

ACADÉMIE D'ORLÉANS-TOURS

UNIVERSITÉ DE TOURS

**FACULTE DE PHARMACIE « Philippe-
Maupas »**

Année 2022

N°56

THÈSE D'EXERCICE

Pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

MANCEAU Dylan, né le 17/03/1995 à Tours

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 30/08/2022

**Influence de l'alimentation sur le comportement : la larve
de *drosophile* lève les voiles de la neuromodulation**

JURY

Président : **Dumas Jean-François**, Maître de conférences - Université de Tours

Membres :

- **Bredeloux Pierre**, Docteur en Pharmacie – Faculté de Pharmacie de Tours
- **Hoerdt Aurélien**, Docteur en Pharmacie – Wefight, Montpellier

ANNEE : 2021 - 2022

Directrice : Pr Véronique MAUPOIL

Directeur Adjoint : M. Hervé MARCHAIS

Assesseurs : Pr Daniel ANTIER, M. Matthieu JUSTE, Pr Karine MAHEO, Mme Audrey OUDIN

ENSEIGNANTS

12 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ

ALLOUCHI	Hassan	CHIMIE PHYSIQUE
BOUDESOCQUE-DELAJE	Leslie	PHARMACOGNOSIE
BRAND	Denys	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
CHEVALIER	Stéphane	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
CHOURPA	Igor	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
CLASTRE	Marc	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
DIMIER-POISSON	Isabelle	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
ENGUEHARD-GUEIFFIER	Cécile	CHIMIE THERAPEUTIQUE
MAHEO	Karine	PHYSIOLOGIE
MAUPOIL-DAVID	Veronique	PHARMACOLOGIE
MUNNIER	Émilie	PHARMACIE GALENIQUE
VIAUD-MASSUARD	Marie-Claude	CHIMIE ORGANIQUE

7 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ ET PRATICIENS HOSPITALIERS

ANTIER	Daniel	PHARMACIE CLINIQUE
ARLICOT	Nicolas	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
EMOND	Patrick	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
GIRAUDEAU	Bruno	SANTÉ PUBLIQUE, BIostatistiques & ÉPIDÉMIOLOGIE
LANOTTE	Philippe	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
POUPLARD	Claire	HEMATOLOGIE
THIBAUT	Gilles	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

2 PROFESSEURS ÉMERITES

GUILLOTEAU	Denis	BIOPHYSIQUE & MATHÉMATIQUES
BARIN	Francis	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

37 MAÎTRES DE CONFÉRENCES

ALLARD-VANNIER	Emilie	PHARMACIE GALENIQUE
AUBREY	Nicolas	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
BAKRI	Françoise	HYGIENE SANTE PUBLIQUE & TOXICOLOGIE
BESSON	Pierre	PHYSIOLOGIE
BIRER-WILLIAMS	Caroline	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
BONNIER	Franck	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
BORDY	Romain	PHARMACOLOGIE
BOUVIN-PLY	Mélanie	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BRAIBANT	Martine	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BREDELOUX	Pierre	PHARMACOLOGIE
DAVID	Stéphanie	PHARMACIE GALENIQUE
DEBIERRE-GROCKIEGO	Françoise	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
DELAJE	Pierre-Olivier	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DENEVAULT	Caroline	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DOUZIECH-EYROLLES	Laurence	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
DUMAS	Jean-François	BIOCHIMIE GENERALE ET BIOTHERAPIE
GERMON	Stéphanie	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
GLEVAREC	Gaëlle	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
HERVE-AUBERT	Katel	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE

DELAZE
DENEVAULT
DOUZIECH-EYROLLES
DUMAS
GERMON
GLEVAREC
HERVE-AUBERT
JUSTE
LAJOIE
LANOUE
MARC
MARCHAIS
MAVEL
MUNNIER
OMBETTA-GOKA
OUDIN
PASQUALIN
PRIE
RESPAUD
SOUCE
TAUBER
VELGE-ROUSSEL
VERCOUILLIE
VERGOTE
VIERRON
ZHANG

Pierre-Olivier
Caroline
Laurence
Jean-François
Stéphanie
Gaëlle
Katel
Matthieu
Laurie
Arnaud
Jillian
Hervé
Sylvie
Emilie
Jean-Edouard
Audrey
Côme
Gildas
Renaud
Martin
Clovis
Florence
Johnny
Jackie
Emilie
Bei-Li

CHIMIE THERAPEUTIQUE
CHIMIE THERAPEUTIQUE
AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
BIOCHIMIE GENERALE ET BIOTHERAPIE
IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
BIOMOLECULES ET BIOTECHNOLOGIES VEGETALES
PHARMACIE GALENIQUE
CHIMIE THERAPEUTIQUE
PHARMACIE GALENIQUE
CHIMIE ORGANIQUE
BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
PHARMACOLOGIE
CHIMIE ORGANIQUE
CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
PHARMACOLOGIE

1 CONTRAT D'ENSEIGNEMENT

VANIER

Antoine

BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES

1 DIRECTEUR DE RECHERCHE

CHALON

Sylvie

INSERM

2 CHARGES DE RECHERCHE

MEVELEC
MOIRE

Marie-Noëlle
Nathalie

INRA
INRA

1 PRAG

WALTERS-GALOPIN

Susan

ANGLAIS

1 PAST

JOYEUX

VINCENT

Filière Pharmacie

3 AHU

FOUCAULT
FOUCAULT-FRUCHARD
MARLET

Amélie
Laura
Julien

HEMATOLOGIE
PHARMACIE CLINIQUE
MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE



SERMENT DE GALIEN

En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels ;

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession ;

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens ;

De coopérer avec les autres professionnels de santé ;

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Date : 30.08.2022

L'étudiant
Dylan MANCEAU

Le Doyen de la Faculté
Professeur Denys BRAND

Remerciements

A mes parents, je vous remercie pour la confiance aveugle que vous avez montré dans chacun de mes projets et de m'avoir toujours donné les moyens de poursuivre sereinement mes objectifs.

A mon frère, merci pour tout ce qu'on a partagé depuis l'enfance, tu n'as probablement pas conscience de l'influence que tu as eu sur la personne que je suis devenu.

A l'Atropine, meilleure fanfare de pharmacie de France, et tous ses membres, passés, présents et futurs, merci de toujours apporter jouissance musicale à qui veut bien l'entendre. Ma participation à cette fanfare a illuminé ma vie étudiante et m'a apporté de nombreux amis avec qui je suis très heureux d'avoir partagé tant de bons moments, musicaux et festifs, merci Hadrien, Alexandre, Aurélien, Sophie, Charles, Sébastien, Olivia, Sandrine, Pauline, Maxence, Valentin, Nicolas, Paul, Victor, Corentin, Elise, et beaucoup d'autres...

A Inès, mention spéciale pour toi, merci de tout ce qu'on a partagés, notamment notre année de presque co-présidence, nos interminables soirées jeux, tous ces repas au PharmaLounge, les sorties sportives, les folles soirées... On regarde Harry Potter quand tu veux !

A Maxence, merci de m'avoir proposé de créer le TIT avec toi, ce fut l'une des expériences les plus enrichissantes de mes études et je n'aurais pu rêver meilleur partenaire dans cette aventure !

A Laurent, Arthur et Thomas, merci de m'avoir pris sous vos ailes lors de nos nombreuses soirées et de m'avoir guidé dans la découverte de la Fête !

A Rémi, merci de ton amitié sans faille depuis tant d'années, si bien dans les moments joyeux que dans les moments difficiles. Tu me connais parfois mieux que je me connais moi-même, ton amitié est très importante pour moi.

A Monsieur Pierre Bredeloux, merci d'avoir accepté d'être mon directeur de thèse et merci de vos précieux conseils qui m'ont permis de lier mes travaux de recherche à cette thèse de pharmacie d'officine.

A Monsieur Jean-François Dumas, merci d'avoir accepté de présider mon jury de thèse et de l'enthousiasme que vous avez montré à cette idée, malgré certaines difficultés temporelles pour l'organisation de la soutenance.

A Monsieur Aurélien Hoerdts, merci d'avoir accepté de compléter mon jury, en tant qu'ami depuis mes premiers pas en pharmacie, je suis très heureux de partager ce dernier moment étudiant avec toi, en écho à tous ceux déjà partagés et à ceux qui viendront toujours hors du cadre des études.

A Madame Tihana Jovanic, merci d'avoir cru en moi en m'accueillant dans votre équipe en tant que stagiaire et en supportant la poursuite de mes travaux en thèse. Merci de m'avoir permis d'utiliser les données du laboratoire pour cette thèse et d'avoir participé à sa relecture. Merci également à tous les membres de l'équipe circuits neuronaux & comportement, Eloïse, Maxime, Anqi, Sandra et tous les stagiaires qui ont apporté leur pierre à l'édifice de nos recherches, pour l'entraide permanente et la bonne humeur qui règnent au quotidien au laboratoire.

Table des matières

TABLE DES FIGURES.....	8
TABLE DES TABLEAUX.....	9
LISTE DES ABREVIATIONS	10
INTRODUCTION	11
PARTIE 1. PHYSIOPATHOLOGIE DES NEUROPEPTIDES ALIMENTAIRES	13
1. PHYSIOLOGIE DE LA REGULATION DE LA PRISE ALIMENTAIRE	13
1.1. <i>Initiation des repas</i>	13
1.2. <i>Contrôle de la taille des repas</i>	13
1.2.1. Effecteurs centraux	14
1.2.1.1. Anatomie des centres régulateurs de la faim	14
1.2.1.2. Molécules centrales régulant la prise alimentaire.....	15
1.2.2. Signaux de satiété	20
1.2.2.1. Tractus gastro-intestinal	20
1.2.2.2. Innervation vague du tractus gastro-intestinal.....	20
1.2.2.3. Cellules sécrétoires du tractus gastro-intestinal.....	22
1.2.2.4. Molécules périphériques régulant la satiété	23
1.2.3. Signaux d'adiposité	25
1.3. <i>Intégration des différents signaux</i>	26
2. ALTERATION DE LA SIGNALISATION NEUROPEPTIDERGIQUE DANS LES TROUBLES ALIMENTAIRES	27
2.1. <i>Surpoids et obésité</i>	27
2.1.1. Epidémiologie.....	27
2.1.2. Physiopathologie.....	28
2.1.2.1. Développement de l'obésité	28
2.1.2.2. Conséquences de l'obésité.....	29
2.1.3. Implication des neuropeptides	31
2.1.4. Traitements	32
2.2. <i>Diabète de type 2</i>	33
2.2.1. Epidémiologie.....	33
2.2.2. Physiopathologie.....	33
2.2.2.1. Développement du diabète de type 2	33
2.2.2.2. Conséquences hormonales	33
2.2.3. Traitements	34
2.3. <i>Troubles du comportement alimentaire</i>	35
2.3.1. Epidémiologie.....	35
2.3.2. Altération de l'expression des neuropeptides	36
2.3.3. Traitements	37
PARTIE 2. MODULATION DE L'ACTIVITE DE CIRCUITS NEURONAUX IMPLIQUES DANS LA PRISE DE DECISION 38	
1. LES CIRCUITS DE NEURONES DANS LA GENERATION DE COMPORTEMENTS	38
1.1. <i>Formation des circuits de neurones</i>	38
1.2. <i>Cartographie des circuits de neurones</i>	39
1.3. <i>Pertinence comportementale</i>	40
2. LA NEUROMODULATION DONNE DE LA FLEXIBILITE AUX CIRCUITS NEURONAUX.....	40
2.1. <i>Principes de fonctionnement de la neuromodulation</i>	40

