone.0005870.
- Kishi, T., Aschkenasi, C. J., Lee, C. E., Mountjoy, K. G., Saper, C. B., and Elmquist, J. K. (2003). Expression of melanocortin 4 receptor mRNA in the central nervous system of the rat. *Journal of Comparative Neurology* 457, 213–235. doi:10.1002/cne.10454.
- Knights, D., Ward, T. L., McKinlay, C. E., Miller, H., Gonzalez, A., McDonald, D., et al. (2014). Rethinking “Enterotypes.” *Cell Host Microbe* 16, 433–437. doi:10.1016/j.chom.2014.09.013.
- Knol, J., Scholtens, P., Kafka, C., Steenbakkens, J., Gro, S., Helm, K., et al. (2005). Colon Microflora in Infants Fed Formula with Galacto- and Fructo-Oligosaccharides: More Like Breast-Fed Infants. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 40, 36–42.
- Knuesel, I., Chicha, L., Britschgi, M., Schobel, S. A., Bodmer, M., Hellings, J. A., et al. (2014). Maternal immune activation and abnormal brain development across CNS disorders. *Nat Rev Neurol* 10, 643–660. doi:10.1038/nrneurol.2014.187.
- Kobayashi, K. S., Chamillard, M., Ogura, Y., Henegariu, O., Inohara, N., Nuñez, G., et al. (2005). Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. *Science* 307, 731–734. doi:10.1126/science.1104911.
- Koehnle, T. J., and Rinaman, L. (2007). Progressive postnatal increases in Fos immunoreactivity in the forebrain and brain stem of rats after viscerosensory stimulation with lithium chloride. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 292, R1212–R1223. doi:10.1152/ajpregu.00666.2006.
- Koenig, J. E., Spor, A., Scalfone, N., Fricker, A. D., Stombaugh, J., Knight, R., et al. (2011). Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *PNAS* 108, 4578–4585. doi:10.1073/pnas.1000081107.
- Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., and Bäckhed, F. (2016). From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell* 165, 1332–1345. doi:10.1016/j.cell.2016.05.041.
- Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., and Kangawa, K. (1999). Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402, 656–660. doi:10.1038/45230.
- Kojima, M., Nakamura, Y., Sato, T., and Kangawa, K. (2013). “Ghrelin,” in *Handbook of Biologically Active Peptides* (Elsevier), 776–783. doi:10.1016/B978-0-12-385095-9.00104-4.
- Kon, I. Y., Shilina, N. M., Gmshinskaya, M. V., and Ivanushkina, T. A. (2014). The study of breast milk IGF-1, leptin, ghrelin and adiponectin levels as possible reasons of high weight gain in breast-fed infants. *Ann. Nutr. Metab.* 65, 317–323. doi:10.1159/000367998.

- Könner, A. C., Hess, S., Tovar, S., Mesaros, A., Sánchez-Lasheras, C., Evers, N., et al. (2011). Role for insulin signaling in catecholaminergic neurons in control of energy homeostasis. *Cell Metab.* 13, 720–728. doi:10.1016/j.cmet.2011.03.021.
- Koren, O., Goodrich, J. K., Cullender, T. C., Spor, A., Laitinen, K., Bäckhed, H. K., et al. (2012). Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell* 150, 470–480. doi:10.1016/j.cell.2012.07.008.
- Korpela, K., Salonen, A., Virta, L. J., Kekkonen, R. A., Forslund, K., Bork, P., et al. (2016). Intestinal microbiome is related to lifetime antibiotic use in Finnish pre-school children. *Nat Commun* 7, 1–8. doi:10.1038/ncomms10410.
- Kortner, G., Petrova, O., Vogt, S., and Schmidt, I. (1994). Sympathetically and nonsympathetically mediated onset of excess fat deposition in Zucker rats. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 267, E947–E953. doi:10.1152/ajpendo.1994.267.6.E947.
- Kostic, A. D., Gevers, D., Siljander, H., Vatanen, T., Hyötyläinen, T., Hämäläinen, A.-M., et al. (2015). The Dynamics of the Human Infant Gut Microbiome in Development and in Progression toward Type 1 Diabetes. *Cell Host & Microbe* 17, 260–273. doi:10.1016/j.chom.2015.01.001.
- Kozak, R., Richy, S., and Beck, B. (2005). Persistent alterations in neuropeptide Y release in the paraventricular nucleus of rats subjected to dietary manipulation during early life. *European Journal of Neuroscience* 21, 2887–2892. doi:10.1111/j.1460-9568.2005.04101.x.
- Krajmalnik-Brown, R., Lozupone, C., Kang, D.-W., and Adams, J. B. (2015). Gut bacteria in children with autism spectrum disorders: challenges and promise of studying how a complex community influences a complex disease. *Microb Ecol Health Dis* 26. doi:10.3402/mehd.v26.26914.
- Krashes, M. J., Koda, S., Ye, C., Rogan, S. C., Adams, A. C., Cusher, D. S., et al. (2011). Rapid, reversible activation of AgRP neurons drives feeding behavior in mice. *J Clin Invest* 121, 1424–1428. doi:10.1172/JCI46229.
- Krashes, M. J., Shah, B. P., Koda, S., and Lowell, B. B. (2013). Rapid versus delayed stimulation of feeding by the endogenously released AgRP neuron mediators, GABA, NPY and AgRP. *Cell Metab* 18. doi:10.1016/j.cmet.2013.09.009.
- Kuhre, R. E., Wewer Albrechtsen, N. J., Larsen, O., Jepsen, S. L., Balk-Møller, E., Andersen, D. B., et al. (2018). Bile acids are important direct and indirect regulators of the secretion of appetite- and metabolism-regulating hormones from the gut and pancreas. *Mol Metab* 11, 84–95. doi:10.1016/j.molmet.2018.03.007.
- Kuo, S.-M., Merhige, P. M., and Hagey, L. R. (2013). The effect of dietary prebiotics and probiotics on body weight, large intestine indices, and fecal bile acid profile in wild type and IL10^{-/-} mice. *PLoS ONE* 8, e60270. doi:10.1371/journal.pone.0060270.
- Kuperman, A. A., and Koren, O. (2016). Antibiotic use during pregnancy: how bad is it? *BMC Med* 14, 1–7. doi:10.1186/s12916-016-0636-0.
- Kurose, Y., and Terashima, Y. (1999). Histamine regulates food intake through modulating noradrenaline release in the para-ventricular nucleus. *Brain Research* 828, 115–118. doi:10.1016/S0006-8993(99)01339-6.

- L -

- LaCaille, L., Patino-Fernandez, A. M., Monaco, J., Ding, D., Upchurch Sweeney, C. R., Butler, C. D., et al. (2013). “Eating Behavior,” in *Encyclopedia of Behavioral Medicine*, eds. M. D. Gellman and J. R. Turner (New York, NY: Springer New York), 641–642. doi:10.1007/978-1-4419-1005-9_1613.
- Lahti, L., Salonen, A., Kekkonen, R. A., Salojärvi, J., Jalanka-Tuovinen, J., Palva, A., et al. (2013). Associations between the human intestinal microbiota, *Lactobacillus rhamnosus* GG and serum lipids indicated by integrated analysis of high-throughput profiling data. *PeerJ* 1, e32. doi:10.7717/peerj.32.
- Lam, Y. Y., Maguire, S., Palacios, T., and Caterson, I. D. (2017a). Are the Gut Bacteria Telling Us to Eat or Not to Eat? Reviewing the Role of Gut Microbiota in the Etiology, Disease Progression and Treatment of Eating Disorders. *Nutrients* 9, 602. doi:10.3390/nu9060602.
- Lam, Y. Y., Maguire, S., Palacios, T., and Caterson, I. D. (2017b). Are the Gut Bacteria Telling Us to Eat or Not to Eat? Reviewing the Role of Gut Microbiota in the Etiology, Disease Progression and Treatment of Eating Disorders. *Nutrients* 9, 602. doi:10.3390/nu9060602.
- Larraufie, P., Martin-Gallausiaux, C., Lapaque, N., Dore, J., Gribble, F. M., Reimann, F., et al. (2018). SCFAs strongly stimulate PYY production in human enteroendocrine cells. *Sci Rep* 8, 74. doi:10.1038/s41598-017-18259-0.
- Lasiter, P. S., and Kachele, D. L. (1988). Postnatal development of the parabrachial gustatory zone in rat: Dendritic morphology and mitochondrial enzyme activity. *Brain Research Bulletin* 21, 79–94. doi:10.1016/0361-9230(88)90122-0.
- LaTuga, M. S., Stuebe, A., and Seed, P. C. (2014). A Review of the Source and Function of Microbiota in Breast Milk. *Semin Reprod Med* 32, 68–73. doi:10.1055/s-0033-1361824.
- Laursen, M. F., Andersen, L. B. B., Michaelsen, K. F., Mølgaard, C., Trolle, E., Bahl, M. I., et al. (2016). Infant Gut Microbiota Development Is Driven by Transition to Family Foods Independent of Maternal Obesity. *mSphere* 1, e00069-15. doi:10.1128/mSphere.00069-15.
- Lavdas, A. A., Blue, M. E., Lincoln, J., and Parnavelas, J. G. (1997). Serotonin promotes the differentiation of glutamate neurons in organotypic slice cultures of the developing cerebral cortex. *J. Neurosci.* 17, 7872–7880.
- Lawson, E. A. (2017). The effects of oxytocin on eating behaviour and metabolism in humans. *Nat Rev Endocrinol* 13, 700–709. doi:10.1038/nrendo.2017.115.
- Le Chatelier, E., Nielsen, T., Qin, J., Prifti, E., Hildebrand, F., Falony, G., et al. (2013). Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* 500, 541–546. doi:10.1038/nature12506.
- Le Huërou-Luron, I., Blat, S., and Boudry, G. (2010). Breast- v. formula-feeding: impacts on the digestive tract and immediate and long-term health effects. *Nutr Res Rev* 23, 23–36. doi:10.1017/S0954422410000065.
- le Roux, C. W., Batterham, R. L., Aylwin, S. J. B., Patterson, M., Borg, C. M., Wynne, K. J., et al. (2006). Attenuated peptide YY release in obese subjects is associated with reduced satiety. *Endocrinology* 147, 3–8. doi:10.1210/en.2005-0972.
- Le Thuc, O., Stobbe, K., Cansell, C., Nahon, J.-L., Blondeau, N., and Rovère, C. (2017). Hypothalamic Inflammation and Energy Balance Disruptions: Spotlight on Chemokines. *Front. Endocrinol.* 8. doi:10.3389/fendo.2017.00197.
- LeDoux, J. (2012). Rethinking the emotional brain. *Neuron* 73, 653–676. doi:10.1016/j.neuron.2012.02.004.

- Leibowitz, S. F., Hammer, N. J., and Chang, K. (1981). Hypothalamic paraventricular nucleus lesions produce overeating and obesity in the rat. *Physiology & Behavior* 27, 1031–1040. doi:10.1016/0031-9384(81)90366-8.
- Leng, R., and Annonson, E. (1963). Metabolism of acetate, propionate and butyrate by sheep-liver slices. *Biochemical Journal* 86, 319–327. doi:10.1042/bj0860319.
- Lepage, P., Butel, M.-J., and Collignon, A. (2017). “Facteurs modulant la composition du microbiote intestinal,” in *Le microbiote intestinal : un organe à part entière* (France: Maud Thévenin), 45–54.
- Lesch, K.-P., and Waider, J. (2012). Serotonin in the modulation of neural plasticity and networks: implications for neurodevelopmental disorders. *Neuron* 76, 175–191. doi:10.1016/j.neuron.2012.09.013.
- Levin, B. E., Dunn-Meynell, A. A., Balkan, B., and Keeseey, R. E. (1997). Selective breeding for diet-induced obesity and resistance in Sprague-Dawley rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 273, R725–R730. doi:10.1152/ajpregu.1997.273.2.R725.
- Levy, M., Bassis, C. M., Kennedy, E., Yoest, K. E., Becker, J. B., Bell, J., et al. (2019). The rodent vaginal microbiome across the estrous cycle and the effect of genital nerve electrical stimulation. *bioRxiv*, 647545. doi:10.1101/647545.
- Ley, R. E., Peterson, D. A., and Gordon, J. I. (2006). Ecological and Evolutionary Forces Shaping Microbial Diversity in the Human Intestine. *Cell* 124, 837–848. doi:10.1016/j.cell.2006.02.017.
- Li, D., Chen, H., Mao, B., Yang, Q., Zhao, J., Gu, Z., et al. (2017). Microbial Biogeography and Core Microbiota of the Rat Digestive Tract. *Sci Rep* 7. doi:10.1038/srep45840.
- Li, J., Jia, H., Cai, X., Zhong, H., Feng, Q., Sunagawa, S., et al. (2014). An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat. Biotechnol.* 32, 834–841. doi:10.1038/nbt.2942.
- Li, J., McCormick, J., Bocking, A., and Reid, G. (2012). Importance of vaginal microbes in reproductive health. *Reprod Sci* 19, 235–242. doi:10.1177/1933719111418379.
- Liberini, C. G., Borner, T., Boyle, C. N., and Lutz, T. A. (2016). The satiating hormone amylin enhances neurogenesis in the area postrema of adult rats. *Mol Metab* 5, 834–843. doi:10.1016/j.molmet.2016.06.015.
- Lin, H. V., Frassetto, A., Jr, E. J. K., Nawrocki, A. R., Lu, M. M., Kosinski, J. R., et al. (2012). Butyrate and Propionate Protect against Diet-Induced Obesity and Regulate Gut Hormones via Free Fatty Acid Receptor 3-Independent Mechanisms. *PLOS ONE* 7, e35240. doi:10.1371/journal.pone.0035240.
- Linden, S. K., Sutton, P., Karlsson, N. G., Korolik, V., and McGuckin, M. A. (2008). Mucins in the mucosal barrier to infection. *Mucosal Immunol* 1, 183–197. doi:10.1038/mi.2008.5.
- Liu, C. M., and Kanoski, S. E. (2018). Homeostatic and non-homeostatic controls of feeding behavior: distinct vs. common neural systems. *Physiol Behav* 193, 223–231. doi:10.1016/j.physbeh.2018.02.011.
- Liu, F., Li, P., Chen, M., Luo, Y., Prabhakar, M., Zheng, H., et al. (2017). Fructooligosaccharide (FOS) and Galactooligosaccharide (GOS) Increase Bifidobacterium but Reduce Butyrate Producing Bacteria with Adverse Glycemic Metabolism in healthy young population. *Sci Rep* 7, 1–12. doi:10.1038/s41598-017-10722-2.
- Liu, H., Hou, C., Li, N., Zhang, X., Zhang, G., Yang, F., et al. (2019). Microbial and metabolic alterations in gut microbiota of sows during pregnancy and lactation. *The FASEB Journal* 33, 4490–4501. doi:10.1096/fj.201801221RR.