2.1.1.	Modulation de propriétés intrinsèques aux neurones	41
2.1.2.	Modulation de l'efficacité synaptique	41
2.1.3.	La neuromodulation à l'échelle des circuits.....	42
3.	LA LARVE DE DROSOPHILE COMME MODELE DE LA MODULATION DES CIRCUITS NEURONAUX PAR LES NEUROPEPTIDES	42
3.1.	<i>Avantages de l'utilisation de la larve de drosophile comme modèle animal.....</i>	42
3.1.1.	Compacité du système nerveux.....	42
3.1.2.	Manipulation génétiques ciblées avec une résolution cellulaire	42
3.1.3.	Facilités expérimentales.....	43
PARTIE 3. INFLUENCE DU SHORT NEUROPEPTIDE F ET DE L'ETAT NUTRITIONNEL SUR LA PRISE DE DECISION 44		
1.	RATIONNEL ET OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	44
2.	MATERIELS ET METHODES	46
2.1.	<i>Stocks de drosophiles</i>	46
2.2.	<i>Expériences de comportement.....</i>	48
2.3.	<i>Immunomarquages</i>	49
2.4.	<i>Analyse de données.....</i>	49
2.5.	<i>Analyse de connectivité.....</i>	50
3.	RESULTATS	51
3.1.	<i>Test de l'implication du sNPF dans la modulation de la réponse comportementale à un jet d'air par l'état interne</i>	51
3.1.1.	Locomotion basale	51
3.1.1.1.	Comportement de larves contrôles	51
3.1.1.2.	Comportement des larves SN/sNPF-R RNAi.....	52
3.1.2.	Réponse au jet d'air	52
3.2.	<i>Immunomarquage du sNPF-R</i>	54
3.3.	<i>Importance comportementale du sNPF dans le circuit de prise de décision.....</i>	57
3.3.1.	Inhibition de l'expression du sNPF-R dans les neurones mécano-sensoriels chordotonaux ..	57
3.3.2.	Inhibition de l'expression du sNPF-R dans l'interneurone inhibiteur Handle-B.....	58
3.3.3.	Inhibition de l'expression du sNPF-R dans l'interneurone inhibiteur Griddle-2.....	59
3.3.4.	Synthèse des données de comportement	59
3.4.	<i>Analyse de la connectivité des neurones chordotonaux par microscopie électronique.....</i>	60
3.4.1.	Partenaires présynaptiques des neurones chordotonaux.....	62
3.4.2.	Partenaires présynaptiques secondaires des neurones chordotonaux.....	63
4.	DISCUSSION.....	64
CONCLUSION		67
BIBLIOGRAPHIE.....		68

Table des figures

Figure 1 - Contrôle de la prise alimentaire par l'hypothalamus	14
Figure 2 - Centres cérébraux de la régulation de la prise alimentaire.....	15
Figure 3 - Distribution des neuropeptides et leurs récepteurs dans l'hypothalamus	16
Figure 4 - Schéma du système gastro-intestinal	20
Figure 5 - (A) Distribution de l'innervation du nerf vague ; (B) Innervation du TGI par le nerf vague	21
Figure 6 - Schéma de fonctionnement d'une cellule entéroendocrine	22
Figure 7 - Régulation de la prise alimentaire par les signaux d'adiposité.....	26
Figure 8 - Gènes associés à une obésité monogénique	28
Figure 9 - Diagramme de Venne des gènes impliqués dans l'obésité monogénique et oligogénique, le surpoids et l'obésité, l'IMC et la distribution des graisses.....	29
Figure 10 - Processus pathologiques associés à l'obésité	31
Figure 11 - Schéma de l'organisation d'un réseau de neurones.....	38
Figure 12 - Modulation de l'activité de neurones par des neuromodulateurs.....	41
Figure 13 - Système Gal4-UAS.....	43
Figure 14 - Réponse comportementales des larves à un jet d'air.....	44
Figure 15 - Circuit de prise de décision entre le hunch et le bend en réponse à un jet d'air..	45
Figure 16 - Distribution du sNPF et sNPF-R dans le système nerveux central de la larve de drosophile.....	46
Figure 17 - Schéma des neurones du circuit de décision ciblés par le RNAi sNPF-R pour tous les génotypes testés	47
Figure 18 - Dispositif expérimental	48
Figure 19 - Probabilités de toutes les actions traquées au cours du temps pour des larves contrôles (AttP2/UAS-TNT)	51
Figure 20 - Influence de la condition de nutrition sur la locomotion basale des larves contrôles (AttP2/UAS-TNT) et SN/sNPF-R RNAi.	52
Figure 21 - Modèle de l'activité des neurones de projection Basin et de la réponse comportementale des larves en fonction de l'activité des interneurons inhibiteurs	53
Figure 22 - Influence de la condition d'alimentation sur la réponse comportementale chez les larves contrôles (AttP2/UAS-TNT) et SN/sNPF-R RNAi	53
Figure 23 - Immunomarquage direct du sNPF-R sur l'interneurone Griddle-2	54
Figure 24 - Immunomarquage du sNPF-R sur les neurones mécano-sensoriels chordotonaux par expression génétique de protéines reportrices.....	56
Figure 25 - Immunomarquage du sNPF-R sur les neurones de projection Basin par expression génétique de protéines reportrices	56
Figure 26 - Immunomarquage du sNPF-R sur l'interneurone Handle-B par expression génétique de protéines reportrices	56
Figure 27 - Influence de la condition d'alimentation sur la réponse comportementale chez les larves chez les larves contrôles (AttP2/UAS-TNT) et Chordotonaux/sNPF-R RNAi	57
Figure 28 - Influence de la condition d'alimentation sur la réponse comportementale chez les larves chez les larves contrôles (AttP2-40/UAS-sNPF-R RNAi) et Handle-B/sNPF-R RNAi.....	58
Figure 29 - Influence de la condition d'alimentation sur la réponse comportementale chez les larves chez les larves contrôles (AttP2-40/UAS-sNPF-R RNAi) et Griddle-2/sNPF-R RNAi	59
Figure 30 - Connectivité des neurones chordotonaux.....	61

Table des tableaux

Tableau 1- Implication des principaux neuropeptides centraux dans la régulation de la prise alimentaire	19
Tableau 2- Synthèse des signaux de satiété.....	25
Tableau 3 - Nombre de larves de chaque génotype et condition de nutrition suivies pendant la locomotion basale et la réponse au jet d'air	50

Liste des Abréviations

AD	Activation Domain
AgRP	Protéine apparentée à Agouti
AP	Area postrema
ApoAIV	Apolipoprotéine A-IV
ARC	Noyau arqué
BDNF	Facteur neurotrophique dérivé du cerveau
BHE	Barrière-hémato-encéphalique
CART	Transcript régulé par la cocaïne et les amphétamines
CCK	Cholécystokinine
CRH	Corticolibérine
CTR	Récepteur de la calcitonine
DBD	DNA-Binding Domain
DMN	Noyau dorsomédian
DPPIV	Dipeptidyl peptidase IV
DT2	Diabète de type 2
EEC	Cellules entéroendocrines
GABA	Acide γ -aminobutyrique
GHS-Rs	Récepteur de la ghréline
GIP	Polypeptide inhibiteur gastrique
GLP-1	Glucagon-like peptide-1
GPCR	Récepteur couplé aux protéines G
IGLEs	Terminaisons laminaires intra-ganglionnaires
IMC	Indice de masse corporelle
LH	Hypothalamus latéral
MCH	Hormone de mélanocortine
MWT	MultiWormTracker
NPY	Neuropeptide Y
NTS	Noyau du faisceau solitaire
OXM	Oxyntomoduline
POMC	Proopiomélanocortine
PP	Polypeptide pancréatique
PVN	Noyau paraventriculaire
PYY	Peptide YY
RAMP	Protéine modifiant l'activité du récepteur
RNAi	ARN interférant double brin
SF-1	Facteur stéroïdogénique 1
SNC	Système nerveux central
SNP	Polymorphisme d'un seul nucléotide
sNPF	Short neuropeptide F
SON	Noyau supraoptique
TCA	Troubles du comportement alimentaire
TGI	Tractus gastro-intestinal
TNT	Toxine tétanique
TRH	Hormone thyroïdienne
UAS	Upstream activation sequence
VMN	Noyau ventromédian
VNC	Corde nerveuse ventrale
α -MSH	Hormone mélanotrope alpha

Introduction

La prise alimentaire est un élément essentiel de la vie. Sans la sensation de faim, nous serions incapables de savoir quand notre corps a besoin d'apports énergétiques et nous finirions par périr. Il est donc d'une importance capitale que notre organisme soit capable de réguler avec précision la quantité de nutriments à sa disposition à chaque instant, aussi bien par ses réserves que par la prise alimentaire. Cependant, une prise alimentaire en excès sans régulation n'est pas une solution acceptable puisqu'elle entraîne à son tour des troubles cardiovasculaires et métaboliques. De nombreux mécanismes ont donc été mis en place par notre organisme au cours de l'évolution pour ajuster la quantité de nourriture ingérée aux besoins de l'organisme à un instant donné. Cette régulation doit être capable de pousser un individu à engager une séquence comportementale le conduisant à se nourrir et doit donc agir sur le système nerveux central (SNC), siège de la prise de décisions et de la sélection des comportements.

Dans la nature, de nombreux animaux sont capables de déterminer si une source alimentaire contient les nutriments dont ils ont besoin et sélectionneront ainsi la source alimentaire dont la composition est optimale par rapport à leur physiologie, tout en évitant un surplus d'apport de certains composés qui serait délétère (1–4). Chez l'homme, cette capacité n'est pas si développée. Le fort aspect social de l'alimentation dans nos cultures, ainsi que la facilité avec laquelle nous pouvons nous procurer des aliments très variés et riches en calories tendent à nous pousser à sélectionner nos repas selon nos préférences gustatives, contre toute logique au regard de la qualité de leur composition.

Dans ce contexte, nous ne sommes pas égaux et de nombreux facteurs font que certaines personnes sont plus attirées par une alimentation malsaine que d'autres. Cette alimentation non-optimale entraîne l'apparition de nombre de pathologies métaboliques comme le diabète ou l'obésité, mais peut également jouer un rôle dans le développement de pathologies qui ne semblent pas de prime abord liées directement à l'alimentation, comme certains cancers ou certaines pathologies neurologiques (5,6).

Afin d'obtenir une compréhension complète des mécanismes impliqués dans les comportements liés à l'alimentation, il est nécessaire d'être capable d'étudier les processus mis en jeu à l'échelle moléculaire sur les différents neurones, à l'échelle cellulaire au sein des circuits formés par les neurones et enfin à l'échelle des réseaux de neurones qui font interagir plusieurs circuits. La complexité du cerveau humain, ainsi que l'invasivité inhérente aux différentes techniques nécessaires, rendent impossible la dissection de ces processus directement chez l'Homme. L'utilisation de modèles animaux joue un rôle crucial dans la recherche car elle permet l'utilisation d'outils particulièrement puissants, sur des systèmes nerveux beaucoup plus compacts, menant à l'élucidation de propriétés fondamentales des neurones et des circuits qui sont conservées au travers de la majorité des espèces du règne animal.

Au cours de cette thèse, nous allons étudier le rôle du système nerveux dans la régulation physiologique de la prise alimentaire et les mécanismes impliqués dans l'apparition de troubles du comportement alimentaire menant au développement de pathologies métaboliques.

Dans une première partie, nous nous focaliserons sur la description des acteurs impliqués dans la prise alimentaire et leurs interactions au sein de circuits de neurones. Nous nous intéresserons ensuite aux rôles que la dérégulation de ces interactions joue dans le développement et l'entretien de pathologies telles que l'obésité, le diabète ou l'anorexie et comment la compréhension fine de l'équilibre entre les différents acteurs peut mener au développement de traitements médicamenteux.

Nous verrons ensuite comment s'organisent les circuits de neurones ainsi que l'impact que des molécules neuromodulatrices peuvent avoir sur leur activité.

Nous expliquerons l'intérêt de l'utilisation de la larve de drosophile comme modèle animal de l'étude de la modulation de comportements par l'intermédiaire de circuits de neurones. Enfin, je présenterais, en dernière partie de cette thèse, des travaux de recherche que j'ai réalisés pour illustrer l'importance de l'alimentation dans des choix comportementaux qui ne sont pas directement liés à la prise de nourriture, ainsi que les méthodes disponibles pour élucider les mécanismes de modulation de l'activité de circuits neuronaux.