- Liu, S., da Cunha, A. P., Rezende, R. M., Cialic, R., Wei, Z., Bry, L., et al. (2016). The Host Shapes the Gut Microbiota via Fecal MicroRNA. *Cell Host & Microbe* 19, 32–43. doi:10.1016/j.chom.2015.12.005.
- Liu, Y., Espinosa, C. D., Abelilla, J. J., Casas, G. A., Lagos, L. V., Lee, S. A., et al. (2018). Non-antibiotic feed additives in diets for pigs: A review. *Anim Nutr* 4, 113–125. doi:10.1016/j.aninu.2018.01.007.
- Llorente, R., O’Shea, E., Gutierrez-Lopez, M. D., Llorente-Berzal, A., Colado, M. I., and Viveros, M.-P. (2010). Sex-dependent maternal deprivation effects on brain monoamine content in adolescent rats. *Neuroscience Letters* 479, 112–117. doi:10.1016/j.neulet.2010.05.039.
- Loh, K., Herzog, H., and Shi, Y.-C. (2015). Regulation of energy homeostasis by the NPY system. *Trends Endocrinol. Metab.* 26, 125–135. doi:10.1016/j.tem.2015.01.003.
- Loonen, L. M. P., Stolte, E. H., Jaklofsky, M. T. J., Meijerink, M., Dekker, J., van Baarlen, P., et al. (2014). REG3 γ -deficient mice have altered mucus distribution and increased mucosal inflammatory responses to the microbiota and enteric pathogens in the ileum. *Mucosal Immunol* 7, 939–947. doi:10.1038/mi.2013.109.
- Loubinoux, J., Bronowicki, J.-P., Pereira, I. A. C., Mougénel, J.-L., and Le Faou, A. E. (2002). Sulfate-reducing bacteria in human feces and their association with inflammatory bowel diseases. *FEMS Microbiol Ecol* 40, 107–112. doi:10.1111/j.1574-6941.2002.tb00942.x.
- Luan, H., Meng, N., Liu, P., Feng, Q., Lin, S., Fu, J., et al. (2014). Pregnancy-induced metabolic phenotype variations in maternal plasma. *J. Proteome Res.* 13, 1527–1536. doi:10.1021/pr401068k.
- Luckey, T. D. (1972). Introduction to intestinal microecology. *Am. J. Clin. Nutr.* 25, 1292–1294. doi:10.1093/ajcn/25.12.1292.
- Luczynski, P., Whelan, S. O., O’Sullivan, C., Clarke, G., Shanahan, F., Dinan, T. G., et al. (2016). Adult microbiota-deficient mice have distinct dendritic morphological changes: differential effects in the amygdala and hippocampus. *Eur. J. Neurosci.* 44, 2654–2666. doi:10.1111/ejn.13291.
- Lund, M. L., Egerod, K. L., Engelstoft, M. S., Dmytriyeva, O., Theodorsson, E., Patel, B. A., et al. (2018). Enterochromaffin 5-HT cells – A major target for GLP-1 and gut microbial metabolites. *Molecular Metabolism* 11, 70–83. doi:10.1016/j.molmet.2018.03.004.
- Luoto, R., Kalliomäki, M., Laitinen, K., and Isolauri, E. (2010). The impact of perinatal probiotic intervention on the development of overweight and obesity: follow-up study from birth to 10 years. *Int J Obes (Lond)* 34, 1531–1537. doi:10.1038/ijo.2010.50.
- Luquet, S. (2005). NPY/AgRP Neurons Are Essential for Feeding in Adult Mice but Can Be Ablated in Neonates. *Science* 310, 683–685. doi:10.1126/science.1115524.
- Lutz, T. A. (2010). The role of amylin in the control of energy homeostasis. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 298, R1475–R1484. doi:10.1152/ajpregu.00703.2009.
- Lutz, T. A. (2012). Control of energy homeostasis by amylin. *Cell. Mol. Life Sci.* 69, 1947–1965. doi:10.1007/s00018-011-0905-1.
- Lutz, T. A., and Le Foll, C. (2019). Endogenous amylin contributes to birth of microglial cells in arcuate nucleus of hypothalamus and area postrema during fetal development. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 316, R791–R801. doi:10.1152/ajpregu.00004.2019.
- Lynch, S. V., and Pedersen, O. (2016). The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. *New England Journal of Medicine* 375, 2369–2379. doi:10.1056/NEJMra1600266.

- M -

- MacIntyre, D. A., Chandiramani, M., Lee, Y. S., Kindinger, L., Smith, A., Angelopoulos, N., et al. (2015). The vaginal microbiome during pregnancy and the postpartum period in a European population. *Sci Rep* 5. doi:10.1038/srep08988.
- Macklaim, J. M., Clemente, J. C., Knight, R., Gloor, G. B., and Reid, G. (2015). Changes in vaginal microbiota following antimicrobial and probiotic therapy. *Microb Ecol Health Dis* 26. doi:10.3402/mehd.v26.27799.
- Macpherson, A. J., and Uhr, T. (2004). Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science* 303, 1662–1665. doi:10.1126/science.1091334.
- Malik, S., McGlone, F., Bedrossian, D., and Dagher, A. (2008). Ghrelin modulates brain activity in areas that control appetitive behavior. *Cell Metab.* 7, 400–409. doi:10.1016/j.cmet.2008.03.007.
- Mann, P. E., Huynh, K., and Widmer, G. (2017). Maternal high fat diet and its consequence on the gut microbiome: A rat model. *Gut Microbes* 9, 143–154. doi:10.1080/19490976.2017.1395122.
- Mantzoros, C. S., Rifas-Shiman, S. L., Williams, C. J., Fargnoli, J. L., Kelesidis, T., and Gillman, M. W. (2009). Cord Blood Leptin and Adiponectin as Predictors of Adiposity in Children at 3 Years of Age: A Prospective Cohort Study. *Pediatrics* 123, 682–689. doi:10.1542/peds.2008-0343.
- Marciano, J. J., Fiol, F. de S. D., Ferreira, A. C. M. T., Marques, M. C., Santana, L. L., Marciano, J. J., et al. (2017). Changes in weight and body fat after use of tetracycline and *Lactobacillus gasseri* in rats. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 53. doi:10.1590/s2175-97902017000116059.
- Markewicz, B., Kuhmichel, G., and Schmidt, I. (1993). Onset of excess fat deposition in Zucker rats with and without decreased thermogenesis. *Am. J. Physiol.* 265, E478-486. doi:10.1152/ajpendo.1993.265.3.E478.
- Markowiak, P., and Śliżewska, K. (2018). The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. *Gut Pathog* 10. doi:10.1186/s13099-018-0250-0.
- Marteau, P. (2017). “Probiotiques,” in *Le microbiote intestinal : un organe à part entière* (France: Maud Thévenin), 291–304.
- Marteau, P., and Doré, J. (2017). *Le microbiote intestinal: un organe à part entière*. France: John Libbey Eurotext.
- Marteau, P., Pochart, P., Doré, J., Béra-Maillet, C., Bernalier, A., and Corthier, G. (2001). Comparative Study of Bacterial Groups within the Human Cecal and Fecal Microbiota. *Appl Environ Microbiol* 67, 4939–4942. doi:10.1128/AEM.67.10.4939-4942.2001.
- Marteau, P., and Shanahan, F. (2003). Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 17, 725–740.
- Martin, A. M., Lumsden, A. L., Young, R. L., Jessup, C. F., Spencer, N. J., and Keating, D. J. (2017a). The nutrient-sensing repertoires of mouse enterochromaffin cells differ between duodenum and colon. *Neurogastroenterology & Motility* 29, e13046. doi:10.1111/nmo.13046.
- Martin, A. M., Sun, E. W., Rogers, G. B., and Keating, D. J. (2019). The Influence of the Gut Microbiome on Host Metabolism Through the Regulation of Gut Hormone Release. *Front Physiol* 10. doi:10.3389/fphys.2019.00428.
- Martin, A. M., Young, R. L., Leong, L., Rogers, G. B., Spencer, N. J., Jessup, C. F., et al. (2017b). The Diverse Metabolic Roles of Peripheral Serotonin. *Endocrinology* 158, 1049–1063. doi:10.1210/en.2016-1839.

- Martín, R., Heilig, H. G. H. J., Zoetendal, Erwin. G., Jiménez, E., Fernández, L., Smidt, H., et al. (2007). Cultivation-independent assessment of the bacterial diversity of breast milk among healthy women. *Research in Microbiology* 158, 31–37. doi:10.1016/j.resmic.2006.11.004.
- Martín, R., Langa, S., Reviriego, C., Jiménez, E., Marín, M. L., Xaus, J., et al. (2003). Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J. Pediatr.* 143, 754–758. doi:10.1016/j.jpeds.2003.09.028.
- Martin, R., Makino, H., Cetinyurek Yavuz, A., Ben-Amor, K., Roelofs, M., Ishikawa, E., et al. (2016). Early-Life Events, Including Mode of Delivery and Type of Feeding, Siblings and Gender, Shape the Developing Gut Microbiota. *PLoS ONE* 11, e0158498. doi:10.1371/journal.pone.0158498.
- Martinez, K. A., Devlin, J. C., Lacher, C. R., Yin, Y., Cai, Y., Wang, J., et al. (2017). Increased weight gain by C-section: Functional significance of the primordial microbiome. *Science Advances* 3, eaao1874. doi:10.1126/sciadv.aao1874.
- Martin-Gallausiaux, C., Lapaque, N., and Blottière, H. (2017). “Microbiote intestinale et système immunitaire,” in *Le microbiote intestinal : un organe à part entière* (France: Maud Thévenin), 73–84.
- Matsumoto, M., Kibe, R., Ooga, T., Aiba, Y., Sawaki, E., Koga, Y., et al. (2013). Cerebral low-molecular metabolites influenced by intestinal microbiota: a pilot study. *Front Syst Neurosci* 7, 9. doi:10.3389/fnsys.2013.00009.
- Mayer, B. T., Srinivasan, S., Fiedler, T. L., Marrazzo, J. M., Fredricks, D. N., and Schiffer, J. T. (2015). Rapid and Profound Shifts in the Vaginal Microbiota Following Antibiotic Treatment for Bacterial Vaginosis. *J Infect Dis* 212, 793–802. doi:10.1093/infdis/jiv079.
- McCarthy, M., Turnbull, D. H., Walsh, C. A., and Fishell, G. (2001). Telencephalic Neural Progenitors Appear To Be Restricted to Regional and Glial Fates before the Onset of Neurogenesis. *J. Neurosci.* 21, 6772–6781. doi:10.1523/JNEUROSCI.21-17-06772.2001.
- McDowell, J., and Kitchen, I. (1987). Development of opioid systems: peptides, receptors and pharmacology. *Brain Res.* 434, 397–421. doi:10.1016/0165-0173(87)90006-3.
- McFarland, L. V., Evans, C. T., and Goldstein, E. J. C. (2018). Strain-Specificity and Disease-Specificity of Probiotic Efficacy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Med (Lausanne)* 5, 124. doi:10.3389/fmed.2018.00124.
- McGuire, M. K., Meehan, C. L., McGuire, M. A., Williams, J. E., Foster, J., Sellen, D. W., et al. (2017). What’s normal? Oligosaccharide concentrations and profiles in milk produced by healthy women vary geographically. *Am. J. Clin. Nutr.* 105, 1086–1100. doi:10.3945/ajcn.116.139980.
- McMillin, M., and DeMorrow, S. (2016). Effects of bile acids on neurological function and disease. *FASEB J* 30, 3658–3668. doi:10.1096/fj.201600275R.
- McNay, D. E. G., Pelling, M., Claxton, S., Guillemot, F., and Ang, S.-L. (2006). Mash1 Is Required for Generic and Subtype Differentiation of Hypothalamic Neuroendocrine Cells. *Mol Endocrinol* 20, 1623–1632. doi:10.1210/me.2005-0518.
- Meierfrankenfeld, B., Abelenda, M., Jauker, H., Klingenspor, M., Kershaw, E. E., Chua, S. C., et al. (1996). Perinatal energy stores and excessive fat deposition in genetically obese (fa/fa) rats. *Am. J. Physiol.* 270, E700-708. doi:10.1152/ajpendo.1996.270.4.E700.
- Melnick, I., Pronchuk, N., Cowley, M. A., Grove, K. L., and Colmers, W. F. (2007). Developmental Switch in Neuropeptide Y and Melanocortin Effects in the Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus. *Neuron* 56, 1103–1115. doi:10.1016/j.neuron.2007.10.034.

- Mendling, W. (2016). “Vaginal Microbiota,” in *Microbiota of the Human Body*, ed. A. Schwartz (Cham: Springer International Publishing), 83–93. doi:10.1007/978-3-319-31248-4_6.
- Meyer, D. M., Brei, C., Stecher, L., Much, D., Brunner, S., and Hauner, H. (2018). Leptin in Maternal Plasma and Cord Blood as a Predictor of Offspring Adiposity at 5 Years: A Follow-up Study. *Obesity (Silver Spring)* 26, 279–283. doi:10.1002/oby.22037.
- Meyer, U. (2014). Prenatal poly(i:C) exposure and other developmental immune activation models in rodent systems. *Biol. Psychiatry* 75, 307–315. doi:10.1016/j.biopsych.2013.07.011.
- Meyer, U., Feldon, J., and Fatemi, S. H. (2009). In-vivo rodent models for the experimental investigation of prenatal immune activation effects in neurodevelopmental brain disorders. *Neurosci Biobehav Rev* 33, 1061–1079. doi:10.1016/j.neubiorev.2009.05.001.
- Miao, R.-X., Zhu, X.-X., Wan, C.-M., Wang, Z.-L., Wen, Y., and Li, Y.-Y. (2018). Effect of *Clostridium butyricum* supplementation on the development of intestinal flora and the immune system of neonatal mice. *Experimental and Therapeutic Medicine* 15, 1081–1086. doi:10.3892/etm.2017.5461.
- Michalikova, S., van Rensburg, R., Chazot, P. L., and Ennaceur, A. (2010). Anxiety responses in Balb/c, c57 and CD-1 mice exposed to a novel open space test. *Behavioural Brain Research* 207, 402–417. doi:10.1016/j.bbr.2009.10.028.
- Micheva, K. D., and Beaulieu, C. (1996). Quantitative aspects of synaptogenesis in the rat barrel field cortex with special reference to GABA circuitry. *J. Comp. Neurol.* 373, 340–354. doi:10.1002/(SICI)1096-9861(19960923)373:3<340::AID-CNE3>3.0.CO;2-2.
- Mietlicki-Baase, E. G., Reiner, D. J., Cone, J. J., Olivos, D. R., McGrath, L. E., Zimmer, D. J., et al. (2015). Amylin modulates the mesolimbic dopamine system to control energy balance. *Neuropsychopharmacology* 40, 372–385. doi:10.1038/npp.2014.180.
- Migrenne, S., Le Foll, C., Levin, B. E., and Magnan, C. (2011). Brain lipid sensing and nervous control of energy balance. *Diabetes & Metabolism* 37, 83–88. doi:10.1016/j.diabet.2010.11.001.
- Mikkelsen, K. H., Frost, M., Bahl, M. I., Licht, T. R., Jensen, U. S., Rosenberg, J., et al. (2015). Effect of Antibiotics on Gut Microbiota, Gut Hormones and Glucose Metabolism. *PLoS One* 10. doi:10.1371/journal.pone.0142352.
- Milani, C., Duranti, S., Bottacini, F., Casey, E., Turrone, F., Mahony, J., et al. (2017). The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 81, e00036-17, /mmbbr/81/4/e00036-17.atom. doi:10.1128/MMBR.00036-17.
- Miller, F. D., and Gauthier, A. S. (2007). Timing Is Everything: Making Neurons versus Glia in the Developing Cortex. *Neuron* 54, 357–369. doi:10.1016/j.neuron.2007.04.019.
- Miller, P. G., Bonn, M. B., Franklin, C. L., Ericsson, A. C., and McKarns, S. C. (2015). TNFR2 Deficiency Acts in Concert with Gut Microbiota To Precipitate Spontaneous Sex-Biased Central Nervous System Demyelinating Autoimmune Disease. *The Journal of Immunology* 195, 4668–4684. doi:10.4049/jimmunol.1501664.
- Mistry, A. M., Swick, A., and Romsos, D. R. (1999). Leptin alters metabolic rates before acquisition of its anorectic effect in developing neonatal mice. *Am. J. Physiol.* 277, R742-747. doi:10.1152/ajpregu.1999.277.3.R742.
- Mogenson, G. J., and Stevenson, J. A. (1967). Drinking induced by electrical stimulation of the lateral hypothalamus. *Exp. Neurol.* 17, 119–127. doi:10.1016/0014-4886(67)90139-2.
- Mohajeri, M. H., La Fata, G., Steinert, R. E., and Weber, P. (2018). Relationship between the gut microbiome and brain function. *Nutr Rev* 76, 481–496. doi:10.1093/nutrit/nuy009.

- Möhle, L., Mattei, D., Heimesaat, M. M., Bereswill, S., Fischer, A., Alutis, M., et al. (2016). Ly6C(hi) Monocytes Provide a Link between Antibiotic-Induced Changes in Gut Microbiota and Adult Hippocampal Neurogenesis. *Cell Rep* 15, 1945–1956. doi:10.1016/j.celrep.2016.04.074.
- Molinero, N., Ruiz, L., Sánchez, B., Margolles, A., and Delgado, S. (2019). Intestinal Bacteria Interplay With Bile and Cholesterol Metabolism: Implications on Host Physiology. *Front. Physiol.* 10. doi:10.3389/fphys.2019.00185.
- Moossavi, S., Miliku, K., Sepehri, S., Khafipour, E., and Azad, M. B. (2018). The Prebiotic and Probiotic Properties of Human Milk: Implications for Infant Immune Development and Pediatric Asthma. *Front Pediatr* 6. doi:10.3389/fped.2018.00197.
- Moossavi, S., Sepehri, S., Robertson, B., Bode, L., Goruk, S., Field, C. J., et al. (2019). Composition and Variation of the Human Milk Microbiota Are Influenced by Maternal and Early-Life Factors. *Cell Host & Microbe* 25, 324–335.e4. doi:10.1016/j.chom.2019.01.011.
- Morales, M., and Margolis, E. B. (2017). Ventral tegmental area: cellular heterogeneity, connectivity and behaviour. *Nat. Rev. Neurosci.* 18, 73–85. doi:10.1038/nrn.2016.165.
- Morari, J., Anhe, G. F., Nascimento, L. F., de Moura, R. F., Razolli, D., Solon, C., et al. (2014). Fractalkine (CX3CL1) is involved in the early activation of hypothalamic inflammation in experimental obesity. *Diabetes* 63, 3770–3784. doi:10.2337/db13-1495.
- Morel, F. (2012). Chez le rat, la consommation de certains oligosaccharides avant le sevrage programme la composition corporelle, indépendamment d'un formatage du microbiote intestinal. Available at: <https://www.theses.fr/2012NANT40VS> [Accessed October 19, 2019].
- Morel, F. B., Dai, Q., Ni, J., Thomas, D., Parnet, P., and Faça-Berthon, P. (2015a). α -Galactooligosaccharides Dose-Dependently Reduce Appetite and Decrease Inflammation in Overweight Adults. *J. Nutr.* 145, 2052–2059. doi:10.3945/jn.114.204909.
- Morel, F. B., Oozer, R., Piloquet, H., Moyon, T., Pagniez, A., Knol, J., et al. (2015b). Prewaning modulation of intestinal microbiota by oligosaccharides or amoxicillin can contribute to programming of adult microbiota in rats. *Nutrition* 31, 515–522. doi:10.1016/j.nut.2014.09.011.
- Morelli, L., Zonenenschain, D., Del Piano, M., and Cognein, P. (2004). Utilization of the Intestinal Tract as a Delivery System for Urogenital Probiotics: *Journal of Clinical Gastroenterology* 38, S107–S110. doi:10.1097/01.mcg.0000128938.32835.98.
- Morton, G. J., Blevins, J. E., Williams, D. L., Niswender, K. D., Gelling, R. W., Rhodes, C. J., et al. (2005). Leptin action in the forebrain regulates the hindbrain response to satiety signals. *J. Clin. Invest.* 115, 703–710. doi:10.1172/JCI200522081.
- Mounien, L., Marty, N., Tarussio, D., Metref, S., Genoux, D., Preitner, F., et al. (2010). Glut2-dependent glucose-sensing controls thermoregulation by enhancing the leptin sensitivity of NPY and POMC neurons. *FASEB J.* 24, 1747–1758. doi:10.1096/fj.09-144923.
- Mueller, N. T., Whyatt, R., Hoepner, L., Oberfield, S., Dominguez-Bello, M. G., Widen, E. M., et al. (2015). Prenatal exposure to antibiotics, cesarean section and risk of childhood obesity. *Int J Obes* 39, 665–670. doi:10.1038/ijo.2014.180.
- Murphy, M. G., and Condon, S. (1984). Comparison of aerobic and anaerobic growth of *Lactobacillus plantarum* in a glucose medium. *Arch. Microbiol.* 138, 49–53. doi:10.1007/BF00425406.
- Muzi, L., Tieghi, L., Rugo, M. A., and Lingiardi, V. (2019). Evaluating empirically valid and clinically meaningful change in intensive residential treatment for severe eating disorders at discharge and at a 6-month follow-up. *Eat Weight Disord.* doi:10.1007/s40519-019-00798-2.

- Myers, K. P., Ferris, J., and Sclafani, A. (2005). Flavor preferences conditioned by postingestive effects of nutrients in preweanling rats. *Physiol. Behav.* 84, 407–419. doi:10.1016/j.physbeh.2005.01.001.
- Myers, K. P., and Sclafani, A. (2006). Development of learned flavor preferences. *Dev Psychobiol* 48, 380–388. doi:10.1002/dev.20147.

- N -

- Naef, L., Gjerde, E., Long, H., Richard, D., and Walker, C.-D. (2014). Neonatal Onset of Leptin Signalling in Dopamine Neurones of The Ventral Tegmental Area in The Rat. *Journal of Neuroendocrinology* 26, 835–843. doi:10.1111/jne.12221.
- Nakahara, K., Nakagawa, M., Baba, Y., Sato, M., Toshinai, K., Date, Y., et al. (2006). Maternal ghrelin plays an important role in rat fetal development during pregnancy. *Endocrinology* 147, 1333–1342. doi:10.1210/en.2005-0708.
- Nakajima, A., Vogelzang, A., Maruya, M., Miyajima, M., Murata, M., Son, A., et al. (2018). IgA regulates the composition and metabolic function of gut microbiota by promoting symbiosis between bacteria. *Journal of Experimental Medicine* 215, 2019–2034. doi:10.1084/jem.20180427.
- Nava, G. M., Friedrichsen, H. J., and Stappenbeck, T. S. (2011). Spatial organization of intestinal microbiota in the mouse ascending colon. *ISME J* 5, 627–638. doi:10.1038/ismej.2010.161.
- Neufeld, K. M., Kang, N., Bienenstock, J., and Foster, J. A. (2011). Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice: Behavior in germ-free mice. *Neurogastroenterology & Motility* 23, 255–e119. doi:10.1111/j.1365-2982.2010.01620.x.
- Neumann, E., Vieira, L. Q., and Nicoli, J. R. (2019). “Chapter 1 - Germ-Free Animals as a Tool to Study Indigenous Microbiota,” in *Microbiome and Metabolome in Diagnosis, Therapy, and other Strategic Applications*, eds. J. Faintuch and S. Faintuch (Academic Press), 3–11. doi:10.1016/B978-0-12-815249-2.00001-4.
- Nilsson, C., Swolin-Eide, D., Ohlsson, C., Eriksson, E., Ho, H.-P., Björntorp, P., et al. (2003). Reductions in adipose tissue and skeletal growth in rat adult offspring after prenatal leptin exposure. *J. Endocrinol.* 176, 13–21. doi:10.1677/joe.0.1760013.
- Nishino, R., Mikami, K., Takahashi, H., Tomonaga, S., Furuse, M., Hiramoto, T., et al. (2013). Commensal microbiota modulate murine behaviors in a strictly contamination-free environment confirmed by culture-based methods. *Neurogastroenterology & Motility* 25, 521–e371. doi:10.1111/nmo.12110.
- Nishiyama, A., Yang, Z., and Butt, A. (2005). Astrocytes and NG2-glia: what’s in a name? *J Anat* 207, 687–693. doi:10.1111/j.1469-7580.2005.00489.x.
- Nøhr, M. K., Egerod, K. L., Christiansen, S. H., Gille, A., Offermanns, S., Schwartz, T. W., et al. (2015). Expression of the short chain fatty acid receptor GPR41/FFAR3 in autonomic and somatic sensory ganglia. *Neuroscience* 290, 126–137. doi:10.1016/j.neuroscience.2015.01.040.
- Norwitz, E. R., and Greenberg, J. A. (2009). Antibiotics in Pregnancy: Are They Safe? *Rev Obstet Gynecol* 2, 135–136.

- O -

- Odamaki, T., Kato, K., Sugahara, H., Xiao, J. z., Abe, F., and Benno, Y. (2016). Effect of probiotic yoghurt on animal-based diet-induced change in gut microbiota: an open, randomised, parallel-group study. *Beneficial Microbes* 7, 473–484. doi:10.3920/BM2015.0173.
- Ogawa, H., Hasegawa, K., Ohgushi, M., and Murayama, N. (1994). Changes in properties of neuronal responses in two cortical taste areas in rats of various ages. *Neuroscience Research* 19, 407–417. doi:10.1016/0168-0102(94)90082-5.
- O’Hare, J. D., and Zsombok, A. (2016). Brain-liver connections: role of the preautonomic PVN neurons. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 310, E183–E189. doi:10.1152/ajpendo.00302.2015.
- Ohland, C. L., Kish, L., Bell, H., Thiesen, A., Hotte, N., Pankiv, E., et al. (2013). Effects of *Lactobacillus helveticus* on murine behavior are dependent on diet and genotype and correlate with alterations in the gut microbiome. *Psychoneuroendocrinology* 38, 1738–1747. doi:10.1016/j.psyneuen.2013.02.008.
- Ohland, C. L., and Macnaughton, W. K. (2010). Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 298, G807-819. doi:10.1152/ajpgi.00243.2009.
- Oldstone, M. B. A. (2005). Molecular mimicry, microbial infection, and autoimmune disease: evolution of the concept. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 296, 1–17. doi:10.1007/3-540-30791-5_1.
- Olivares, M., Walker, A. W., Capilla, A., Benítez-Páez, A., Palau, F., Parkhill, J., et al. (2018). Gut microbiota trajectory in early life may predict development of celiac disease. *Microbiome* 6, 36. doi:10.1186/s40168-018-0415-6.
- Ollmann, M. M., Wilson, B. D., Yang, Y.-K., Kerns, J. A., Chen, Y., Gantz, I., et al. (1997). Antagonism of Central Melanocortin Receptors in Vitro and in Vivo by Agouti-Related Protein. *Science* 278, 135–138. doi:10.1126/science.278.5335.135.
- O’Mahony, C. M., Sweeney, F. F., Daly, E., Dinan, T. G., and Cryan, J. F. (2010). Restraint stress-induced brain activation patterns in two strains of mice differing in their anxiety behaviour. *Behavioural Brain Research* 213, 148–154. doi:10.1016/j.bbr.2010.04.038.
- Ono, H. (2019). Molecular Mechanisms of Hypothalamic Insulin Resistance. *Int J Mol Sci* 20. doi:10.3390/ijms20061317.
- Overduin, J., Schoterman, M. H. C., Calame, W., Schonewille, A. J., and Ten Bruggencate, S. J. M. (2013). Dietary galacto-oligosaccharides and calcium: effects on energy intake, fat-pad weight and satiety-related, gastrointestinal hormones in rats. *Br. J. Nutr.* 109, 1338–1348. doi:10.1017/S0007114512003066.