Partie 1. Physiopathologie des neuropeptides alimentaires

1. Physiologie de la régulation de la prise alimentaire

La prise alimentaire est fractionnée en plusieurs repas au cours d'une journée. Chez l'être humain, comme chez de nombreux animaux, ces repas sont le plus souvent réalisés en nombre constant chaque jour et ont lieu à horaires réguliers. Les repas ont pris une dimension sociale particulièrement importante chez nous, constituant un moment convivial où familles et amis se retrouvent, et non un simple besoin mécanique de réapprovisionner nos réserves en énergie.

1.1. Initiation des repas

Pendant longtemps, la théorie glucostatique, formulée par Jean Mayer dans les années 1950, a été considérée comme la meilleure explication de l'initiation de la prise alimentaire. Cette théorie stipule que l'hypothalamus surveille le niveau de glucose disponible dans l'organisme et qu'un repas est initié lorsque celui-ci diminue au-dessous d'un certain seuil. Au cours du repas, le niveau de glucose augmente à nouveau jusqu'à un seuil où le repas peut se terminer (7).

Depuis une vingtaine d'années cependant, il est admis que ce mécanisme seul serait dangereux car il implique de laisser s'installer une hypoglycémie avant de commencer à manger. Qu'arriverait-il si le seuil glycémique nécessaire à l'initiation d'un repas était dépassé à un moment où aucune source alimentaire n'est disponible ? Et si un danger urgent nécessitait une réaction immédiate qui retarderait la prise alimentaire ? Une hypoglycémie dans ce genre de situations serait catastrophique, d'autant plus que la digestion impose un délai entre l'ingestion des aliments et l'absorption des nutriments dans la circulation sanguine. Il est donc important pour l'organisme de pouvoir initier un repas avant qu'un manque de réserve énergétique important ne se déclare. En outre, il a été montré qu'une diminution de la concentration sanguine de glucose précède l'apparition d'une sensation de faim et l'initiation d'un repas. Cette diminution du glucose sanguin est cependant d'une amplitude faible (environ 10%) et se corrige spontanément si aucune prise alimentaire n'est engagée, retardant l'initiation d'un repas à une prochaine chute spontanée de la glycémie. Ces chutes transitoires de la glycémie semblent être sous le contrôle d'une libération d'insuline par le nerf vague (8,9).

Ainsi, le début des repas ne semble pas être dirigé par un mécanisme physiologique impérieux, mais plutôt par le contexte dans lequel se trouve l'individu, la nourriture à sa disposition, son apprentissage et ses habitudes. La régulation de la quantité de nourriture ingérée dépend donc peu de l'initiation des repas, elle repose majoritairement sur le contrôle de la taille de ces derniers (10).

1.2. Contrôle de la taille des repas

La quantité de nourriture ingérée au cours d'un repas est contrôlée par trois principaux types de signaux : les signaux de satiété, les signaux d'adiposité et les effecteurs centraux (11). L'intégration de l'ensemble de ces signaux a pour rôle d'optimiser la prise alimentaire en s'assurant qu'un individu ingère au cours d'un repas une quantité de nourriture suffisante pour renflouer les stocks d'énergie disponible jusqu'au prochain repas, tout en évitant une prise alimentaire inutilement excessive qui entraînerait une prise de poids délétère pour la santé. Cette intégration, qui sera développée plus tard, a lieu majoritairement au niveau de l'hypothalamus comme l'illustre la Figure 1 (12).

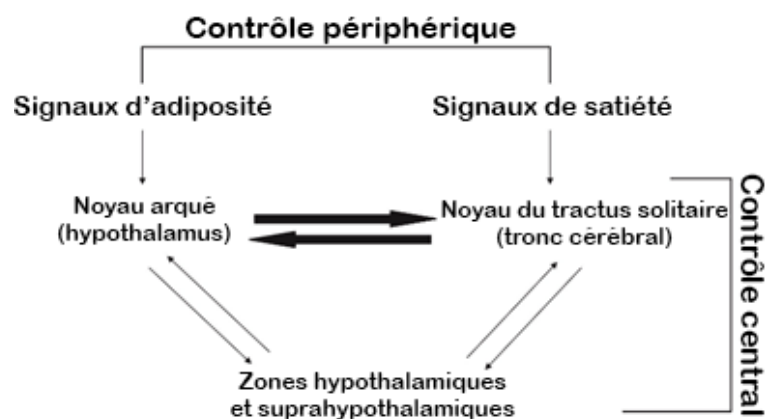


Figure 1 - Contrôle de la prise alimentaire par l'hypothalamus – modifiée depuis (12)

1.2.1. Effecteurs centraux

1.2.1.1. Anatomie des centres régulateurs de la faim

Les effecteurs centraux sont des signaux sécrétés par l'activation de circuits neuronaux dans plusieurs régions cérébrales suite à l'action des signaux de satiété et d'adiposité (11). Au cours des années, différentes études et observations ont permis d'accumuler des connaissances sur les conséquences engendrées par des lésions de différentes zones du cerveau. C'est de cette manière que les scientifiques ont commencé à proposer une cartographie du cerveau en rapport avec les fonctions dans lesquelles chaque zone a été impliquée. L'hypothalamus a ainsi été identifié comme une structure critique dans la régulation de la prise alimentaire. Il a tout d'abord été pensé que l'hypothalamus ventromédian agissait comme un centre de la satiété et l'hypothalamus latéral comme un centre de la faim. Aujourd'hui, il est admis que les différentes fonctions contrôlées par ces structures cérébrales reposent sur l'activité de circuits neuronaux distincts, intégrés dans un ensemble complexe de réseaux neuronaux, dans lesquels certains neurones et neurotransmetteurs jouent spécifiquement un rôle anorexigène ou orexigène (13). Au sein de l'hypothalamus, des circuits anorexigènes et orexigènes ont été identifiés, bien que l'intégralité de leur connectivité ne soit pas élucidée. Dans les paragraphes suivants nous allons détailler ces circuits qui sont schématisés dans la Figure 2.

Le noyau arqué (ARC) de l'hypothalamus est un acteur majeur de la régulation de la prise alimentaire. N'étant pas totalement isolé par la barrière-hémato-encéphalique (BHE), il s'agit d'un centre privilégié pour intégrer à la fois les informations sur l'état nutritionnel venant de la périphérie par l'intermédiaire de la circulation sanguine et les signaux échangés par les différents acteurs du réseau de neurones dont il fait partie. En particulier, deux populations de neurones retrouvées dans l'ARC sont impliquées dans la régulation de la prise alimentaire : la première coexprime le neuropeptide Y (NPY) et la protéine apparentée à Agouti (AgRP) qui augmentent la prise alimentaire et la deuxième coexprime la proopiomélanocortine (POMC) et le transcript régulé par la cocaïne et les amphétamines (CART) qui la diminuent (13–15).

Le noyau paraventriculaire (PVN) est un centre orexigène important de l'hypothalamus. Il contient des neurones qui reçoivent des informations des neurones de l'ARC et expriment la corticolibérine (CRH) et l'hormone thyroïdienne (TRH), toutes deux impliquées dans la régulation de la prise alimentaire (13). De manière similaire, l'hypothalamus latéral (LH) est situé en aval de l'ARC et sécrète l'hormone de mélanocortine (MCH) ainsi que les orexines A et B, ayant une action orexigène (13).

Enfin, le noyau dorsomédian (DMN) et le noyau ventromédian (VMN) de l'hypothalamus ont tous les deux un rôle anorexigène. Le DMN reçoit des projections de neurones de l'ARC et envoie lui-même des projections vers le PVN, où il sécrète le NPY et l'hormone mélanotrope alpha (α -MSH) (13). Le VMN reçoit également des projections de l'ARC et contient de plus des neurones sensibles au niveau de glucose dans le sang. De nombreux neurones du VMN expriment l'histamine, la dopamine, la sérotonine ou l'acide γ -aminobutyrique (GABA) en réponse aux signaux liés à l'alimentation. En outre, le VMN exprime le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) qui est important au cours du développement cérébral mais exerce également une action anorexigène chez l'adulte (13).

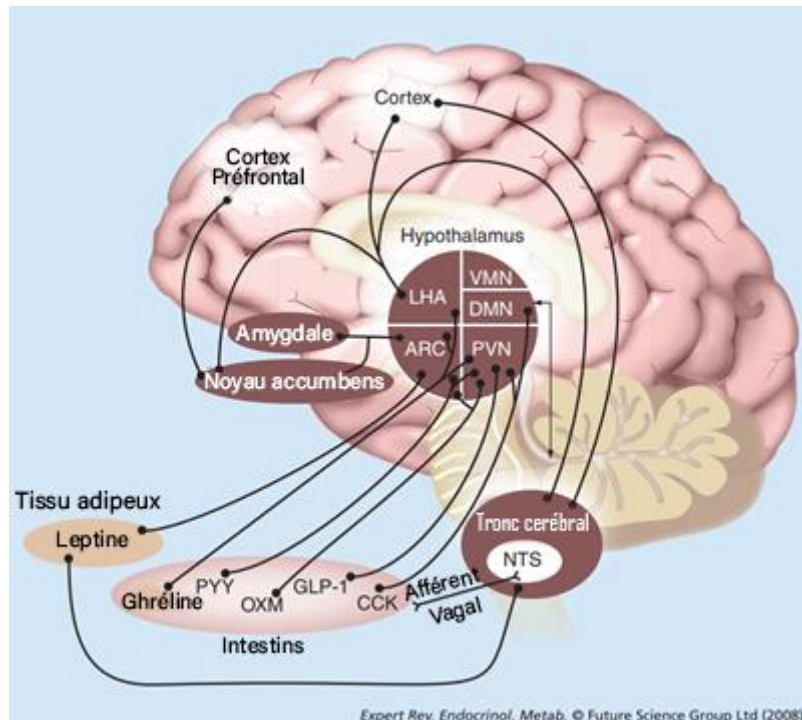


Figure 2 - Centres cérébraux de la régulation de la prise alimentaire – modifiée depuis (13)

1.2.1.2. Molécules centrales régulant la prise alimentaire

Au sein des réseaux décrits précédemment, les mécanismes d'action des différentes molécules utilisées par les neurones pour communiquer l'état nutritionnel et stimuler ou inhiber la prise alimentaire ne sont que partiellement élucidés. Il est cependant clair que l'ensemble des neurones dans ce réseau interagissent étroitement et qu'un équilibre fin entre la sécrétion de molécules anorexigènes et orexigènes est essentiel à la bonne adaptation de la quantité de nourriture qui sera ingérée par rapport aux besoins de l'organisme. La plupart des molécules impliquées dans ce réseau sont des neuropeptides qui ont des propriétés très différentes des neurotransmetteurs classiques, bien que les deux soient exprimés dans les mêmes neurones. La Figure 3 synthétise la distribution des différents neuropeptides et de leurs récepteurs dans l'hypothalamus, le Tableau 1 résume leur implication dans la régulation de la prise alimentaire.