- P -

- Pablo, F. D., Alarcon, C., Diaz, B., Lacoba, M. G.-D., Lopez-Carranza, A., Morales, A. V., et al. (2001). Complementary roles of the insulin family of factors and receptors in early development and neurogenesis. *Int. J. Dev. Biol.* 40, S109–S110. doi:10.1387/ijdb.9087719.
- Padilla, S. L., Reef, D., and Zeltser, L. M. (2012). Defining POMC Neurons Using Transgenic Reagents: Impact of Transient *Pomc* Expression in Diverse Immature Neuronal Populations. *Endocrinology* 153, 1219–1231. doi:10.1210/en.2011-1665.

- Palatianou, M. E., Simos, Y. V., Andronikou, S. K., and Kiortsis, D. N. (2014). Long-term metabolic effects of high birth weight: a critical review of the literature. *Horm. Metab. Res.* 46, 911–920. doi:10.1055/s-0034-1395561.
- Panaro, B. L., Tough, I. R., Engelstoft, M. S., Matthews, R. T., Digby, G. J., Møller, C. L., et al. (2014). The Melanocortin-4 Receptor is Expressed in Enteroendocrine L Cells and Regulates the Release of Peptide YY and Glucagon-Like Peptide 1 In Vivo. *Cell Metab* 20, 1018–1029. doi:10.1016/j.cmet.2014.10.004.
- Paradis, J., Boureau, P., Moyon, T., Nicklaus, S., Parnet, P., and Paillé, V. (2017). Perinatal Western Diet Consumption Leads to Profound Plasticity and GABAergic Phenotype Changes within Hypothalamus and Reward Pathway from Birth to Sexual Maturity in Rat. *Front Endocrinol (Lausanne)* 8. doi:10.3389/fendo.2017.00216.
- Parent, A. (1996). *Carpenter's Human Neuroanatomy*. Williams & Wilkins.
- Park, D.-Y., Ahn, Y.-T., Park, S.-H., Huh, C.-S., Yoo, S.-R., Yu, R., et al. (2013). Supplementation of *Lactobacillus curvatus* HY7601 and *Lactobacillus plantarum* KY1032 in Diet-Induced Obese Mice Is Associated with Gut Microbial Changes and Reduction in Obesity. *PLOS ONE* 8, e59470. doi:10.1371/journal.pone.0059470.
- Parnell, J. A., and Reimer, R. A. (2012). Prebiotic fibres dose-dependently increase satiety hormones and alter Bacteroidetes and Firmicutes in lean and obese JCR:LA-cp rats. *Br. J. Nutr.* 107, 601–613. doi:10.1017/S0007114511003163.
- Pasold, T. L., McCracken, A., and Ward-Begnoche, W. L. (2014). Binge eating in obese adolescents: emotional and behavioral characteristics and impact on health-related quality of life. *Clin Child Psychol Psychiatry* 19, 299–312. doi:10.1177/1359104513488605.
- Peciña, S., and Berridge, K. C. (2005). Hedonic Hot Spot in Nucleus Accumbens Shell: Where Do μ -Opioids Cause Increased Hedonic Impact of Sweetness? *J. Neurosci.* 25, 11777–11786. doi:10.1523/JNEUROSCI.2329-05.2005.
- Peciña, S., and Berridge, K. C. (2013). Dopamine or opioid stimulation of nucleus accumbens similarly amplify cue-triggered ‘wanting’ for reward: entire core and medial shell mapped as substrates for PIT enhancement. *Eur J Neurosci* 37, 1529–1540. doi:10.1111/ejn.12174.
- Pedersen, C., Lefevre, S., Peters, V., Patterson, M., Ghatei, M. A., Morgan, L. M., et al. (2013). Gut hormone release and appetite regulation in healthy non-obese participants following oligofructose intake. A dose-escalation study. *Appetite* 66, 44–53. doi:10.1016/j.appet.2013.02.017.
- Pelling, M., Anthwal, N., McNay, D., Gradwohl, G., Leiter, A. B., Guillemot, F., et al. (2011). Differential requirements for neurogenin 3 in the development of POMC and NPY neurons in the hypothalamus. *Developmental Biology* 349, 406–416. doi:10.1016/j.ydbio.2010.11.007.
- Perez, P. F., Doré, J., Leclerc, M., Levenez, F., Benyacoub, J., Serrant, P., et al. (2007). Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? *Pediatrics* 119, e724–732. doi:10.1542/peds.2006-1649.
- Perez-Muñoz, M. E., Arrieta, M.-C., Ramer-Tait, A. E., and Walter, J. (2017). A critical assessment of the “sterile womb” and “in utero colonization” hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome* 5, 48. doi:10.1186/s40168-017-0268-4.
- Petherick, A. (2010). Development: Mother’s milk: A rich opportunity. *Nature* 468, S5–7. doi:10.1038/468S5a.
- Pfrieger, F. W., and Barres, B. A. (1995). What the fly’s glia tell the fly’s brain. *Cell* 83, 671–674. doi:10.1016/0092-8674(95)90178-7.

- Phifer, C. B., Browed, J. A., and Hall, W. G. (1986). Ontogeny of glucose inhibition of independent ingestion in preweanling rats. *Brain Research Bulletin* 17, 673–679. doi:10.1016/0361-9230(86)90199-1.
- Philopena, J., Greenberg, D., and Smith, G. P. (1996). Naloxone decreases intake of 10% sucrose in preweanling rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 54, 333–337. doi:10.1016/0091-3057(95)02140-x.
- Piao, H., Hosoda, H., Kangawa, K., Murata, T., Narita, K., and Higuchi, T. (2008). Ghrelin Stimulates Milk Intake by Affecting Adult Type Feeding Behaviour in Postnatal Rats. *Journal of Neuroendocrinology* 20, 330–334. doi:10.1111/j.1365-2826.2007.01644.x.
- Pignatelli, M., and Bonci, A. (2015). Role of Dopamine Neurons in Reward and Aversion: A Synaptic Plasticity Perspective. *Neuron* 86, 1145–1157. doi:10.1016/j.neuron.2015.04.015.
- Pingitore, A., Chambers, E. S., Hill, T., Maldonado, I. R., Liu, B., Bewick, G., et al. (2017). The diet-derived short chain fatty acid propionate improves beta-cell function in humans and stimulates insulin secretion from human islets in vitro. *Diabetes Obes Metab* 19, 257–265. doi:10.1111/dom.12811.
- Plagemann, A., Harder, T., Janert, U., Rake, A., Rittel, F., Rohde, W., et al. (1999a). Malformations of hypothalamic nuclei in hyperinsulinemic offspring of rats with gestational diabetes. *Dev. Neurosci.* 21, 58–67. doi:10.1159/000017367.
- Plagemann, A., Harder, T., Rake, A., Janert, U., Melchior, K., Rohde, W., et al. (1999b). Morphological alterations of hypothalamic nuclei due to intrahypothalamic hyperinsulinism in newborn rats. *Int. J. Dev. Neurosci.* 17, 37–44. doi:10.1016/s0736-5748(98)00064-1.
- Plagemann, A., Heidrich, I., Götz, F., Rohde, W., and Dörner, G. (1992). Lifelong enhanced diabetes susceptibility and obesity after temporary intrahypothalamic hyperinsulinism during brain organization. *Exp. Clin. Endocrinol.* 99, 91–95. doi:10.1055/s-0029-1211143.
- Plata-Salamán, C. R., and Borkoski, J. P. (1994). Chemokines/intercrines and central regulation of feeding. *Am. J. Physiol.* 266, R1711-1715. doi:10.1152/ajpregu.1994.266.5.R1711.
- Priyadarshini, M., Thomas, A., Alexandra, A. C., Scholtens, D. M., Wolever, T. M. S., Josefson, J. L., et al. (2014). Maternal short-chain fatty acids are associated with metabolic parameters in mothers and newborns. *Transl Res* 164, 153–157. doi:10.1016/j.trsl.2014.01.012.
- Proulx, K., Richard, D., and Walker, C.-D. (2002). Leptin regulates appetite-related neuropeptides in the hypothalamus of developing rats without affecting food intake. *Endocrinology* 143, 4683–4692. doi:10.1210/en.2002-220593.

- Q -

- Qian, S., Chen, H., Weingarth, D., Trumbauer, M. E., Novi, D. E., Guan, X., et al. (2002). Neither Agouti-Related Protein nor Neuropeptide Y Is Critically Required for the Regulation of Energy Homeostasis in Mice. *Mol Cell Biol* 22, 5027–5035. doi:10.1128/MCB.22.14.5027-5035.2002.
- Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., Manichanh, C., et al. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 464, 59–65. doi:10.1038/nature08821.
- Qin, J., Li, Y., Cai, Z., Li, S., Zhu, J., Zhang, F., et al. (2012). A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 490, 55–60. doi:10.1038/nature11450.

Quinton, P. M. (2010). Role of epithelial HCO₃⁻ transport in mucin secretion: lessons from cystic fibrosis. *Am J Physiol Cell Physiol* 299, C1222–C1233. doi:10.1152/ajpcell.00362.2010.

- R -

- Rabot, S., Membrez, M., Blancher, F., Berger, B., Moine, D., Krause, L., et al. (2016). High fat diet drives obesity regardless the composition of gut microbiota in mice. *Sci Rep* 6. doi:10.1038/srep32484.
- Raeuuri, A., Haukka, J., Vaarala, O., Suvisaari, J. M., Gissler, M., Grainger, M., et al. (2014). The Increased Risk for Autoimmune Diseases in Patients with Eating Disorders. *PLOS ONE* 9, e104845. doi:10.1371/journal.pone.0104845.
- Rautava, S. (2016). Early microbial contact, the breast milk microbiome and child health. *J Dev Orig Health Dis* 7, 5–14. doi:10.1017/S2040174415001233.
- Ravel, J., Gajer, P., Abdo, Z., Schneider, G. M., Koenig, S. S. K., McCulle, S. L., et al. (2011). Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 4680–4687. doi:10.1073/pnas.1002611107.
- Ravelli, G. P., Stein, Z. A., and Susser, M. W. (1976). Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. *N. Engl. J. Med.* 295, 349–353. doi:10.1056/NEJM197608122950701.
- Reid, G. (2018). Has knowledge of the vaginal microbiome altered approaches to health and disease? *F1000Res* 7. doi:10.12688/f1000research.13706.1.
- Reid, G., Bruce, A. W., Fraser, N., Heinemann, C., Owen, J., and Henning, B. (2001). Oral probiotics can resolve urogenital infections. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 30, 49–52. doi:10.1111/j.1574-695X.2001.tb01549.x.
- Reid, G., Charbonneau, D., Erb, J., Kochanowski, B., Beuerman, D., Poehner, R., et al. (2003). Oral use of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *L. fermentum* RC-14 significantly alters vaginal flora: randomized, placebo-controlled trial in 64 healthy women. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 35, 131–134. doi:10.1016/S0928-8244(02)00465-0.
- Reimer, R. A., Willis, H. J., Tunnicliffe, J. M., Park, H., Madsen, K. L., and Soto-Vaca, A. (2017). Inulin-type fructans and whey protein both modulate appetite but only fructans alter gut microbiota in adults with overweight/obesity: A randomized controlled trial. *Mol Nutr Food Res* 61. doi:10.1002/mnfr.201700484.
- Renquist, B. J., Lippert, R., Sebag, J. A., Ellacott, K. L. J., and Cone, R. D. (2011). Physiological roles of the melanocortin MC3 receptor. *Eur J Pharmacol* 660, 13–20. doi:10.1016/j.ejphar.2010.12.025.
- Rescigno, M., Urbano, M., Valzasina, B., Francolini, M., Rotta, G., Bonasio, R., et al. (2001). Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nature Immunology* 2, 361–367. doi:10.1038/86373.
- Reviriego, C., Eaton, T., Martín, R., Jiménez, E., Fernández, L., Gasson, M. J., et al. (2005). Screening of virulence determinants in *Enterococcus faecium* strains isolated from breast milk. *J Hum Lact* 21, 131–137. doi:10.1177/0890334405275394.
- Riccio, O., Potter, G., Walzer, C., Vallet, P., Szabó, G., Vutskits, L., et al. (2009). Excess of serotonin affects embryonic interneuron migration through activation of the serotonin receptor 6. *Mol. Psychiatry* 14, 280–290. doi:10.1038/mp.2008.89.
- Ridaura, V. K., Faith, J. J., Rey, F. E., Cheng, J., Duncan, A. E., Kau, A. L., et al. (2013). Cultured gut microbiota from twins discordant for obesity modulate adiposity and metabolic phenotypes in mice. *Science* 341. doi:10.1126/science.1241214.

- Ridlon, J. M., Kang, D.-J., and Hylemon, P. B. (2010). Isolation and Characterization of a Bile Acid Inducible 7α -dehydroxylating operon in *Clostridium hylemonae* TN271. *Anaerobe* 16, 137–146. doi:10.1016/j.anaerobe.2009.05.004.
- Rinaman, L. (2001). Postnatal development of catecholamine inputs to the paraventricular nucleus of the hypothalamus in rats. *Journal of Comparative Neurology* 438, 411–422. doi:10.1002/cne.1324.
- Rinaman, L. (2006). Ontogeny of hypothalamic-hindbrain feeding control circuits. *Developmental Psychobiology* 48, 389–396. doi:10.1002/dev.20146.
- Rinaman, L., Hoffman, G. E., Stricker, E. M., and Verbalis, J. G. (1994). Exogenous cholecystokinin activates cFos expression in medullary but not hypothalamic neurons in neonatal rats. *Developmental Brain Research* 77, 140–145. doi:10.1016/0165-3806(94)90222-4.
- Rinaman, L., and Levitt, P. (1993). Establishment of vagal sensorimotor circuits during fetal development in rats. *J. Neurobiol.* 24, 641–659. doi:10.1002/neu.480240509.
- Rinaman, L., Roesch, M. R., and Card, J. P. (1999). Retrograde transsynaptic pseudorabies virus infection of central autonomic circuits in neonatal rats. *Developmental Brain Research* 114, 207–216. doi:10.1016/S0165-3806(99)00039-5.
- Ringel-Kulka, T., Cheng, J., Ringel, Y., Salojärvi, J., Carroll, I., Palva, A., et al. (2013). Intestinal microbiota in healthy U.S. young children and adults--a high throughput microarray analysis. *PLoS ONE* 8, e64315. doi:10.1371/journal.pone.0064315.
- Rios, M. (2013). BDNF and the central control of feeding: Accidental bystander or essential player? *Trends Neurosci* 36, 83–90. doi:10.1016/j.tins.2012.12.009.
- Rizkalla, S., and Doré, J. (2017). “Modulation nutritionnelle du microbiote intestinal,” in *Le microbiote intestinal : un organe à part entière* (France: Maud Thévenin), 281–289.
- Robinson, M. J. F., Warlow, S. M., and Berridge, K. C. (2014). Optogenetic excitation of central amygdala amplifies and narrows incentive motivation to pursue one reward above another. *J. Neurosci.* 34, 16567–16580. doi:10.1523/JNEUROSCI.2013-14.2014.
- Rodríguez, E. M., Blázquez, J. L., and Guerra, M. (2010). The design of barriers in the hypothalamus allows the median eminence and the arcuate nucleus to enjoy private milieus: The former opens to the portal blood and the latter to the cerebrospinal fluid. *Peptides* 31, 757–776. doi:10.1016/j.peptides.2010.01.003.
- Romero, R., Hassan, S. S., Gajer, P., Tarca, A. L., Fadrosh, D. W., Nikita, L., et al. (2014). The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women. *Microbiome* 2, 4. doi:10.1186/2049-2618-2-4.
- Rosas-Vargas, H., Martínez-Ezquerro, J. D., and Bienvenu, T. (2011). Brain-Derived Neurotrophic Factor, Food Intake Regulation, and Obesity. *Archives of Medical Research* 42, 482–494. doi:10.1016/j.arcmed.2011.09.005.
- Rose, D. R., Yang, H., Serena, G., Sturgeon, C., Ma, B., Careaga, M., et al. (2018). Differential immune responses and microbiota profiles in children with autism spectrum disorders and co-morbid gastrointestinal symptoms. *Brain Behav. Immun.* 70, 354–368. doi:10.1016/j.bbi.2018.03.025.
- Roseboom, T. J., van der Meulen, J. H., Ravelli, A. C., Osmond, C., Barker, D. J., and Bleker, O. P. (2001). Effects of prenatal exposure to the Dutch famine on adult disease in later life: an overview. *Mol. Cell. Endocrinol.* 185, 93–98. doi:10.1016/s0303-7207(01)00721-3.
- Rosin, J. M., and Kurrasch, D. M. (2019). Emerging roles for hypothalamic microglia as regulators of physiological homeostasis. *Front Neuroendocrinol* 54, 100748. doi:10.1016/j.yfrne.2019.100748.

- Ross, M. G., and Desai, M. (2014). Developmental Programming of Appetite/Satiety. *ANM* 64, 36–44. doi:10.1159/000360508.
- Roth, S. R., Schwartz, M., and Teitelbaum, P. (1973). Failure of recovered lateral hypothalamic rats to learn specific food aversions. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 83, 184–197. doi:10.1037/h0034415.
- Roubalová, R., Procházková, P., Papežová, H., Smitka, K., Bilej, M., and Tlaskalová-Hogenová, H. (2019). Anorexia nervosa: Gut microbiota-immune-brain interactions. *Clin Nutr.* doi:10.1016/j.clnu.2019.03.023.
- Rowitch, D. H., and Kriegstein, A. R. (2010). Developmental genetics of vertebrate glial–cell specification. *Nature* 468, 214–222. doi:10.1038/nature09611.
- Russo, S. J., and Nestler, E. J. (2013). The brain reward circuitry in mood disorders. *Nat Rev Neurosci* 14, 609–625. doi:10.1038/nrn3381.
- Rutten, N. B. M. M., Gorissen, D. M. W., Eck, A., Niers, L. E. M., Vlieger, A. M., Vaart, I. B. der, et al. (2015). Long Term Development of Gut Microbiota Composition in Atopic Children: Impact of Probiotics. *PLOS ONE* 10, e0137681. doi:10.1371/journal.pone.0137681.

- S -

- Sakata, I., and Sakai, T. (2010). Ghrelin Cells in the Gastrointestinal Tract. *Int J Pept* 2010. doi:10.1155/2010/945056.
- Salminen, S., Gibson, G. R., McCartney, A. L., and Isolauri, E. (2004). Influence of mode of delivery on gut microbiota composition in seven year old children. *Gut* 53, 1388–1389. doi:10.1136/gut.2004.041640.
- Saper, C. B., Chou, T. C., and Elmquist, J. K. (2002). The Need to Feed: Homeostatic and Hedonic Control of Eating. *Neuron* 36, 199–211. doi:10.1016/S0896-6273(02)00969-8.
- Saper, C. B., and Lowell, B. B. (2014). The hypothalamus. *Current Biology* 24, R1111–R1116. doi:10.1016/j.cub.2014.10.023.
- Sauer, J., Richter, K. K., and Pool-Zobel, B. L. (2007). Physiological concentrations of butyrate favorably modulate genes of oxidative and metabolic stress in primary human colon cells. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 18, 736–745. doi:10.1016/j.jnutbio.2006.12.012.
- Sauvageot, C., and Stiles, C. D. (2002). Molecular mechanisms controlling cortical gliogenesis. *Current Opinion in Neurobiology* 12, 244–249. doi:10.1016/S0959-4388(02)00322-7.
- Savage, D. C. (1977). Microbial Ecology of the Gastrointestinal Tract. *Annu. Rev. Microbiol.* 31, 107–133. doi:10.1146/annurev.mi.31.100177.000543.
- Savignac, H. M., Corona, G., Mills, H., Chen, L., Spencer, J. P. E., Tzortzis, G., et al. (2013). Prebiotic feeding elevates central brain derived neurotrophic factor, N-methyl-d-aspartate receptor subunits and d-serine. *Neurochemistry International* 63, 756–764. doi:10.1016/j.neuint.2013.10.006.
- Scanlan, P. D., and Marchesi, J. R. (2008). Micro-eukaryotic diversity of the human distal gut microbiota: qualitative assessment using culture-dependent and -independent analysis of faeces. *ISME J* 2, 1183–1193. doi:10.1038/ismej.2008.76.
- Schechter, R., Abboud, M., and Johnson, G. (1999). Brain endogenous insulin effects on neurite growth within fetal rat neuron cell cultures. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 116, 159–167. doi:10.1016/s0165-3806(99)00089-9.
- Schéle, E., Grahemo, L., Anesten, F., Hallén, A., Bäckhed, F., and Jansson, J.-O. (2013a). The Gut Microbiota Reduces Leptin Sensitivity and the Expression of the Obesity-

- Suppressing Neuropeptides Proglucagon (*Gcg*) and Brain-Derived Neurotrophic Factor (*Bdnf*) in the Central Nervous System. *Endocrinology* 154, 3643–3651. doi:10.1210/en.2012-2151.
- Schéle, E., Grahemo, L., Anesten, F., Hallén, A., Bäckhed, F., and Jansson, J.-O. (2013b). The Gut Microbiota Reduces Leptin Sensitivity and the Expression of the Obesity-Suppressing Neuropeptides Proglucagon (*Gcg*) and Brain-Derived Neurotrophic Factor (*Bdnf*) in the Central Nervous System. *Endocrinology* 154, 3643–3651. doi:10.1210/en.2012-2151.
- Schnupf, P., Gaboriau-Routhiau, V., Gros, M., Friedman, R., Moya-Nilges, M., Nigro, G., et al. (2015). Growth and host interaction of mouse segmented filamentous bacteria *in vitro*. *Nature* 520, 99–103. doi:10.1038/nature14027.
- Schultz, W., Dayan, P., and Montague, P. R. (1997). A neural substrate of prediction and reward. *Science* 275, 1593–1599. doi:10.1126/science.275.5306.1593.
- Schwartz, G. J. (2006a). Integrative capacity of the caudal brainstem in the control of food intake. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 361, 1275–1280. doi:10.1098/rstb.2006.1862.
- Schwartz, G. J. (2006b). Integrative capacity of the caudal brainstem in the control of food intake. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 361, 1275–1280. doi:10.1098/rstb.2006.1862.
- Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D., Seeley, R. J., and Baskin, D. G. (2000a). Central nervous system control of food intake. *Nature* 404, 661–671. doi:10.1038/35007534.
- Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D., Seeley, R. J., and Baskin, D. G. (2000b). Central nervous system control of food intake. *Nature* 404, 661–671.
- Schwartz, A., Gruhl, B., Löbnitz, M., Michel, P., Radke, M., and Blaut, M. (2003). Development of the intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breast-fed, full-term infants. *Pediatr. Res.* 54, 393–399. doi:10.1203/01.PDR.0000078274.74607.7A.
- Schwartz, A., Taras, D., Schäfer, K., Beijer, S., Bos, N. A., Donus, C., et al. (2010). Microbiota and SCFA in Lean and Overweight Healthy Subjects. *Obesity* 18, 190–195. doi:10.1038/oby.2009.167.
- Seeley, R. J., and Woods, S. C. (2003). Monitoring of stored and available fuel by the CNS: implications for obesity. *Nat Rev Neurosci* 4, 901–909. doi:10.1038/nrn1245.
- Sender, R., Fuchs, S., and Milo, R. (2016). Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol* 14. doi:10.1371/journal.pbio.1002533.
- Shimada, M., and Nakamura, T. (1973). Time of neuron origin in mouse hypothalamic nuclei. *Experimental Neurology* 41, 163–173. doi:10.1016/0014-4886(73)90187-8.
- Shin, A. C., Filatova, N., Lindtner, C., Chi, T., Degann, S., Oberlin, D., et al. (2017). Insulin Receptor Signaling in POMC, but Not AgRP, Neurons Controls Adipose Tissue Insulin Action. *Diabetes* 66, 1560–1571. doi:10.2337/db16-1238.
- Shulzhenko, N., Morgun, A., Hsiao, W., Battle, M., Yao, M., Gavrilova, O., et al. (2011). Crosstalk between B lymphocytes, microbiota and the intestinal epithelium governs immunity versus metabolism in the gut. *Nat. Med.* 17, 1585–1593. doi:10.1038/nm.2505.
- Si, J., You, H. J., Yu, J., Sung, J., and Ko, G. (2017). Prevotella as a Hub for Vaginal Microbiota under the Influence of Host Genetics and Their Association with Obesity. *Cell Host Microbe* 21, 97–105. doi:10.1016/j.chom.2016.11.010.
- Simpson, J., Smith, A. D. A. C., Fraser, A., Sattar, N., Lindsay, R. S., Ring, S. M., et al. (2016). Programming of Adiposity in Childhood and Adolescence: Associations With Birth Weight and Cord Blood Adipokines. *J Clin Endocrinol Metab* 102, 499–506. doi:10.1210/jc.2016-2342.

- Skibicka, K. P., and Grill, H. J. (2009). Hypothalamic and Hindbrain Melanocortin Receptors Contribute to the Feeding, Thermogenic, and Cardiovascular Action of Melanocortins. *Endocrinology* 150, 5351–5361. doi:10.1210/en.2009-0804.
- Skórka, A., Pieścik-Lech, M., Kołodziej, M., and Szajewska, H. (2018). Infant formulae supplemented with prebiotics: Are they better than unsupplemented formulae? An updated systematic review. *Br. J. Nutr.* 119, 810–825. doi:10.1017/S0007114518000120.
- Smith, E. A., and Macfarlane, G. T. (1997). Dissimilatory amino Acid metabolism in human colonic bacteria. *Anaerobe* 3, 327–337. doi:10.1006/anae.1997.0121.
- Smith, J. T., and Waddell, B. J. (2002). Leptin receptor expression in the rat placenta: changes in ob-ra, ob-rb, and ob-re with gestational age and suppression by glucocorticoids. *Biol. Reprod.* 67, 1204–1210. doi:10.1095/biolreprod67.4.1204.
- Smith, J. T., and Waddell, B. J. (2003). Leptin Distribution and Metabolism in the Pregnant Rat: Transplacental Leptin Passage Increases in Late Gestation but Is Reduced by Excess Glucocorticoids. *Endocrinology* 144, 3024–3030. doi:10.1210/en.2003-0145.
- Smith, S. B., and Ravel, J. (2017). The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology. *J Physiol* 595, 451–463. doi:10.1113/JP271694.
- Smith, W. B., Callaway, T. R., Tedeschi, L. O., M.Rouquette, F., Sheridan, T., and Adamski, J. (2016). Prebiotic and Probiotic Approaches to Improving Food Safety on the Farm and Their Implications on Human Health. *Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health*. doi:10.5772/63114.
- Soares, R. A. (2015). Role of a Bile Acid in Improving Survival and Function of Neural Stem Cells.
- Soares-Cunha, C., de Vasconcelos, N. A. P., Coimbra, B., Domingues, A. V., Silva, J. M., Loureiro-Campos, E., et al. (2019). Nucleus accumbens medium spiny neurons subtypes signal both reward and aversion. *Mol Psychiatry*. doi:10.1038/s41380-019-0484-3.
- Sobrino Crespo, C., Perianes Cachero, A., Puebla Jiménez, L., Barrios, V., and Arilla Ferreiro, E. (2014). Peptides and Food Intake. *Front Endocrinol (Lausanne)* 5. doi:10.3389/fendo.2014.00058.
- Sohn, J.-W. (2015). Network of hypothalamic neurons that control appetite. *BMB Rep* 48, 229–233. doi:10.5483/BMBRep.2015.48.4.272.
- Sohn, J.-W., Xu, Y., Jones, J. E., Wickman, K., Williams, K. W., and Elmquist, J. K. (2011). Serotonin 2C receptor activates a distinct population of arcuate pro-opiomelanocortin neurons via TRPC channels. *Neuron* 71, 488–497. doi:10.1016/j.neuron.2011.06.012.
- Sokol, H. (2017). “Microbiote et effet de barrière,” in *Le microbiote intestinal : un organe à part entière* (France: Maud Thévenin), 65–71.
- Sonnenburg, J. L., and Bäckhed, F. (2016). Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature* 535, 56–64. doi:10.1038/nature18846.
- Soret, R., Chevalier, J., De Coppet, P., Poupeau, G., Derkinderen, P., Segain, J. P., et al. (2010). Short-Chain Fatty Acids Regulate the Enteric Neurons and Control Gastrointestinal Motility in Rats. *Gastroenterology* 138, 1772–1782.e4. doi:10.1053/j.gastro.2010.01.053.
- Spain, J. W., Roth, B. L., and Coscia, C. J. (1985). Differential ontogeny of multiple opioid receptors (mu, delta, and kappa). *J. Neurosci.* 5, 584–588.
- Spaventi, R., Antica, M., and Pavelić, K. (1990). Insulin and insulin-like growth factor I (IGF I) in early mouse embryogenesis. *Development* 108, 491–495.
- Steculorum, S. M., and Bouret, S. G. (2011). Developmental Effects of Ghrelin. *Peptides* 32, 2362–2366. doi:10.1016/j.peptides.2011.06.021.