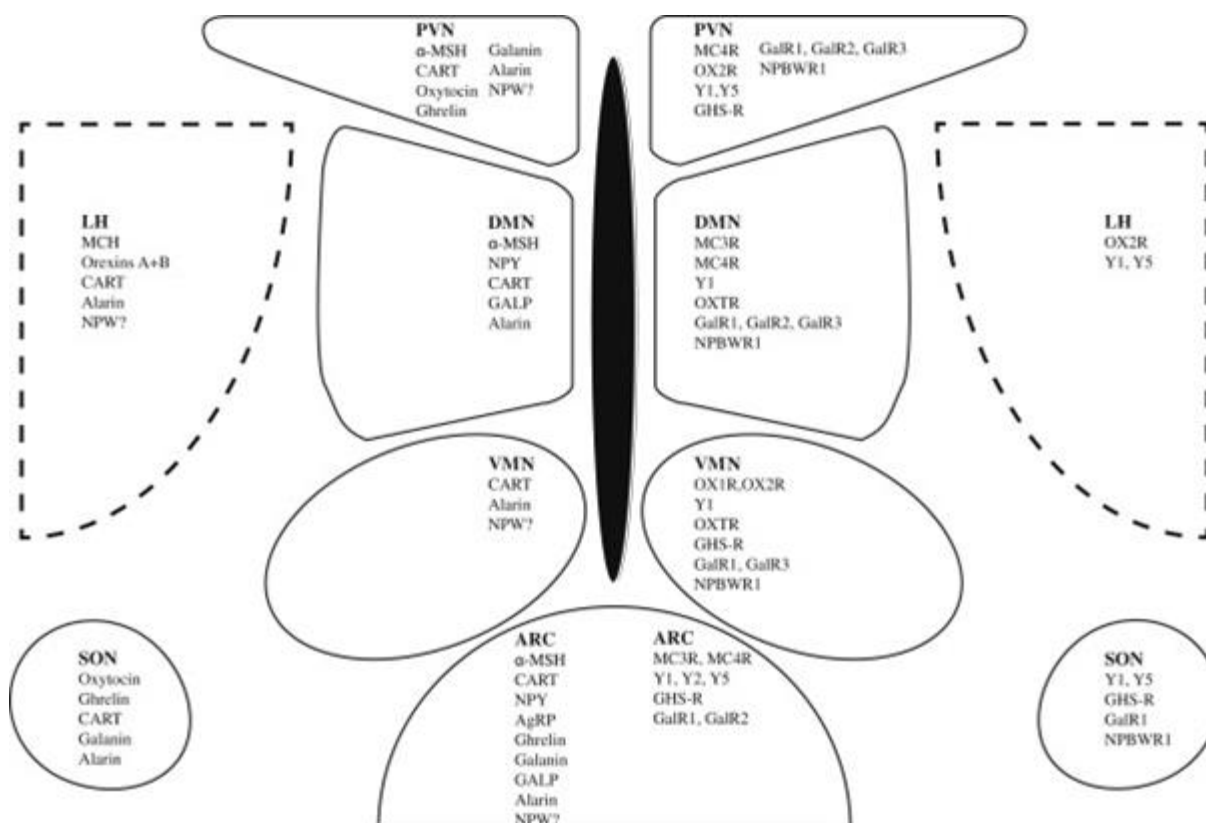


Figure 3 - Distribution des neuropeptides (gauche) et leurs récepteurs (droite) dans l'hypothalamus (15)

Contrairement aux neurotransmetteurs, les neuropeptides ne sont pas libérés spécifiquement au niveau de synapses : ils peuvent au contraire être sécrétés à partir de vésicules retrouvées au niveau du soma, de l'axone ou des dendrites du neurone. La libération de neurotransmetteurs est déclenchée en réponse à une augmentation locale importante de la concentration en ions calciques qui peut être la conséquence d'un potentiel d'action ; alors que la libération de neuropeptides requière une augmentation de la concentration en ions calciques plus globale dans le cytoplasme du neurone qu'il est peu probable d'observer après un unique potentiel d'action. De plus, n'étant pas sujets à des phénomènes de recapture par des transporteurs situés sur les neurones et les cellules gliales, les neuropeptides sont capables de diffuser sur des distances beaucoup plus importantes que les neurotransmetteurs. Ce large rayon d'action est en accord avec des observations de récepteurs de neuropeptides dans des zones éloignées des neurones les sécrétant, et avec le fait que les neuropeptides ont une affinité très élevée pour leurs récepteurs, permettant leur activation à faible concentration. Par ces propriétés, l'action des neuropeptides n'est pas spatialement ni temporellement spécifique. Ainsi, les neuropeptides ne semblent pas être utilisés pour communiquer une information très précise entre deux neurones, mais plutôt pour signaler largement un état à différents acteurs. La spécificité de l'information serait donc détenue par l'identité du neuropeptide et de ses récepteurs, ce qui pourrait expliquer le grand nombre de neuropeptides identifiés (15).

Le neuropeptide Y est le signal orexigène le plus puissant connu à ce jour et est largement exprimé dans le cerveau. Les neurones de l'ARC exprimant le NPY projettent des axones vers le PVN où la libération de NPY entraîne une augmentation de la prise alimentaire, une diminution des dépenses énergétiques et une augmentation de la lipogenèse. L'expression du NPY dans ce circuit augmente dans des conditions associées à une perte de poids, comme un déficit calorique ou à la suite d'un exercice physique intense, facilitant ainsi la reprise du poids perdu. Les récepteurs Y1 et Y5 du NPY sont tous deux abondants dans le PVN et impliqués dans son action orexigène. En effet, leur blocage par un antagoniste sélectif entraîne une diminution de la prise alimentaire et inhibe la réponse orexigène au NPY, alors que leur activation par un agoniste sélectif stimule la prise alimentaire. Le récepteur Y2 est également exprimé dans l'ARC et semble jouer le rôle d'autorécepteur inhibiteur des neurones sécrétant le NPY. Cependant, l'action du NPY ne s'arrête pas à ce circuit et la large distribution de ses récepteurs fait qu'il est capable d'influencer la sécrétion d'autres neuropeptides, d'interagir avec les voies de la récompense et d'influencer des comportements locomoteurs. De plus, en fonction du contexte énergétique dans lequel se trouve l'organisme, l'expression des différents récepteurs au NPY peut être modulée de manière spécifique dans les différentes zones cérébrales où ils sont présents, permettant d'adapter d'autant plus l'action du NPY aux besoins de l'organisme dans le contexte précis où il se trouve à un moment donné (14–17).

L'ARC est le principal foyer de neurones exprimant la POMC. Au sein de ces neurones, la POMC est clivée en α -MSH qui est sécrétée dans plusieurs régions cérébrales impliquées dans la régulation de l'homéostasie énergétique, notamment le PVN, où elle exerce une action anorexigène. L' α -MSH peut se fixer sur le récepteur MC4R, exprimé largement dans le cerveau, et le récepteur MC3R, dont l'expression est plus restreinte et se retrouve principalement dans l'ARC et le DMN. Ces deux récepteurs ont une activité constitutive en l'absence de ligand et l' α -MSH augmente leur activité pour exercer son activité anorexigène. Ainsi, l'action des neurones POMC de l'ARC s'oppose à l'action des neurones NPY. L'existence d'un équilibre entre l'activité de ces deux populations est appuyée par le fait que l'expression de la POMC diminue en cas de jeûne, quand celle du NPY augmente (14–18).

À l'opposé de l' α -MSH, l'AgRP est un peptide orexigène qui joue un rôle d'agoniste inverse sur les récepteurs MC3R et MC4R, inhibant leur activité constitutive et empêchant leur activation par l' α -MSH par compétition. L'AgRP est un neuropeptide exprimé exclusivement dans l'ARC où il est retrouvé dans les mêmes neurones qui expriment le NPY. Le rôle physiologique de l'AgRP reste ambigu : elle ne semble pas nécessaire à l'action orexigène des neurones mais pourrait être utilisée pour potentialiser l'action du NPY, particulièrement dans des conditions de haute demande énergétique (14–17).

Les neurones POMC de l'ARC expriment également le CART, qui est en outre retrouvé dans plusieurs autres noyaux de l'hypothalamus. Le mécanisme d'action du CART n'est, à ce jour, pas élucidé et aucun récepteur du CART n'a été identifié. De plus, l'injection du CART dans le liquide cébrospinal entraîne une diminution de la prise alimentaire, alors qu'une injection directe dans différents noyaux de l'hypothalamus entraîne un effet orexigène. Ces observations conflictuelles ont fait naître l'hypothèse que l'interaction du CART avec les autres neuropeptides impliqués dans la régulation de la prise alimentaire dans l'hypothalamus pourrait être orexigène, tandis que le CART aurait un effet anorexigène en interagissant avec des structures du tronc cérébral (15,17,19,20).

Le LH est le principal site d'expression de la MCH et des orexines A et B qui sont trois peptides orexigènes venant de deux populations de neurones différentes. L'expression de ces peptides augmente en cas de jeûne. Les deux récepteurs de la MCH, MCHR1 et MCHR2, sont largement exprimés dans le cerveau. La stimulation de la prise alimentaire par la MCH semble être liée à l'activité inhibitrice du récepteur MCHR1 sur les neurones du noyau accumbens. Le noyau accumbens joue un rôle important dans l'aspect motivationnel de l'alimentation et l'activité de la MCH augmenterait la motivation des individus à engager des comportements liés à la prise alimentaire, ainsi que la sensation de plaisir apportée par la nourriture (14,15,17,21). Les orexines A et B, quant à elles, se fixent sur les récepteurs OX1R et OX2R. L'orexine A possède une haute affinité pour ces deux récepteurs, contrairement à l'orexine B qui se fixe de manière préférentielle sur le récepteur OX2R. La distribution des deux récepteurs est différente : OX1R étant principalement exprimé dans le VMN et OX2R dans le PVN. Un déficit en orexines entraîne l'apparition de narcolepsie, suggérant un effet stimulant de ces peptides sur l'éveil, qui pourrait être partiellement responsable de l'effet orexigène des orexines. Cependant, d'autres mécanismes d'action des orexines ont été mis en évidence. Il semble en effet que l'activation des récepteurs des orexines dans le tronc cérébral soit capable de prolonger les repas en retardant l'action des signaux de satiété dont le rôle est d'exercer un rétrocontrôle sur l'ingestion d'aliments. De plus, OX1R et OX2R sont tous deux exprimés dans l'aire tegmentale ventrale où leur activation entraîne la dépolarisation des neurones, et notamment de neurones dopaminergiques. De cette manière, les orexines stimulent la motivation et la sensation de récompense liées à l'alimentation, au même titre que la MCH (14,15).

L'ocytocine est un neuropeptide que l'on retrouve exprimé dans le PVN et le noyau supraoptique (SON) de l'hypothalamus. Elle est impliquée dans plusieurs fonctions physiologiques, ce qui est en accord avec la large expression de son récepteur (OXTR) dans le cerveau. Dans la régulation de la prise alimentaire, l'ocytocine a une action anorexigène qui semble être la conséquence d'une sensibilisation des neurones du noyau du faisceau solitaire (NTS) dans le tronc cérébral aux différents signaux de satiété qui y convergent à la suite de l'ingestion de nourriture. En outre, l'ocytocine semble capable d'influencer la préférence alimentaire au cours d'un repas. En effet, l'ingestion spécifique de glucides entraîne une activation particulièrement importante des neurones du PVN qui expriment l'ocytocine et le blocage de son récepteur dans le NTS par un antagoniste sélectif augmente l'ingestion de glucides mais pas de lipides (15,22).

Plusieurs autres neuropeptides, retrouvés dans les différents noyaux de l'hypothalamus et impliqués dans la régulation de la prise alimentaire avec une importance plus restreinte et des mécanismes moins bien connus, ont été identifiés. Parmi eux, la galanine stimule la prise alimentaire alors que la CRH, la TRH et le BDNF la réduisent. Le neuropeptide W quant à lui semble avoir des actions opposées en fonction du rythme circadien (12–17,23).

Hormone	Principal lieu de synthèse	Récepteur impliqué dans l'effet sur la faim	Principal lieu d'action	Effet sur la prise alimentaire
NPY	ARC	Y1, Y2, Y5	PVN	↑
α-MSH	ARC	MC3R, MC4R	PVN	↓
AgRP	ARC	MC3R, MC4R	PVN	↑
CART	ARC	?	Hypothalamus/Tronc cérébral	↑/↓
Orexine A	LH	OX1R, OX2R	VMN, PVN	↑
Orexine B	LH	OX2R	PVN	↑
MCH	LH	MCHR1, MCHR2	Noyau accumbens	↑
Ocytocine	PVN	OXTR	NTS	↓

Tableau 1- Implication des principaux neuropeptides centraux dans la régulation de la prise alimentaire

Outre l'action des nombreux neuropeptides vus précédemment dans la régulation de la prise alimentaire, les neurones impliqués dans ces circuits hypothalamiques communiquent également par l'échange de neurotransmetteurs classiques. Il est logique que l'activité de ces neurotransmetteurs soit elle aussi capable de moduler la prise alimentaire des individus. Malgré cela, l'étude du rôle des neurotransmetteurs dans la régulation des comportements alimentaires a été relativement négligée. Peu d'informations sont actuellement disponibles concernant les différents partenaires neuronaux dont la signalisation synaptique entraîne une stimulation ou une répression de la prise alimentaire. Néanmoins, le GABA, principal neurotransmetteur inhibiteur dans le système nerveux central, a été identifié comme ayant la capacité de stimuler la prise alimentaire, notamment par son action dans les différents noyaux de l'hypothalamus. Il en va de même pour le glutamate, neurotransmetteur excitateur, au minimum par une action dans le LH (14).

De plus, plusieurs monoamines influent sur le contrôle de l'alimentation. L'hypothalamus reçoit des projections de neurones sérotoninergiques en provenance du noyau du raphé dans le tronc cérébral. La libération de sérotonine dans l'hypothalamus entraîne une augmentation de la prise alimentaire. Le tronc cérébral envoie également des projections noradrénergiques vers l'hypothalamus où la noradrénaline est capable à la fois d'inhiber ou de stimuler la prise alimentaire en fonction des régions dans laquelle elle est libérée. Dans l'hypothalamus, une population unique de neurones produit de l'histamine et envoie des projections de manière large à travers le cerveau. L'histamine sécrétée par ces neurones possède une action anorexigène qui est médiée par le VMN et le PVN. Enfin, la sécrétion de dopamine, dans le striatum, est nécessaire à la production de la motivation entraînant l'initiation d'un repas par son action sur le LH, ainsi qu'au renforcement des comportements alimentaires par son implication au sein du circuit de récompense dans le noyau accumbens (14,24,25).

1.2.2. Signaux de satiété

1.2.2.1. Tractus gastro-intestinal

Les signaux de satiété sont produits par le tractus gastro-intestinal (TGI) et les organes associés au cours d'un repas (11). La Figure 4 nous offre un rappel de l'anatomie du système digestif : la nourriture, une fois ingérée par la bouche et prédigérée par la mastication, traverse l'œsophage pour arriver jusqu'à l'estomac où elle sera davantage digérée avant d'entrer dans le duodénum. S'ensuit alors un voyage le long des intestins au cours duquel la digestion se terminera, les nutriments seront absorbés et les déchets éliminés par le rectum. Le foie, le pancréas et la vésicule biliaire sont en relation très étroite avec le tractus gastro-intestinal et sécrètent dans le duodénum de nombreuses substances utiles à la digestion (26).

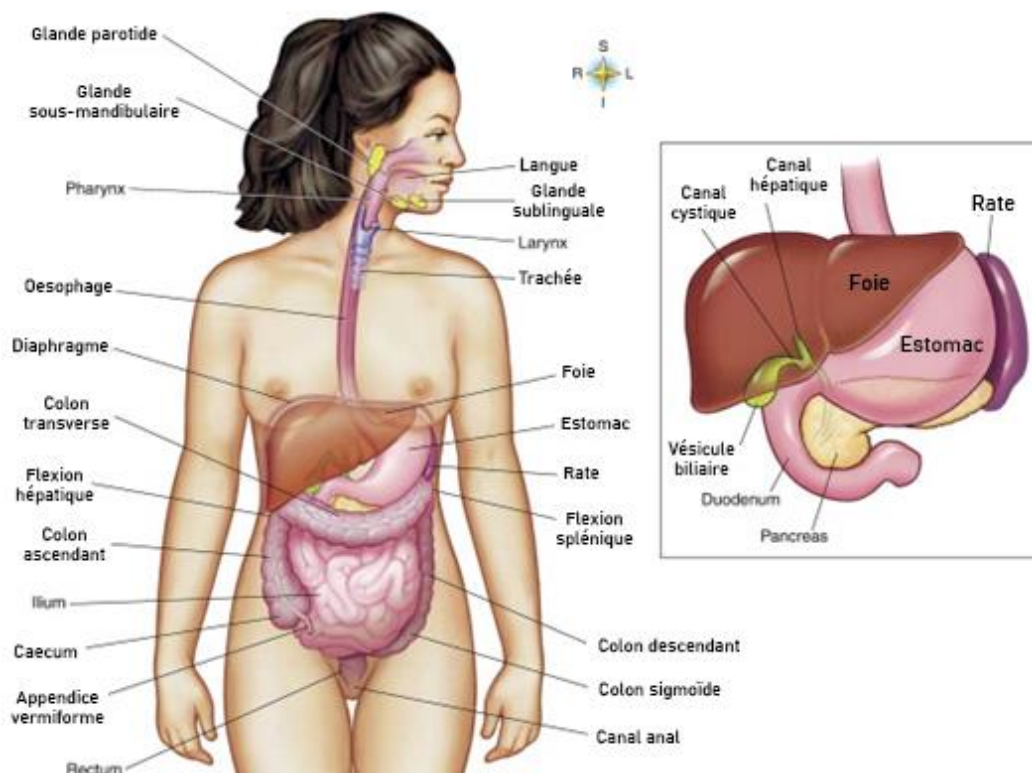


Figure 4 - Schéma du système gastro-intestinal – modifiée depuis (26)

1.2.2.2. Innervation vague du tractus gastro-intestinal

Le nerf vague, dixième et plus long nerf crânien, est un acteur majeur de la signalisation de la satiété. Comme le montre la Figure 5A, le nerf vague innerve la majorité des organes du cou jusqu'au colon. Les fibres nerveuses le composant sont pour 80% sensorielles (afférentes ou ascendantes) et pour 20% motrices (efférentes ou descendantes), ce qui implique que le nerf vague est capable non seulement de faire remonter des informations des organes vers le cerveau, mais aussi d'influencer l'activité de ces organes sous le contrôle d'informations venant du cerveau (27).

L'innervation afférente du tractus gastro-intestinal par le nerf vague est très dense dans sa partie haute et se compose de trois classes de terminaisons nerveuses différentes : les terminaisons laminaires intra-ganglionnaires (IGLEs pour Intraganglionic Laminar Endings), les terminaisons muqueuses et les réseaux intra-musculaires (28,29). Les réseaux intra-musculaires et les IGLEs sont des mécanorécepteurs retrouvés dans différentes couches de la paroi du TGI (Figure 5B) qui sont activés par les distorsions et les contractions de ce dernier, qui surviennent lorsque de la nourriture est ingérée et au cours de sa digestion. Les terminaisons muqueuses sont localisées au contact de la lame basale sur laquelle repose l'épithélium digestif (Figure 5B) et jouent également un rôle de mécanorécepteur puisqu'elles sont capables de percevoir de légers frottements ou compressions de la paroi du TGI. Cependant, les terminaisons muqueuses ont en plus un rôle majeur de chimiorécepteur : elles sont en effet idéalement localisées pour détecter aussi bien les nutriments absorbés par l'épithélium digestif que les médiateurs sécrétés par les cellules épithéliales ou d'autres structures que l'on peut retrouver dans la muqueuse du TGI (28–30).

Les corps cellulaires des neurones à l'origine de ces terminaisons afférentes sont retrouvés majoritairement dans le ganglion noueux et envoient d'autres projections vers le noyau du faisceau solitaire, localisé dans le tronc cérébral, où ils forment des connexions synaptiques avec des neurones de second ordre, communiquant ainsi au système nerveux central des informations venant du tractus gastro-intestinal (Figure 5B). Les neurones du NTS transmettent ensuite ces informations aux neurones du noyau arqué au sein de l'hypothalamus (Figure 1), où l'arrêt du repas sera coordonné par les effecteurs centraux (12,30).

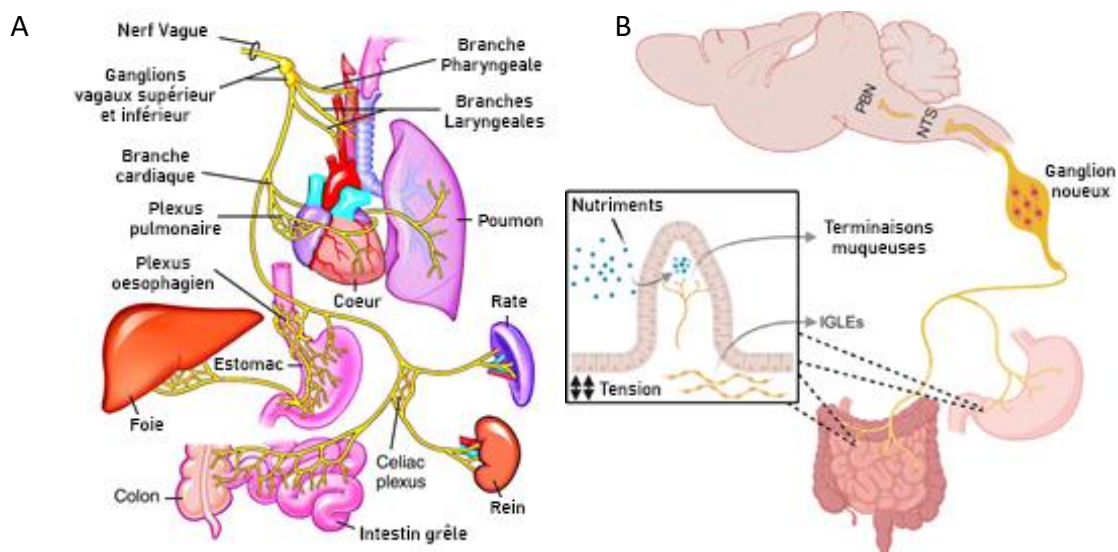


Figure 5 - (A) Distribution de l'innervation du nerf vague – modifiée depuis (31) ; (B) Innervation du TGI par le nerf vague – modifiée depuis (30)

Le nerf vague est donc une voie de communication privilégiée entre le tractus gastro-intestinal et le système nerveux central. Les terminaisons afférentes mécanoréceptrices permettent un suivi mécanique de la quantité de nourriture ingérée et de l'augmentation du volume de l'estomac qu'elle provoque. Ces informations mécaniques ne sont toutefois pas suffisantes et de nombreuses molécules jouent le rôle de signaux de satiété.

1.2.2.3. Cellules sécrétoires du tractus gastro-intestinal

Le long du tractus gastro-intestinal, on retrouve des cellules entéroendocrines (EEC) disséminées parmi les entérocytes formant l'épithélium gastrique. Ces cellules entéroendocrines ne représentent pas plus de 1% des cellules de l'épithélium gastrique mais jouent un rôle majeur dans la régulation de la satiété. En effet, les EEC peuvent être catégorisées en plus de 15 sous-types produisant plus de 20 hormones différentes (32,33). La Figure 6 illustre le rôle sensitif et sécrétoire des EEC dites de type ouvert. La membrane de ces EEC forme des microvillosités sur sa face luminale, offrant une grande surface de contact avec le contenu de la lumière du TGI, idéale pour détecter la composition de son contenu. Au cours de la digestion, les nutriments extraits des aliments (protéines, lipides et glucides), ainsi que leurs métabolites et les substances sécrétées pour faciliter la digestion, telles que les acides biliaires, voyagent dans la lumière du TGI. Les EEC détectent ces substances et répondent à leur contact en sécrétant les hormones peptidiques qu'elles stockent dans des granules denses à leur base. Il existe également des EEC dites de type fermé qui ne sont pas en contact direct avec la lumière du TGI et seront stimulées soit par les substances absorbées dans l'épithélium gastrique, soit par voie neurale ou hormonale. Les hormones ainsi sécrétées vont pouvoir interagir de façon paracrine avec des cellules proches, stimuler les chimiorécepteurs des terminaisons muqueuses du nerf vague, ou encore atteindre la circulation sanguine et exercer un effet directement sur des structures distantes comme le noyau du faisceau solitaire dans le tronc cérébral (32–34).