- Steculorum, S. M., Collden, G., Coupe, B., Croizier, S., Lockie, S., Andrews, Z. B., et al. (2015). Neonatal ghrelin programs development of hypothalamic feeding circuits. *J Clin Invest* 125, 846–858. doi:10.1172/JCI73688.
- Stehling, O., Doring, H., Ertl, J., Preibisch, G., and Schmidt, I. (1996). Leptin reduces juvenile fat stores by altering the circadian cycle of energy expenditure. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 271, R1770–R1774. doi:10.1152/ajpregu.1996.271.6.R1770.
- Sternson, S. M., and Eiselt, A.-K. (2017). Three Pillars for the Neural Control of Appetite. *Annual Review of Physiology* 79, 401–423. doi:10.1146/annurev-physiol-021115-104948.
- Stewart, C., Ajami, N. J., O'Brien, J., Hutchinson, D., Smith, D., Wong, M., et al. (2018). Temporal development of the gut microbiome in early childhood from the TEDDY study. *Nature* 562, 583–588. doi:10.1038/s41586-018-0617-x.
- Stewart, J. A., Chadwick, V. S., and Murray, A. (2005). Investigations into the influence of host genetics on the predominant eubacteria in the faecal microflora of children. *Journal of Medical Microbiology*, 54, 1239–1242. doi:10.1099/jmm.0.46189-0.
- Stokholm, J., Schjørring, S., Eskildsen, C. E., Pedersen, L., Bischoff, A. L., Følsgaard, N., et al. (2014). Antibiotic use during pregnancy alters the commensal vaginal microbiota. *Clin. Microbiol. Infect.* 20, 629–635. doi:10.1111/1469-0691.12411.
- Strandwitz, P. (2018). Neurotransmitter modulation by the gut microbiota. *Brain Res* 1693, 128–133. doi:10.1016/j.brainres.2018.03.015.
- Stratford, T. R., and Kelley, A. E. (1999). Evidence of a functional relationship between the nucleus accumbens shell and lateral hypothalamus subserving the control of feeding behavior. *J. Neurosci.* 19, 11040–11048.
- Strus, M., Chmielarzyk, A., Kochan, P., Adamski, P., Chelmicki, Z., Chelmicki, A., et al. (2012). Studies on the effects of probiotic Lactobacillus mixture given orally on vaginal and rectal colonization and on parameters of vaginal health in women with intermediate vaginal flora. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 163, 210–215. doi:10.1016/j.ejogrb.2012.05.001.
- Suau, A., Bonnet, R., Sutren, M., Godon, J.-J., Gibson, G. R., Collins, M. D., et al. (1999). Direct Analysis of Genes Encoding 16S rRNA from Complex Communities Reveals Many Novel Molecular Species within the Human Gut. *Appl Environ Microbiol* 65, 4799–4807.
- Sudo, N. (2019a). Biogenic Amines: Signals Between Commensal Microbiota and Gut Physiology. *Front Endocrinol (Lausanne)* 10. doi:10.3389/fendo.2019.00504.
- Sudo, N. (2019b). Role of gut microbiota in brain function and stress-related pathology. *Biosci Microbiota Food Health* 38, 75–80. doi:10.12938/bmfh.19-006.
- Sudo, N., Chida, Y., Aiba, Y., Sonoda, J., Oyama, N., Yu, X.-N., et al. (2004a). Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic–pituitary–adrenal system for stress response in mice. *J Physiol* 558, 263–275. doi:10.1113/jphysiol.2004.063388.
- Sudo, N., Chida, Y., Aiba, Y., Sonoda, J., Oyama, N., Yu, X.-N., et al. (2004b). Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice: Commensal microbiota and stress response. *The Journal of Physiology* 558, 263–275. doi:10.1113/jphysiol.2004.063388.
- Suez, J., Korem, T., Zeevi, D., Zilberman-Schapira, G., Thaïss, C. A., Maza, O., et al. (2014). Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature* 514, 181–186. doi:10.1038/nature13793.
- Sun, B., Purcell, R. H., Terrillion, C. E., Yan, J., Moran, T. H., and Tamashiro, K. L. K. (2012). Maternal High-Fat Diet During Gestation or Suckling Differentially Affects Offspring Leptin Sensitivity and Obesity. *Diabetes* 61, 2833–2841. doi:10.2337/db11-0957.

- Suokas, A., Kupari, M., Heikkilä, J., Lindros, K., and Ylikahri, R. (1988). Acute cardiovascular and metabolic effects of acetate in men. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 12, 52–58. doi:10.1111/j.1530-0277.1988.tb00132.x.
- Surana, N. K., and Kasper, D. L. (2012). The yin yang of bacterial polysaccharides: lessons learned from *B. fragilis* PSA. *Immunol. Rev.* 245, 13–26. doi:10.1111/j.1600-065X.2011.01075.x.
- Suzuki, T. (2013). Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. *Cell. Mol. Life Sci.* 70, 631–659. doi:10.1007/s00018-012-1070-x.
- Swartwout, B., and Luo, X. M. (2018). Implications of Probiotics on the Maternal-Neonatal Interface: Gut Microbiota, Immunomodulation, and Autoimmunity. *Front. Immunol.* 9. doi:10.3389/fimmu.2018.02840.
- Swithers, S. E., and Hall, W. G. (1989). A nutritive control of independent ingestion in rat pups emerges by nine days of age. *Physiology & Behavior* 46, 873–879. doi:10.1016/0031-9384(89)90051-6.

- T -

- Tap, J., Mondot, S., Levenez, F., Pelletier, E., Caron, C., Furet, J.-P., et al. (2009). Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. *Environmental Microbiology* 11, 2574–2584. doi:10.1111/j.1462-2920.2009.01982.x.
- Tarazi, F. I., and Baldessarini, R. J. (2000). Comparative postnatal development of dopamine D(1), D(2) and D(4) receptors in rat forebrain. *Int. J. Dev. Neurosci.* 18, 29–37. doi:10.1016/s0736-5748(99)00108-2.
- Tennoune, N., Chan, P., Breton, J., Legrand, R., Chabane, Y. N., Akkermann, K., et al. (2014). Bacterial ClpB heat-shock protein, an antigen-mimetic of the anorexigenic peptide α -MSH, at the origin of eating disorders. *Transl Psychiatry* 4, e458–e458. doi:10.1038/tp.2014.98.
- Tennoune, N., Legrand, R., Ouelaa, W., Breton, J., Lucas, N., Bole-Feysot, C., et al. (2015). Sex-related effects of nutritional supplementation of *Escherichia coli*: relevance to eating disorders. *Nutrition* 31, 498–507. doi:10.1016/j.nut.2014.11.003.
- Tepper, J. M., Sharpe, N. A., Koós, T. Z., and Trent, F. (1998). Postnatal development of the rat neostriatum: electrophysiological, light- and electron-microscopic studies. *Dev. Neurosci.* 20, 125–145. doi:10.1159/000017308.
- Terry, L. M., and Johanson, I. B. (1987). Olfactory influences on the ingestive behavior of infant rats. *Developmental Psychobiology* 20, 313–331. doi:10.1002/dev.420200309.
- Thomas, C. M., Hong, T., van Pijkeren, J. P., Hemarajata, P., Trinh, D. V., Hu, W., et al. (2012). Histamine Derived from Probiotic *Lactobacillus reuteri* Suppresses TNF via Modulation of PKA and ERK Signaling. *PLoS One* 7. doi:10.1371/journal.pone.0031951.
- Thompson, C., and Park, S. (2016). Barriers to access and utilization of eating disorder treatment among women. *Arch Womens Ment Health* 19, 753–760. doi:10.1007/s00737-016-0618-4.
- Tien, M.-T., Girardin, S. E., Regnault, B., Bourhis, L. L., Dillies, M.-A., Coppée, J.-Y., et al. (2006). Anti-Inflammatory Effect of *Lactobacillus casei* on *Shigella*-Infected Human Intestinal Epithelial Cells. *The Journal of Immunology* 176, 1228–1237. doi:10.4049/jimmunol.176.2.1228.
- Tissier, H. (1900). *Recherches sur la flore intestinale des nourrissons: état normal et pathologique*. Paris: G. Carré et C. Naud.

- Toda, C., Shiuchi, T., Lee, S., Yamato-Esaki, M., Fujino, Y., Suzuki, A., et al. (2009). Distinct Effects of Leptin and a Melanocortin Receptor Agonist Injected Into Medial Hypothalamic Nuclei on Glucose Uptake in Peripheral Tissues. *Diabetes* 58, 2757–2765. doi:10.2337/db09-0638.
- Tomas, J., Reygner, J., Mayeur, C., Ducroc, R., Bouet, S., Bridonneau, C., et al. (2015). Early colonizing *Escherichia coli* elicits remodeling of rat colonic epithelium shifting toward a new homeostatic state. *ISME J* 9, 46–58. doi:10.1038/ismej.2014.111.
- Tomas, J., and Sansonetti, P. (2017). “Dialogue hôte-microbiote : Interactions entre microbiote et épithélium intestinal,” in *Le microbiote intestinal : un organe à part entière* (France: Maud Thévenin), 55–64.
- Tomas, J., Wrzosek, L., Bouznad, N., Bouet, S., Mayeur, C., Noordine, M.-L., et al. (2013). Primocolonization is associated with colonic epithelial maturation during conventionalization. *FASEB J.* 27, 645–655. doi:10.1096/fj.12-216861.
- Tonon, K., B. de Morais, M., F. V. Abrão, A. C., Miranda, A., and B. Morais, T. (2019). Maternal and Infant Factors Associated with Human Milk Oligosaccharides Concentrations According to Secretor and Lewis Phenotypes. *Nutrients* 11. doi:10.3390/nu11061358.
- Toran-Allerand, C. D., Ellis, L., and Pfenninger, K. H. (1988). Estrogen and insulin synergism in neurite growth enhancement in vitro: mediation of steroid effects by interactions with growth factors? *Brain Res.* 469, 87–100. doi:10.1016/0165-3806(88)90172-1.
- Tormo-Badia, N., Håkansson, Å., Vasudevan, K., Molin, G., Ahrné, S., and Cilio, C. M. (2014). Antibiotic treatment of pregnant non-obese diabetic mice leads to altered gut microbiota and intestinal immunological changes in the offspring. *Scand. J. Immunol.* 80, 250–260. doi:10.1111/sji.12205.
- Torsello, A., Scibona, B., Leo, G., Bresciani, E., Avallone, R., Bulgarelli, I., et al. (2003). Ontogeny and Tissue-Specific Regulation of Ghrelin mRNA Expression Suggest that Ghrelin Is Primarily Involved in the Control of Extraendocrine Functions in the Rat. *NEN* 77, 91–99. doi:10.1159/000068653.
- Touzani, K., and Sclafani, A. (2001). Conditioned flavor preference and aversion: role of the lateral hypothalamus. *Behav. Neurosci.* 115, 84–93. doi:10.1037/0735-7044.115.1.84.
- Touzani, K., and Sclafani, A. (2002). Lateral hypothalamic lesions impair flavour-nutrient and flavour-toxin trace learning in rats. *Eur. J. Neurosci.* 16, 2425–2433. doi:10.1046/j.1460-9568.2002.02404.x.
- Tsavkelova, E. A., Botvinko, I. V., Kudrin, V. S., and Oleskin, A. V. (2000). Detection of neurotransmitter amines in microorganisms with the use of high-performance liquid chromatography. *Dokl. Biochem.* 372, 115–117.
- Tsukamoto, K., Ariga, H., Mantyh, C., Pappas, T. N., Yanagi, H., Yamamura, T., et al. (2007). Luminally released serotonin stimulates colonic motility and accelerates colonic transit in rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 293, R64–69. doi:10.1152/ajpregu.00856.2006.
- Tsurugizawa, T., Uneyama, H., and Torii, K. (2014). Brain amino acid sensing. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 16, 41–48. doi:10.1111/dom.12336.
- Turnbaugh, P. J., Backhed, F., Fulton, L., and Gordon, J. I. (2008). Marked alterations in the distal gut microbiome linked to diet-induced obesity. *Cell Host Microbe* 3, 213–223. doi:10.1016/j.chom.2008.02.015.
- Turnbaugh, P. J., Hamady, M., Yatsunenko, T., Cantarel, B. L., Duncan, A., Ley, R. E., et al. (2009). A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 457, 480–484. doi:10.1038/nature07540.

- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R., and Gordon, J. I. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 444, 1027–1031. doi:10.1038/nature05414.
- Turner, J. R. (2009). Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol* 9, 799–809. doi:10.1038/nri2653.
- Tyzio, R., Holmes, G. L., Ben-Ari, Y., and Khazipov, R. (2007). Timing of the developmental switch in GABA(A) mediated signaling from excitation to inhibition in CA3 rat hippocampus using gramicidin perforated patch and extracellular recordings. *Epilepsia* 48 Suppl 5, 96–105. doi:10.1111/j.1528-1167.2007.01295.x.