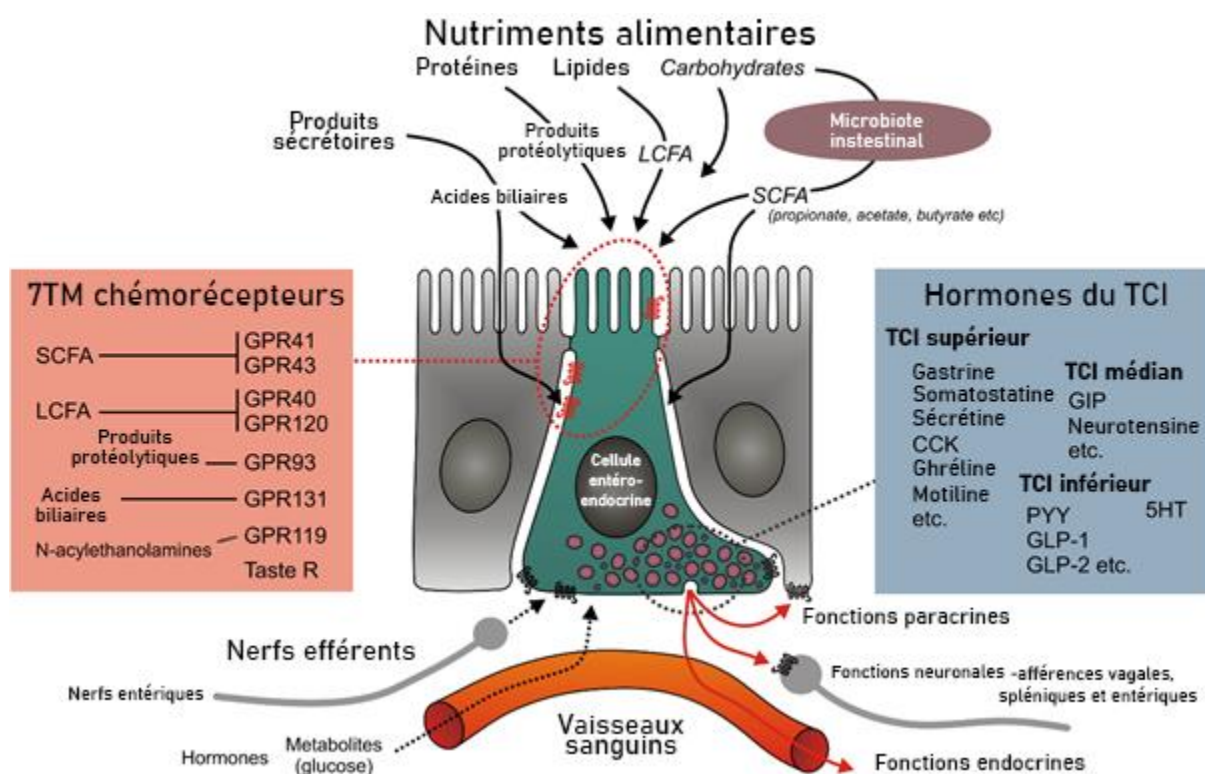


Figure 6 - Schéma de fonctionnement d'une cellule entéroendocrine – modifiée depuis (34)

Les différents sous-types d'EEC expriment des récepteurs différents sur leur membrane et sécrètent un cocktail spécifique de plusieurs hormones. Ainsi, la combinaison des récepteurs qui seront activés après un repas sera dépendante de la composition des aliments ingérés et la réponse hormonale y sera adaptée car seuls les sous-types d'EEC appropriés seront activés. Les hormones sécrétées par les EEC ont d'abord été étudiées pour leur rôle essentiel de contrôle des diverses fonctions impliquées dans la digestion comme la sécrétion de sucs pancréatiques, d'acides gastriques, la contraction de la vésicule biliaire, etc. avant que leurs capacités importantes de régulation de l'appétit et de la satiété ne soient établies (32–34). Dans les prochains paragraphes, nous allons nous intéresser plus particulièrement aux hormones sécrétées par les cellules entéroendocrines qui constituent les principaux signaux de satiété.

1.2.2.4. Molécules périphériques régulant la satiété

Afin d'être considérée comme un signal de satiété, une molécule doit répondre à un certain nombre de critères. Il faut tout d'abord que la sécrétion de cette molécule augmente au cours de la prise alimentaire et que son action soit d'installation rapide et de durée limitée. De plus, une réduction de la taille des repas à la suite de la libération de cette molécule doit être observée à des concentrations physiologiques et ne doit pas être causée par une sensation de malaise ou de dégoût. Enfin, l'administration exogène de cette molécule doit être capable d'entraîner une réduction de la prise alimentaire, tout comme l'inhibition de son activité doit pouvoir atténuer son action anorexigène (35). Parmi les nombreuses hormones sécrétées par les cellules entéroendocrines, plusieurs répondent à ses critères. La plupart de ces hormones régulent plusieurs processus physiologiques à la fois, comme la vidange gastrique ou l'équilibre glycémique. Nous allons nous concentrer uniquement sur leur rôle dans la régulation de la satiété, le Tableau 2 résume l'action de chacune de ces molécules.

Dans les années 80, la cholécystokinine (CCK) fut la première hormone gastrique dont la capacité à moduler l'appétit a été montrée chez l'humain (36). Cette hormone est sécrétée par certains sous-types d'EEC en réponse à l'ingestion de protéines et de lipides. La CCK est capable de stimuler les terminaisons afférentes du nerf vague et ainsi activer des voies ascendantes à partir du NTS, entraînant l'inhibition de la prise alimentaire. Une activation du tronc cérébral et de l'hypothalamus a notamment été décrite suite à l'activation du récepteur CCK-1 de la cholécystokinine sur le nerf vague (37,38).

Le peptide YY (PYY) appartient à la famille des neuropeptides Y. Le PYY est sécrété par les EEC en réponse à la prise alimentaire et exerce une action anorexigène sous sa forme PYY₃₋₃₆ qui est la forme prédominante dans la circulation et résulte du clivage d'une tyrosine et une proline de l'extrémité N-terminale du PYY par la dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) (38). En effet, il a été montré que son administration exogène chez l'homme entraîne une réduction de l'appétit et de la taille du repas suivant (39). Le PYY₃₋₃₆ a une forte affinité pour le récepteur Y2, localisé sur les neurones exprimant le NPY du noyau arqué. Ce récepteur développe une activité auto-inhibitrice de ces neurones suite à son activation (40). Ainsi, le PYY₃₋₃₆ exerce son action anorexigène à distance, en se fixant directement sur le récepteur Y2 dans l'ARC après être passé par la circulation sanguine. L'inhibition de la libération de NPY qu'il provoque est ainsi à l'origine d'une réduction de la quantité de nourriture ingérée (38). Cependant, le mécanisme d'action du PYY₃₋₃₆ semble plus complexe et n'est actuellement pas entièrement élucidé. En effet, à son action directe sur les neurones de l'ARC semble s'ajouter une action sur les terminaisons vagales afférentes encore inconnue (41).

Le polypeptide pancréatique (PP), majoritairement sécrété par le pancréas, fait également partie de la famille des neuropeptides Y. Comme le PYY, le PP est sécrété proportionnellement à la quantité de calories ingérées au cours du repas et exerce une action anorexigène. Le PP a une forte affinité pour le récepteur Y4 qui est retrouvé en grande quantité dans l'area postrema, zone du tronc cérébral non protégée par la barrière hémato-encéphalique et donc accessible aux molécules circulantes (38,42). De manière assez similaire, l'amyline est une hormone sécrétée après un repas par le pancréas, qui diminue la taille des repas en se fixant directement sur des récepteurs à l'amyline, qui sont des hétérodimères composés du récepteur de la calcitonine (CTR) et de l'une des trois protéines modifiant l'activité du récepteur (RAMP), de l'area postrema (43–45).

Le glucagon-like peptide-1 (GLP-1) et l'oxyntomoduline (OXM) sont deux molécules produites à partir du pré-proglucagon. Tous deux sont sécrétés par les EEC en réponse à l'ingestion de nourriture. L'action anorexigène du GLP-1 s'exerce par son action sur le nerf vague ainsi que par sa libération par des neurones du NTS, entraînant l'activation du SON, de l'ARC et du PVN. L'OXM se fixe sur le même récepteur que le GLP-1, avec une affinité plus faible et exerce son action anorexigène principalement via l'activation de neurones dans l'ARC. Ces deux hormones sont rapidement dégradées par la DPP-IV, limitant leur durée d'action (38,46).

L'apolipoprotéine A-IV (ApoAIV) est une glycoprotéine sécrétée par les entérocytes à la suite de l'ingestion de lipides. La sécrétion de l'ApoAIV est dépendante de la formation de chylomicrons dans les entérocytes, qui sont des structures composées de phospholipides et de différents types d'apolipoprotéines, qui contiennent des triglycérides et du cholestérol afin de leur permettre d'être absorbés et de circuler dans la lymphe puis le plasma sanguin. L'ApoAIV est remarquablement liée à l'absorption intestinale de lipides alimentaires puisque sa concentration plasmatique augmente de manière transitoire après un repas riche en acides gras. L'action de l'ApoAIV entraîne une réduction de la prise alimentaire qui s'exerce par le nerf vague et semble être dépendante du récepteur CCK-1 de la cholécystokinine (44,47,48).

À l'opposé de ces nombreuses molécules signalant la satiété, on retrouve la ghréline qui est le seul peptide périphérique orexigène identifié à ce jour. Contrairement aux signaux de satiété, la concentration plasmatique de ghréline augmente avant les repas et diminue rapidement après la prise alimentaire. L'action de la ghréline entraîne une sensation de faim qui augmente la motivation à l'initiation de la prise alimentaire. Le récepteur de la ghréline (GHS-Rs) est exprimé sur les terminaisons afférentes du vague nerf, qu'il inhibe lorsqu'il est activé par la ghréline. Le récepteur de la ghréline est également retrouvé dans plusieurs structures du système nerveux central où elle peut exercer une action endocrine telles que l'ARC ou le tronc cérébral. Notamment, il a été montré que l'effet orexigène de la ghréline repose sur une stimulation de la sécrétion de NPY dans l'ARC et d'orexines dans le LH (12,15,44,49).

Hormone	Principal lieu de synthèse	Récepteur impliqué dans l'effet sur la faim	Action centrale	Action par le nerf vague	Effet sur la prise alimentaire
CCK	EEC	CCK-1R	Oui	Oui	↓
GLP-1	EEC	GLP-1R	Oui	Oui	↓
Oxyntomoduline	EEC	GLP-1R	Oui	Non	↓
PYY ₃₋₃₆	EEC	Y2R	Oui	Oui	↓
ApoAIV	Entérocytes	CCK-1 ?	Oui	Oui	↓
PP	Pancréas	Y4R	Oui	Oui	↓
Amyline	Pancréas	CTR/RAMP	Oui	Non	↓
Ghréline	EEC	GHS-Rs	Oui	Oui	↑

Tableau 2- Synthèse des signaux de satiété, modifié de (44)

1.2.3. Signaux d'adiposité

Les signaux d'adiposité sont des hormones sécrétées dans le sang en concentration proportionnelle à la quantité d'adipocytes présents dans l'organisme (11). À ce jour, deux hormones ont été identifiées comme étant des signaux d'adiposité : l'insuline et la leptine. L'insuline est produite par le pancréas, la leptine par les adipocytes, et toutes deux circulent dans le sang avant de pénétrer dans le cerveau en quantité proportionnelle à leur concentration plasmatique. Dans le cerveau, les deux hormones ont une action anorexigène (50). La Figure 7 illustre le mécanisme de la régulation de la prise alimentaire par l'insuline et la leptine.

En plus de son rôle très connu dans la régulation de la glycémie, l'insuline est donc impliquée dans la régulation de la prise alimentaire. Le récepteur de l'insuline est en effet exprimé dans l'ARC où il entraîne une diminution de la prise alimentaire en augmentant l'activité des neurones POMC et en inhibant les neurones NPY (12,14). En outre, il a été montré que l'insuline stimule l'utilisation du glucose circulant par les adipocytes, ce qui constitue un processus nécessaire à la sécrétion de leptine par ces derniers (51).

L'effet de la leptine dans la régulation de la prise alimentaire semble plus important que celui de l'insuline. En effet, une déficience en leptine ou en son récepteur, contrairement à un déficit isolé en insuline, provoque l'apparition rapide d'une hyperphagie et d'une obésité. De manière similaire à l'insuline, le récepteur de la leptine est exprimé en majorité dans l'ARC et son activation entraîne l'activation des neurones POMC et l'inhibition des neurones NPY. En plus d'être régulée par la masse grasse d'un individu, l'expression de la leptine varie également sur de courtes périodes en fonction du statut énergétique de l'organisme, notamment à la suite de variations de la quantité de glucose accessible aux adipocytes. Ainsi, en cas de privation de nourriture par exemple, la concentration plasmatique de leptine sera diminuée sans que la masse grasse de l'individu n'ait changé. Cela permet l'inversement de la balance entre l'activité des neurones orexigènes et anorexigènes dans l'ARC, stimulant la prise alimentaire pour prévenir la survenue d'une perte de poids (12,14,50).

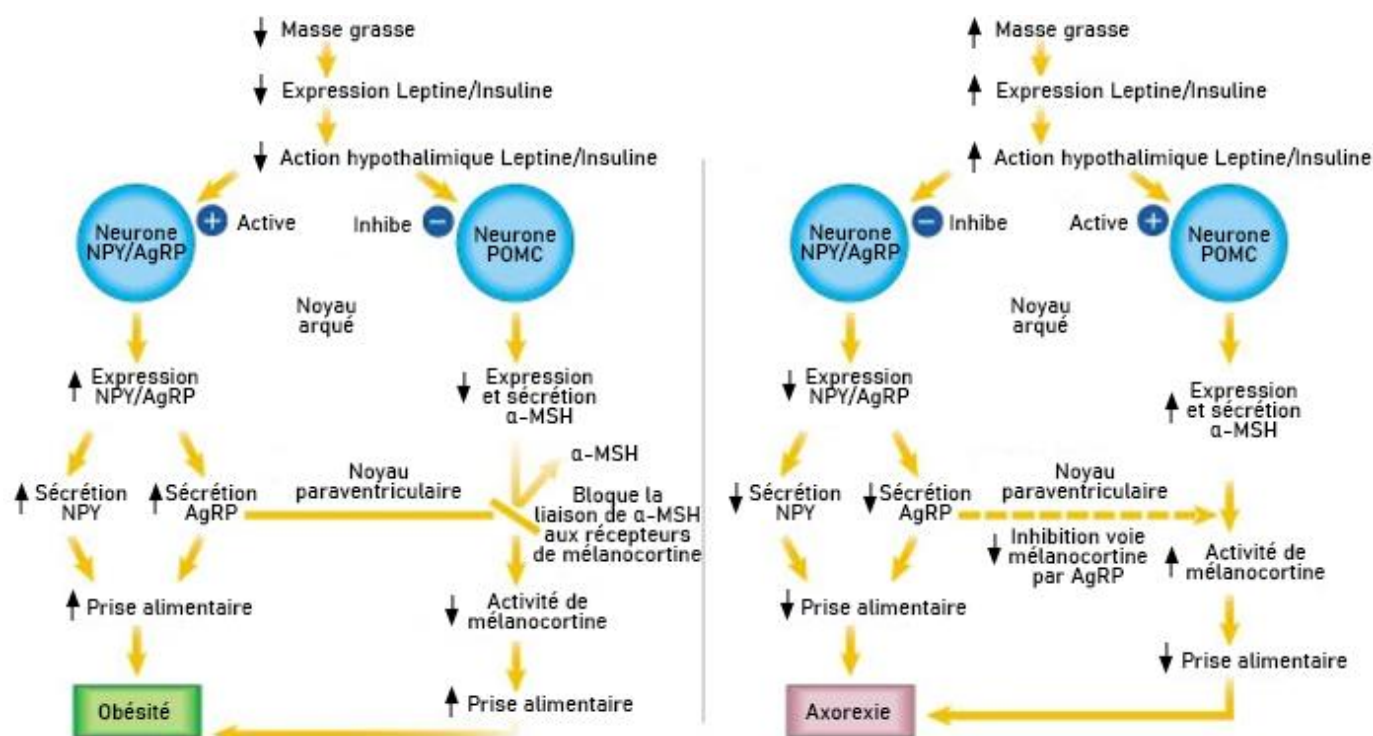


Figure 7 - Régulation de la prise alimentaire par les signaux d'adiposité – modifiée depuis (50)

1.3. Intégration des différents signaux

Comme nous l'avons vu précédemment, la prise alimentaire est régulée de manière fine et récurrente par de nombreuses molécules dont les effets se recoupent. L'hypothalamus est un centre cérébral privilégié pour intégrer l'ensemble des signaux de satiété et d'adiposité en régulant l'activité des différents neuropeptides que l'on y retrouve exprimés. La convergence de ces molécules sur des acteurs communs fait que l'équilibre entre les différents signaux est un élément critique au bon fonctionnement de la régulation de la prise alimentaire.

De nombreux signaux de satiété convergent au niveau des terminaisons afférentes du nerf vague, ce qui lui permet d'intégrer une grande quantité d'informations sur l'état de l'organisme. Notamment, la leptine potentialise l'effet excitateur de la CCK, du GLP-1 et de la distension gastrique sur le nerf vague, ce qui facilitera l'apparition d'une sensation de satiété en cas de réserves énergétiques suffisantes sous la forme d'adipocytes. À l'inverse, la ghréline s'oppose à ces actions, entraînant une inhibition des fibres du nerf vague (44,47).

Dans le tronc cérébral, le NTS intègre les informations venant du nerf vague et influence l'activité des neurones de l'hypothalamus. Ainsi, les molécules périphériques ont la capacité de modifier le seuil d'activation des différents neurones régulateurs de l'hypothalamus. La multiplicité des signaux utilisés permet à l'organisme de répondre de manière rapide et robuste aux changements qui surviennent dans l'état nutritionnel, et ce peu importe la composition du repas ingéré, la privation temporaire de nourriture, l'augmentation de l'activité physique, etc. Cette organisation en de multiples molécules aux effets récurrents sur plusieurs sites effecteurs offre une protection efficace à l'organisme face au possible dérèglement de la signalisation d'une molécule, qui serait dramatique dans une configuration où le contrôle de l'appétit ne reposerait que sur un unique signal (47).

2. Altération de la signalisation neuropeptidergique dans les troubles alimentaires

Nous avons vu précédemment que, dans des conditions physiologiques, l'équilibre entre de nombreux neuropeptides dans l'hypothalamus est essentiel au contrôle de la prise alimentaire. Chez l'homme, il existe différentes pathologies qui sont caractérisées par un comportement alimentaire anormal, comme l'anorexie ou la boulimie, ou une alimentation inappropriée entraînant des troubles métaboliques, comme l'obésité ou le diabète de type 2 (DT2).

S'il est évident que l'altération de l'expression des différents neuropeptides impliqués dans la prise alimentaire puisse jouer un rôle important dans ces différents troubles, il est impossible de l'étudier *in vivo* directement chez l'Homme. Jusqu'ici, la majorité des études sur le rôle des molécules des circuits de la faim ont reposé sur la suppression génétique d'une molécule ou de son récepteur chez des rongeurs. Bien que cette approche permette de mettre en évidence un rôle de la molécule supprimée lorsque son absence provoque l'apparition d'un phénotype fort, l'importante récurrence entre les différentes molécules des circuits de la faim fait qu'une compensation peut se mettre en place au cours du développement et donc masquer l'effet de la molécule étudiée. L'ablation de neurones précis chez des individus adultes permet de contourner ce problème mais elle n'est pas spécifique d'une molécule et entraîne la perte simultanée de plusieurs signalisations, ce qui empêche de conclure clairement sur l'implication de la molécule étudiée dans le phénotype observé.

Du fait de ces difficultés, la pathogenèse des différents troubles alimentaires demeure aujourd'hui encore incomprise et il n'est pas clair si les altérations de l'expression de molécules des réseaux de la faim qui peuvent être observées en lien avec ces pathologies en sont la cause ou une conséquence.

2.1. Surpoids et obésité

2.1.1. Épidémiologie

Le surpoids est défini comme une accumulation excessive ou anormale de masse grasse au sein de l'organisme qui fait que l'indice de masse corporelle (IMC) d'un individu dépasse 25. L'obésité est une forme exacerbée de surpoids, où l'IMC de l'individu dépasse 30. La prévalence de l'obésité a plus que triplé depuis 1975 et nous sommes aujourd'hui confrontés à une véritable pandémie, avec en 2016 près de 2 milliards d'adultes en surpoids dans le monde (39%), dont 650 millions obèses (13%). Le principe fondamental entraînant le développement d'une obésité est un déséquilibre à long terme entre les dépenses et les apports énergétiques venant de l'alimentation (52).

À l'échelle de la planète, une importante sédentarité s'est très largement installée ces dernières décennies, notamment par l'urbanisation et l'essor des technologies, diminuant globalement l'activité physique de la population au quotidien et donc les dépenses énergétiques. En parallèle, la facilitation de l'accès à de grandes quantités de nourritures riches en graisses et sucres a entraîné une augmentation globale des apports caloriques. Dans ce nouveau contexte, les mécanismes de protection contre la dénutrition, que l'organisme a mis en place au cours de millénaires durant lesquels l'accès à la nourriture était régulièrement perturbé par des périodes de disette, mènent à une consommation alimentaire excessive, provoquant une prise de poids (52).

2.1.2. Physiopathologie

2.1.2.1. Développement de l'obésité

Il n'est parfois pas possible d'expliquer par une simple différence de comportement alimentaire et d'activité physique qu'au sein d'une même catégorie de population, voire d'une même famille, certains individus puissent développer une obésité alors que d'autres non. Ces différences individuelles dans la susceptibilité à l'obésité sous-entendent l'existence de polymorphismes génétiques à l'origine soit d'une protection, soit d'une sensibilité face à l'obésité.

Des études réalisées sur des jumeaux monozygotes ont permis d'évaluer l'impact de l'héritage génétique sur le risque de développement d'une obésité. Lorsqu'elles sont soumises à un régime hypercalorique, des paires de jumeaux subissent une prise de poids qui est significativement plus similaire au sein de chaque paire qu'entre les paires. De manière opposée, des études réalisées sur des foyers ayant adopté un enfant ont montré que l'IMC de l'individu adopté est fortement corrélé à celui de ses parents biologiques et pas du tout à celui des parents adoptifs. Il est considéré qu'une proportion importante de l'hérédité dans la population découle de polymorphismes d'un seul nucléotide (SNP). Des études d'association pangénomique ont déterminé qu'entre 27% et 30% des variations de l'IMC de la population peuvent être expliquées par des SNP (53–55).

Suivant les gènes affectés par des mutations, on retrouve différentes formes d'obésité de différentes sévérités. Une obésité résultant de la mutation d'un unique gène (monogénique) est extrêmement rare chez les humains mais provoque une obésité très pénétrante qui est retrouvée systématiquement en présence de la mutation. Parmi les gènes identifiés comme responsables de la survenue d'une obésité monogénique, la plupart codent des protéines impliquées dans la voie de signalisation leptine-NPY-POMC (Figure 8), ce qui confirme l'importance de ces neuropeptides dans la régulation de la masse corporelle et leur implication potentielle dans les dérèglements à l'origine d'une prise de poids excessive (55).