- V -

- Valleau, J. C., and Sullivan, E. L. (2014). The Impact of Leptin on Perinatal Development and Psychopathology. *J Chem Neuroanat* 0, 221–232. doi:10.1016/j.jchemneu.2014.05.001.
- van Bloemendaal, L., IJzerman, R. G., Ten Kulve, J. S., Barkhof, F., Konrad, R. J., Drent, M. L., et al. (2014). GLP-1 receptor activation modulates appetite- and reward-related brain areas in humans. *Diabetes* 63, 4186–4196. doi:10.2337/db14-0849.
- van de Merwe, J. P., Stegeman, J. H., and Hazenberg, M. P. (1983). The resident faecal flora is determined by genetic characteristics of the host. Implications for Crohn's disease? *Antonie van Leeuwenhoek* 49, 119–124. doi:10.1007/BF00393669.
- van de Wouw, M., Schellekens, H., Dinan, T. G., and Cryan, J. F. (2017a). Microbiota-Gut-Brain Axis: Modulator of Host Metabolism and Appetite. *J Nutr* 147, 727–745. doi:10.3945/jn.116.240481.
- van de Wouw, M., Schellekens, H., Dinan, T. G., and Cryan, J. F. (2017b). Microbiota-Gut-Brain Axis: Modulator of Host Metabolism and Appetite. *J Nutr* 147, 727–745. doi:10.3945/jn.116.240481.
- van den Elsen, L. W. J., Garssen, J., Burcelin, R., and Verhasselt, V. (2019). Shaping the Gut Microbiota by Breastfeeding: The Gateway to Allergy Prevention? *Front Pediatr* 7. doi:10.3389/fped.2019.00047.
- van den Hoek, A. M., Heijboer, A. C., Corssmit, E. P. M., Voshol, P. J., Romijn, J. A., Havekes, L. M., et al. (2004). PYY3-36 reinforces insulin action on glucose disposal in mice fed a high-fat diet. *Diabetes* 53, 1949–1952. doi:10.2337/diabetes.53.8.1949.
- van den Top, M., Lee, K., Whyment, A. D., Blanks, A. M., and Spanswick, D. (2004). Orexigen-sensitive NPY/AgRP pacemaker neurons in the hypothalamic arcuate nucleus. *Nat Neurosci* 7, 493–494. doi:10.1038/nn1226.
- van der Plasse, G., van Zessen, R., Luijendijk, M. C. M., Erkan, H., Stuber, G. D., Ramakers, G. M. J., et al. (2015). Modulation of cue-induced firing of ventral tegmental area dopamine neurons by leptin and ghrelin. *Int J Obes (Lond)* 39, 1742–1749. doi:10.1038/ijo.2015.131.
- Vandenplas, Y., Zakharova, I., and Dmitrieva, Y. (2015). Oligosaccharides in infant formula: more evidence to validate the role of prebiotics. *British Journal of Nutrition* 113, 1339–1344. doi:10.1017/S0007114515000823.
- Varrault, A., Bockaert, J., and Waeber, C. (1992). Activation of 5-HT1A receptors expressed in NIH-3T3 cells induces focus formation and potentiates EGF effect on DNA synthesis. *Mol Biol Cell* 3, 961–969.
- Vásquez, A., Jakobsson, T., Ahrné, S., Forsum, U., and Molin, G. (2002). Vaginal Lactobacillus Flora of Healthy Swedish Women. *J Clin Microbiol* 40, 2746–2749. doi:10.1128/JCM.40.8.2746-2749.2002.

- Vaughan, E., and Fisher, A. E. (1962). Male sexual behavior induced by intracranial electrical stimulation. *Science* 137, 758–760. doi:10.1126/science.137.3532.758-a.
- Vazquez-Torres, A., Jones-Carson, J., Bäumlner, A. J., Falkow, S., Valdivia, R., Brown, W., et al. (1999). Extraintestinal dissemination of Salmonella by CD18-expressing phagocytes. *Nature* 401, 804–808. doi:10.1038/44593.
- Velagapudi, V. R., Hezaveh, R., Reigstad, C. S., Gopalacharyulu, P., Yetukuri, L., Islam, S., et al. (2010). The gut microbiota modulates host energy and lipid metabolism in mice. *J Lipid Res* 51, 1101–1112. doi:10.1194/jlr.M002774.
- Velasquez-Munoz, A., Manriquez, D., Paudyal, S., Han, H., Callan, R., Ryan, E. P., et al. (2019). Effect of prebiotic supplementation with stabilized rice bran in milk of pre-weaned organic Holstein calves. *BMC Veterinary Research* 15, 53. doi:10.1186/s12917-019-1802-3.
- Venter, C. S., Vorster, H. H., and Cummings, J. H. (1990). Effects of dietary propionate on carbohydrate and lipid metabolism in healthy volunteers. *Am. J. Gastroenterol.* 85, 549–553.
- Verberne, A., Sabetghadam, A., and Korim, W. (2014). Neural pathways that control the glucose counterregulatory response. *Frontiers in neuroscience* 8, 38. doi:10.3389/fnins.2014.00038.
- Vijay-Kumar, M., Aitken, J. D., Carvalho, F. A., Cullender, T. C., Mwangi, S., Srinivasan, S., et al. (2010). Metabolic Syndrome and Altered Gut Microbiota in Mice Lacking Toll-Like Receptor 5. *Science* 328, 228–231. doi:10.1126/science.1179721.
- Vincent, A., and Tell, F. (1999). Postnatal development of rat nucleus tractus solitarius neurons: morphological and electrophysiological evidence. *Neuroscience* 93, 293–305. doi:10.1016/S0306-4522(99)00109-8.
- Virgin, H. W. (2014). The virome in mammalian physiology and disease. *Cell* 157, 142–150. doi:10.1016/j.cell.2014.02.032.
- Vitalis, T., Cases, O., Passemard, S., Callebert, J., and Parnavelas, J. G. (2007). Embryonic depletion of serotonin affects cortical development. *European Journal of Neuroscience* 26, 331–344. doi:10.1111/j.1460-9568.2007.05661.x.
- Vitalis, T., and Parnavelas, J. G. (2003). The Role of Serotonin in Early Cortical Development. *Dev Neurosci* 25, 245–256. doi:10.1159/000072272.
- Vogt, M. C., Paeger, L., Hess, S., Steculorum, S. M., Awazawa, M., Hampel, B., et al. (2014). Neonatal insulin action impairs hypothalamic neurocircuit formation in response to maternal high fat feeding. *Cell* 156, 495–509. doi:10.1016/j.cell.2014.01.008.
- Voigt, J.-P., and Fink, H. (2015). Serotonin controlling feeding and satiety. *Behav. Brain Res.* 277, 14–31. doi:10.1016/j.bbr.2014.08.065.
- Volkow, N. D., Wise, R. A., and Baler, R. (2017). The dopamine motive system: implications for drug and food addiction. *Nat. Rev. Neurosci.* 18, 741–752. doi:10.1038/nrn.2017.130.
- Vrbanac, A., Riestra, A. M., Coady, A., Knight, R., Nizet, V., and Patras, K. A. (2018). The murine vaginal microbiota and its perturbation by the human pathogen group B Streptococcus. *BMC Microbiol.* 18, 197. doi:10.1186/s12866-018-1341-2.
- Vrieze, A., Van Nood, E., Holleman, F., Salojärvi, J., Kootte, R. S., Bartelsman, J. F. W. M., et al. (2012). Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology* 143, 913–916.e7. doi:10.1053/j.gastro.2012.06.031.
- Vuong, H. E., and Hsiao, E. Y. (2017). Emerging Roles for the Gut Microbiome in Autism Spectrum Disorder. *Biol. Psychiatry* 81, 411–423. doi:10.1016/j.biopsych.2016.08.024.

Vuong, H. E., Yano, J. M., Fung, T. C., and Hsiao, E. Y. (2017). The Microbiome and Host Behavior. *Annual review of neuroscience* 40, 21. doi:10.1146/annurev-neuro-072116-031347.

- W -

- Wahlström, A., Sayin, S. I., Marschall, H.-U., and Bäckhed, F. (2016). Intestinal Crosstalk between Bile Acids and Microbiota and Its Impact on Host Metabolism. *Cell Metab.* 24, 41–50. doi:10.1016/j.cmet.2016.05.005.
- Walker, A. (2010). Breast Milk as the Gold Standard for Protective Nutrients. *The Journal of Pediatrics* 156, S3–S7. doi:10.1016/j.jpeds.2009.11.021.
- Walker, W. A. (2017). The importance of appropriate initial bacterial colonization of the intestine in newborn, child and adult health. *Pediatr Res* 82, 387–395. doi:10.1038/pr.2017.111.
- Wallace, J. A., and Lauder, J. M. (1983). Development of the serotonergic system in the rat embryo: an immunocytochemical study. *Brain Res. Bull.* 10, 459–479. doi:10.1016/0361-9230(83)90144-2.
- Walsh, R. J., and Brawer, J. R. (1979). Cytology of the arcuate nucleus in newborn male and female rats. *J Anat* 128, 121–133.
- Walter, J., and Ley, R. (2011). The Human Gut Microbiome: Ecology and Recent Evolutionary Changes. *Annual review of microbiology* 65, 411–29. doi:10.1146/annurev-micro-090110-102830.
- Wang, L., Christophersen, C. T., Sorich, M. J., Gerber, J. P., Angley, M. T., and Conlon, M. A. (2012). Elevated fecal short chain fatty acid and ammonia concentrations in children with autism spectrum disorder. *Dig. Dis. Sci.* 57, 2096–2102. doi:10.1007/s10620-012-2167-7.
- Wang, L., Hu, L., Yan, S., Jiang, T., Fang, S., Wang, G., et al. (2017). Effects of different oligosaccharides at various dosages on the composition of gut microbiota and short-chain fatty acids in mice with constipation. *Food Funct* 8, 1966–1978. doi:10.1039/c7fo00031f.
- Wang, M., Ahrné, S., Jeppsson, B., and Molin, G. (2005). Comparison of bacterial diversity along the human intestinal tract by direct cloning and sequencing of 16S rRNA genes. *FEMS Microbiol. Ecol.* 54, 219–231. doi:10.1016/j.femsec.2005.03.012.
- Wang, X., Heazlewood, S. P., Krause, D. O., and Florin, T. H. J. (2003). Molecular characterization of the microbial species that colonize human ileal and colonic mucosa by using 16S rDNA sequence analysis. *J. Appl. Microbiol.* 95, 508–520. doi:10.1046/j.1365-2672.2003.02005.x.
- Wankhade, U. D., Zhong, Y., Kang, P., Alfaro, M., Chintapalli, S. V., Thakali, K. M., et al. (2017). Enhanced offspring predisposition to steatohepatitis with maternal high-fat diet is associated with epigenetic and microbiome alterations. *PLoS One* 12. doi:10.1371/journal.pone.0175675.
- Warren, M. F., Hallowell, H. A., Higgins, K. V., Liles, M. R., and Hood, W. R. (2019). Maternal Dietary Protein Intake Influences Milk and Offspring Gut Microbial Diversity in a Rat (*Rattus norvegicus*) Model. *Nutrients* 11, 2257. doi:10.3390/nu11092257.
- Wassenaar, T. M., Beimfohr, C., Geske, T., and Zimmermann, K. (2014). Voluntarily exposure to a single, high dose of probiotic *Escherichia coli* results in prolonged colonisation. *Benef Microbes* 5, 367–375. doi:10.3920/BM2013.0087.

- West, P., Hewitt, J., and MURPHY, O. (1979). The Influence of Methods of Collection and Storage on the Bacteriology of Human Milk. *The Journal of applied bacteriology* 46, 269–77. doi:10.1111/j.1365-2672.1979.tb00820.x.
- WHO (2001). The optimal duration of exclusive breastfeeding: Report of an expert consultation. Switzerland.
- Whyte, J. J., Alexenko, A. P., Davis, A. M., Ellersieck, M. R., Fountain, E. D., and Rosenfeld, C. S. (2019). Maternal diet composition alters serum steroid and free fatty acid concentrations and vaginal pH in mice. *Journal of Endocrinology* 192, 75–81. doi:10.1677/JOE-06-0095.
- Williams, A. M., Probert, C. S. J., Stepankova, R., Tlaskalova-Hogenova, H., Phillips, A., and Bland, P. W. (2006). Effects of microflora on the neonatal development of gut mucosal T cells and myeloid cells in the mouse. *Immunology* 119, 470–478. doi:10.1111/j.1365-2567.2006.02458.x.
- Williams, D. L., Kaplan, J. M., and Grill, H. J. (2000). The Role of the Dorsal Vagal Complex and the Vagus Nerve in Feeding Effects of Melanocortin-3/4 Receptor Stimulation. 141, 6.
- Willing, B. P., Dicksved, J., Halfvarson, J., Andersson, A. F., Lucio, M., Zheng, Z., et al. (2010). A Pyrosequencing Study in Twins Shows That Gastrointestinal Microbial Profiles Vary With Inflammatory Bowel Disease Phenotypes. *Gastroenterology* 139, 1844–1854.e1. doi:10.1053/j.gastro.2010.08.049.
- Willyard, C. (2018a). Could baby’s first bacteria take root before birth? *Nature* 553, 264–266. doi:10.1038/d41586-018-00664-8.
- Willyard, C. (2018b). New human gene tally reignites debate. *Nature* 558, 354–355. doi:10.1038/d41586-018-05462-w.
- Wise, R. A. (1969). Plasticity of hypothalamic motivational systems. *Science* 165, 929–930. doi:10.1126/science.165.3896.929-a.
- Wise, R. A. (1974). Lateral hypothalamic electrical stimulation: does it make animals “hungry”? *Brain Res.* 67, 187–209. doi:10.1016/0006-8993(74)90272-8.
- Woodworth, C. H. (1971). Attack elicited in rats by electrical stimulation of the lateral hypothalamus. *Physiology & Behavior* 6, 345–353. doi:10.1016/0031-9384(71)90166-1.

- X -

- Xie, R., Sun, Y., Wu, J., Huang, S., Jin, G., Guo, Z., et al. (2018). Maternal High Fat Diet Alters Gut Microbiota of Offspring and Exacerbates DSS-Induced Colitis in Adulthood. *Front Immunol* 9. doi:10.3389/fimmu.2018.02608.
- Xu, B., Goulding, E. H., Zang, K., Cepoi, D., Cone, R. D., Jones, K. R., et al. (2003a). Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. *Nat Neurosci* 6, 736–742. doi:10.1038/nn1073.
- Xu, J., Bjursell, M. K., Himrod, J., Deng, S., Carmichael, L. K., Chiang, H. C., et al. (2003b). A genomic view of the human-Bacteroides thetaiotaomicron symbiosis. *Science* 299, 2074–2076. doi:10.1126/science.1080029.
- Xu, Y., Jones, J. E., Kohno, D., Williams, K. W., Lee, C. E., Choi, M. J., et al. (2008). 5-HT₂CRs Expressed by Pro-Opiomelanocortin Neurons Regulate Energy Homeostasis. *Neuron* 60, 582–589. doi:10.1016/j.neuron.2008.09.033.

- Y -

- Yajima, T., Inoue, R., Matsumoto, M., and Yajima, M. (2011). Non-neuronal release of ACh plays a key role in secretory response to luminal propionate in rat colon. *J. Physiol. (Lond.)* 589, 953–962. doi:10.1113/jphysiol.2010.199976.
- Yamashita, H., Fujisawa, K., Ito, E., Idei, S., KAWAGUCHI, N., Kimoto, M., et al. (2007). Improvement of Obesity and Glucose Tolerance by Acetate in Type 2 Diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) Rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 71, 1236–1243. doi:10.1271/bbb.60668.
- Yan, X., Zhao, X., Li, J., He, L., and Xu, M. (2018). Effects of early-life malnutrition on neurodevelopment and neuropsychiatric disorders and the potential mechanisms. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 83, 64–75. doi:10.1016/j.pnpbp.2017.12.016.
- Yarandi, S. S., Peterson, D. A., Treisman, G. J., Moran, T. H., and Pasricha, P. J. (2016). Modulatory Effects of Gut Microbiota on the Central Nervous System: How Gut Could Play a Role in Neuropsychiatric Health and Diseases. *J Neurogastroenterol Motil* 22, 201–212. doi:10.5056/jnm15146.
- Yatsunencko, T., Rey, F. E., Manary, M. J., Trehan, I., Dominguez-Bello, M. G., Contreras, M., et al. (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 486, 222–227. doi:10.1038/nature11053.
- Yokomizo, H., Inoguchi, T., Sonoda, N., Sakaki, Y., Maeda, Y., Inoue, T., et al. (2014). Maternal high-fat diet induces insulin resistance and deterioration of pancreatic β -cell function in adult offspring with sex differences in mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 306, E1163–1175. doi:10.1152/ajpendo.00688.2013.
- Yoo, D. Y., Kim, W., Nam, S. M., Kim, D. W., Chung, J. Y., Choi, S. Y., et al. (2011). Synergistic Effects of Sodium Butyrate, a Histone Deacetylase Inhibitor, on Increase of Neurogenesis Induced by Pyridoxine and Increase of Neural Proliferation in the Mouse Dentate Gyrus. *Neurochem Res* 36, 1850. doi:10.1007/s11064-011-0503-5.
- You, P., Hu, H., Chen, Y., Zhao, Y., Yang, Y., Wang, T., et al. (2016). Effects of Melanocortin 3 and 4 Receptor Deficiency on Energy Homeostasis in Rats. *Scientific Reports* 6, 34938. doi:10.1038/srep34938.
- Younge, N., McCann, J. R., Ballard, J., Plunkett, C., Akhtar, S., Araújo-Pérez, F., et al. (2019). Fetal exposure to the maternal microbiota in humans and mice. *JCI Insight* 4, e127806. doi:10.1172/jci.insight.127806.

- Z -

- Zacarias, M. F., Collado, M. C., Gómez-Gallego, C., Flinck, H., Aittoniemi, J., Isolauri, E., et al. (2018). Pregestational overweight and obesity are associated with differences in gut microbiota composition and systemic inflammation in the third trimester. *PLOS ONE* 13, e0200305. doi:10.1371/journal.pone.0200305.
- Zeltser, L. M. (2018). Feeding circuit development and early-life influences on future feeding behaviour. *Nat Rev Neurosci* 19, 302–316. doi:10.1038/nrn.2018.23.
- Zhan, C., Zhou, J., Feng, Q., Zhang, J., Lin, S., Bao, J., et al. (2013). Acute and Long-Term Suppression of Feeding Behavior by POMC Neurons in the Brainstem and Hypothalamus, Respectively. *J Neurosci* 33, 3624–3632. doi:10.1523/JNEUROSCI.2742-12.2013.

- Zhang, L.-L., and Ashwell, K. W. S. (2001). Development of the cyto- and chemoarchitectural organization of the rat nucleus of the solitary tract. *Anat Embryol* 203, 265–282. doi:10.1007/s004290000151.
- Zhang, N., Yang, L., Guo, L., and Bi, S. (2018). Activation of Dorsomedial Hypothalamic Neurons Promotes Physical Activity and Decreases Food Intake and Body Weight in Zucker Fatty Rats. *Front Mol Neurosci* 11. doi:10.3389/fnmol.2018.00179.
- Zhang, X., Shen, D., Fang, Z., Jie, Z., Qiu, X., Zhang, C., et al. (2013). Human gut microbiota changes reveal the progression of glucose intolerance. *PLoS ONE* 8, e71108. doi:10.1371/journal.pone.0071108.
- Zhang, Y., Proença, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., and Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372, 425–432. doi:10.1038/372425a0.
- Zhao, S., Kanoski, S. E., Yan, J., Grill, H. J., and Hayes, M. R. (2012). Hindbrain leptin and glucagon-like-peptide-1 receptor signaling interact to suppress food intake in an additive fashion. *Int J Obes (Lond)* 36, 1522–1528. doi:10.1038/ijo.2011.265.
- Zheng, H., Patterson, L. M., Rhodes, C. J., Louis, G. W., Skibicka, K. P., Grill, H. J., et al. (2010). A potential role for hypothalamomedullary POMC projections in leptin-induced suppression of food intake. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 298, R720–R728. doi:10.1152/ajpregu.00619.2009.
- Zhou, L., and Xiao, X. (2018). The role of gut microbiota in the effects of maternal obesity during pregnancy on offspring metabolism. *Biosci Rep* 38. doi:10.1042/BSR20171234.
- Zhou, X., Bent, S. J., Schneider, M. G., Davis, C. C., Islam, M. R., and Forney, L. J. (2004). Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. *Microbiology (Reading, Engl.)* 150, 2565–2573. doi:10.1099/mic.0.26905-0.
- Zhou, X., Brown, C. J., Abdo, Z., Davis, C. C., Hansmann, M. A., Joyce, P., et al. (2007). Differences in the composition of vaginal microbial communities found in healthy Caucasian and black women. *ISME J* 1, 121–133. doi:10.1038/ismej.2007.12.
- Zhu, J.-N., Guo, C.-L., Li, H.-Z., and Wang, J.-J. (2007). Dorsomedial hypothalamic nucleus neurons integrate important peripheral feeding-related signals in rats. *J. Neurosci. Res.* 85, 3193–3204. doi:10.1002/jnr.21420.
- Zhu, L., Luo, F., Hu, W., Han, Y., Wang, Y., Zheng, H., et al. (2018). Bacterial Communities in the Womb During Healthy Pregnancy. *Front Microbiol* 9. doi:10.3389/fmicb.2018.02163.
- Zoetendal, E. G., Akkermans, A. D. L., Akkermans-van Vliet, W. M., de Vos, W. M., and de Visser, J. A. G. M. (2001). The Host Genotype Affects the Bacterial Community in the Human Gastrointestinal Tract. *Microbial Ecology in Health and Disease* 13, 129–134. doi:10.1080/089106001750462669.
- Zoetendal, E. G., von Wright, A., Vilpponen-Salmela, T., Ben-Amor, K., Akkermans, A. D. L., and de Vos, W. M. (2002a). Mucosa-Associated Bacteria in the Human Gastrointestinal Tract Are Uniformly Distributed along the Colon and Differ from the Community Recovered from Feces. *Appl Environ Microbiol* 68, 3401–3407. doi:10.1128/AEM.68.7.3401-3407.2002.
- Zoetendal, E. G., von Wright, A., Vilpponen-Salmela, T., Ben-Amor, K., Akkermans, A. D. L., and de Vos, W. M. (2002b). Mucosa-Associated Bacteria in the Human Gastrointestinal Tract Are Uniformly Distributed along the Colon and Differ from the Community Recovered from Feces. *Appl Environ Microbiol* 68, 3401–3407. doi:10.1128/AEM.68.7.3401-3407.2002.

Valorisation Scientifique

PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

Pocheron A-L, Le Dréan G., Billard H., Moyon T., Pagniez A., Castellano B., David-Sochard A., Grit I., Rival M., Michel C. and Parnet P. (2019) Maternal microbiota transfer programs offspring eating behavior. *In preparation for Frontiers in Microbiology*

Le Dréan G., **Pocheron A-L**, Billard H., Grit I., Pagniez A., Parnet P., Chappuis E., Rolli-Derkinderen M. and Michel C. (2019) Neonatal consumption of oligosaccharides greatly increases L-cell density without significant consequence for adult eating behavior. *Nutrients (11)*.

Parnet P., Michel C., **Pocheron A-L**, Amarger V. and Le Dréan G. (2018) Les microbiotes transférés de la mère à l'enfant jouent-ils un rôle dans l'origine développementale de la santé et des maladies ? *Innovations Agronomiques (65) 1-14*.

COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES ORALES

Pocheron A-L., Le Dréan G., Le Chatelier E., Michel C. and Parnet P. (2019) Maternal microbiota associated to obesity modulates offspring eating behaviour. *FFAB-R international congress*, Paris. Full communication.

Pocheron A-L., Le Dréan G., Le Chatelier E., Michel C. and Parnet P. (2019) Les microbiotes maternels associés à l'obésité modifient le microbiote et le comportement alimentaire des descendants. *MiBioGate congress*, Nantes. Full communication. **First oral communications prize.**

Pocheron A-L., Le Dréan G., Paillé V., Le Chatelier E., Ben Necib R., Michel C. and Parnet P. (2018) Le transfert néonatal de microbiotes maternels associés à l'obésité ou à la minceur modifie le comportement alimentaire de la descendance chez le rat. *SF-DOHaD congress*, Grenoble. Full communication.

Pocheron A-L., Le Dréan G., Parnet P. and Michel C. (2017) La modification néonatale du microbiote intestinal par des oligosaccharides programme-t-elle le comportement alimentaire à l'âge adulte chez le rat ? *AFDAS-TCA congress*, Rouen. Full communication. **First oral communications prize.**

Michel C., **Pocheron A-L.**, Reufflet A., Gouyon E. and Le Dréan G. (2016) Early oligosaccharides consumption affects enteroendocrine cells maturation but fails to program long-term food behaviour. *SF-DOHaD congress*, Paris. Full communication.

POSTERS

Michel C., Pocheron A-L., Billard H., Le Dréan G., Parnet P. (2019) Changes in early intestinal microbiota induced by transfers of vaginal, milk-associated and faecal microbiota from pregnant mothers do not program intestinal microbiota in adult rats. *WoMPBI international congress*, Milan

Pocheron A-L., Le Dréan G., Paillé V., Le Chatelier E., Ben Necib R., Michel C. and Parnet P. (2018) Neonatal transfer of maternal microbiota, associated or not to obesity, influences behavior in a rat model. *JBS-UBL congress*, Rennes.

Pocheron A-L., Le Dréan G., Michel C. and Parnet P. (2018) Le rôle des microbiotes maternels dans la transmission du risque d'obésité à la descendance. *MiBioGate congress*, Nantes

Titre : Rôle du microbiote intestinal néonatal dans la programmation du comportement alimentaire chez le rat

Mots clés : microbiotes, neurodéveloppement, programmation, comportement alimentaire

Résumé : Le microbiote intestinal joue un rôle dans la santé de l'hôte et notamment dans son homéostasie énergétique. Cependant, son impact sur le comportement alimentaire est encore peu étudié. La composition de ce microbiote intestinal acquis en début de vie peut être influencée par différents facteurs environnementaux comme la composition des microbiotes maternels ou l'apport néonatal d'oligosides prébiotiques. Selon le concept de la DOHaD (*Developmental Origins of Health and Disease*), le développement conjoint des circuits cérébraux régulant la prise alimentaire et du microbiote en début de vie fait de ce dernier un potentiel acteur dans la programmation des troubles du comportement alimentaire. Nous avons donc émis l'hypothèse que la composition du microbiote intestinal en période néonatale influencerait le développement de ces circuits neuronaux, induisant des modifications du comportement alimentaire à

l'âge adulte. Dans un modèle de rat, nous avons modulé la composition du microbiote intestinal de rats soit par l'apport direct dès la naissance de bactéries provenant de mères ayant des phénotypes métaboliques différents, soit par une approche nutritionnelle en les supplémentant en oligosides prébiotiques. Ces deux études réalisées en parallèle ont modulé le microbiote intestinal néonatal, sans programmation de sa composition. Une programmation du comportement alimentaire par le microbiote intestinal néonatal a été caractérisée, de façon dépendante du type de modulation effectuée et du sexe. Notre travail devrait ainsi permettre d'identifier des bactéries corrélées à certaines caractéristiques du comportement alimentaire. Cependant, les voies mécanistiques par lesquelles ces bactéries programmerait le comportement alimentaire restent encore à identifier.

Title: Role of the neonatal intestinal microbiota in the eating behaviour programming in rat

Keywords: microbiota, neurodevelopment, programming, eating behaviour

Abstract: Intestinal microbiota influences the host health, particularly its energetic homeostasis. However, its impact on eating behaviour remains poorly studied. Intestinal microbiota composition established early in life is influenced by several environmental factors such as the composition of maternal microbiota or by neonatal supplementation in prebiotic oligosides. According to DOHaD concept (*Developmental Origins of Health and Disease*), simultaneous development of neuronal circuits regulating eating behaviour and intestinal microbiota during early life, highlight the potential role of this microbiota in eating behaviour programming. Thus, we investigated if the composition of the neonatal microbiota could program neurodevelopment of these

circuits, leading to altered eating behaviour at adulthood. In a rat model, we aimed to modulate intestinal microbiota composition through direct input at birth of bacteria coming from mothers with different metabolic phenotypes, or by nutritional approach using prebiotic oligosides. These two parallel studies demonstrated a modulation in neonatal microbiota, without programming its composition. Eating behaviour programming by neonatal intestinal microbiota was characterized, depending on type of modulation and gender. Our work could lead to identification of bacteria correlated with certain eating behaviour features. However, mechanistic pathways through which these bacteria could program eating behaviour are yet to be studied.