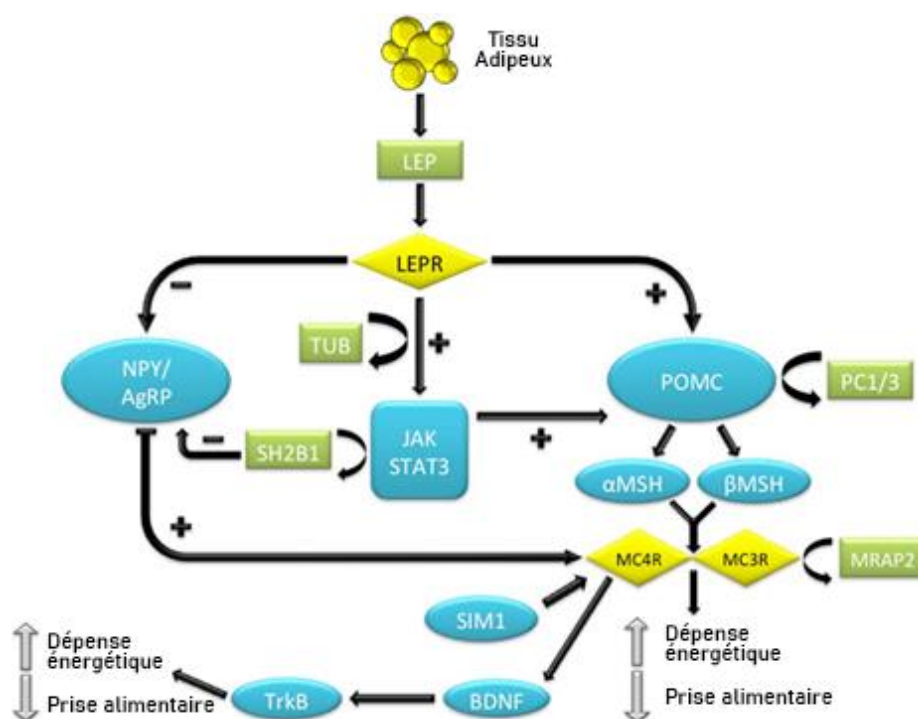


Figure 8 - Gènes associés à une obésité monogénique – modifiée depuis (55)

ABCA1 ADAMTS9 ARL15 BCL2
BMP2 BTNL2 C5 CALCL CDCC92 CCNJL
CCDH10 EBPA CECR2 CMIP CNTN5 CPBE4 CTSS
DCST2 DNMB3/PIGC EYA2 FAM13A FGFR4 GANAB
GDF5 GMD5 GNPAT1 GORAB GPC6 GRB14
HECTD4 HMGXB4 HOXA11 HOXC13 HSD17B4
IQGAP2 IRS1/SPD ITGB6 ITPR2/SSPN JUND KCNJ2
KIAA1731 KLF13 KLF14 KLHL31 LECR1 LEMD3
LHX2 LY86 LYPLAL1 LYPLAL1 MACROD1-VEGFB
MAP3K1 MAP3K1 MEIS1 MSC MSRA MYEOV
NCAM2 NFE2L3 NISCH/STAB1 NKX2-6 NMU
OR2W5-NLRP3 PBRM1 PDXDC1 PEMT PLXND1
PPARG PTPDC1 PTPRD RFX7 RPS6KAS RREB1
RSPO3 RXRA SFXN2 SGC2
SLC2A3 SMAD6 SNX10 SOX11
SPATA5-FGF2 SPRY2 SRPK2
TBX15/WARS2 THNSL2
TMCC1 TTN VEGFA
VPS53 ZNF423
ZNRFB3/KREMEN1

KS2R LEP MRAP2

NTRK2
TUB

SIM1

HMGA1

FTO

MC4R

LEPR

ADAM23 ADCY3 AGBL4 AKAP6 ALDH2/MYL2 ASB4 ATP2B1
BRE C9orf93 CADM1 CBLN1 CBLN4 CDKAL1 CLIP1 COBL1
CREB1/KLF7 DDC EHBP1 ELAVL4 ELP3 EPB41L48/C9orf4 ERBB4
ETS2 FAM120AOS FHIT FIGN FOXO3/HSS00296402 GALNT10
GBE1 GDF15/PGPEP1 GIPR GP2 GRID1 GRP HHIP HIF1AN
HIP1/PMS2L3/PMS2P5/WBSCR16 HSD17B12 IFNGR1/OLIG3
ITIH4 KAT8/ZNF646/VKORC1/ZNF668 STX18/FBXL19 KCNK3 KCNK9
KCNQ1 KCTD15 KLF9 LMX1B LOC100287559/BBS4 LOC284260/RT2
LOC285762 LRP1B MAP2K3 MAPK3/KCTD13/INO80E/TAOK2/YPEL3/
DOC2A/FAM57B MIR148A/NFE2L3 MIR548A2 MIR548X2/PCDH9
MTIF3 NAV1 NLR3 NTSC2/CYP17A1/SFXN2 NUP54/SCARB2
PARK2 PLCD4/CYP27A1/USP37/TTLA4/STK36/ZNF14 PMS2L11
PRKD1 PTBP2 RAB27B RABEP1 RALYL RAR
RASA2 RQCD1 S8K1/APOBR SCG3/DMXL2
SLC2A10 SLC22A3 SLC39A8 SMG6/N29617
STXBP TAL1 TCF7L2 TDRG1/LRFN2
TLR4 TOMM40/APOE/APOC1
UBE2E3 ZBTB10 ZNF608

BDNF
PCSK1
POMC
SH2B1

CADM2
ETV5 FAIM2
FANCL
FLJ35779
GNPD2 GPRC5B
LRRN6C MAP2K5
MTCH2 NEGR1
NRXN3 OLMF4
SEC16B TFAP2B
TMEM160 TMEM18
TNNI3K

ADCY9 GNA2 GPR120 HNF4G HOXB5 HS6T3 KCNMA1
LPIN2 MAF MRPS33P4 NPC1 PACS1 PRKCH QPCTL RMST
RPL27A RPTOR SDCCAG8 TNKS ZZZ3

2.1.2.2. Conséquences de l'obésité

université de TOURS } **Faculté de pharmacie**
Philippe-Maupas

En plus de ces conséquences mécaniques, l'excès d'adipocytes provoque de multiples altérations métaboliques. Les adipocytes sécrètent des cytokines pro-inflammatoires qui, en excès, participent à l'installation d'une inflammation chronique dans l'organisme. Dans des conditions physiologiques, les triglycérides stockés dans les adipocytes peuvent être hydrolysés pour répondre à la demande énergétique en libérant des acides gras libres dans le plasma. En cas d'inflammation, comme celle retrouvée chez les patients obèses, les adipocytes relarguent ces acides gras libres en trop grande quantité. Jouant un rôle de molécules de signalisation cellulaire, les acides gras libres retrouvés en excès dans le plasma peuvent interférer avec certaines fonctions cellulaires. Ils sont notamment à l'origine du développement d'une résistance des cellules à l'insuline, pouvant entraîner l'installation d'un diabète de type 2 (Figure 10) (57,58).

Une autre conséquence de cette lipolyse excessive est l'accumulation d'acides gras au sein des cellules dans des liposomes. Ces liposomes sont retrouvés dans de nombreux types cellulaires en conditions physiologiques mais, lorsque leur taille devient trop importante à cause du surplus d'acides gras accompagnant l'obésité, ils peuvent être responsables de dysfonctionnements cellulaires et du déclenchement de l'apoptose. Les hépatocytes sont particulièrement affectés par cette croissance des liposomes, entraînant le développement d'une stéatose hépatique non alcoolique pouvant évoluer en cirrhose (Figure 10) (57,58).

Enfin, l'obésité peut s'accompagner d'une hyperactivité du système nerveux sympathique qui participe notamment à l'élévation de la pression artérielle chez ces patients. Cette hypertension artérielle est un facteur majeur entraînant la survenue d'accidents cardiovasculaires (Figure 10) (59). Cette hyperactivité sympathique semble être provoquée par l'augmentation chronique de la concentration sanguine de leptine. L'augmentation de l'activité du système nerveux sympathique n'est pas suffisante pour provoquer une vasoconstriction mais entraîne cependant une augmentation de la réabsorption rénale de sodium qui participe à l'élévation de la pression artérielle de ces patients (60).

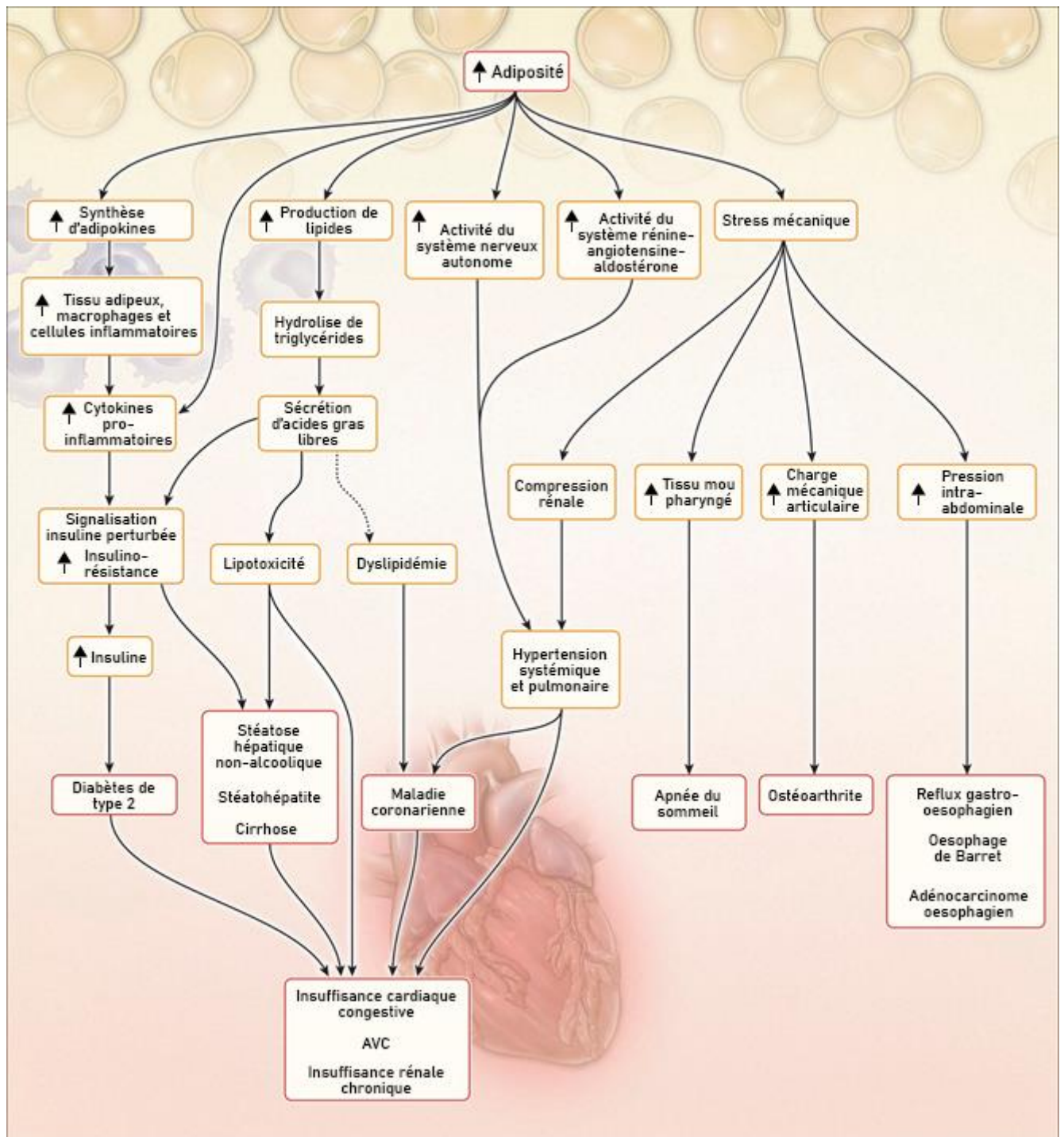


Figure 10 - Processus pathologiques associés à l'obésité – modifiée depuis (59)

2.1.3. Implication des neuropeptides

Comme nous l'avons vu précédemment, l'excès d'adiposité peut entraîner une inflammation chez les patients obèses. Les acides gras libres étant capables de traverser la BHE, cette inflammation est notamment retrouvée au niveau de l'hypothalamus et interfère avec la signalisation physiologique des neuropeptides impliqués dans la prise alimentaire.

Dans ce contexte inflammatoire, une résistance à l'insuline et à la leptine se développe dans les neurones POMC et NPY/AgRP. En conséquence, l'activité des neurones POMC se retrouve diminuée et celle des neurones NPY/AgRP augmente, ce qui favorise une hyperphagie. En outre, tous les neurones ne répondent pas de manière similaire à l'inflammation. Les neurones produisant le facteur stéroïdogénique 1 (SF-1) dans le VMH voient leur sensibilité à l'insuline augmenter, entraînant une déficience de la stimulation glutamatergique qu'ils exercent sur les neurones POMC. Cette diminution d'activation des neurones POMC par les neurones SF-1 participe encore une fois à l'installation d'une hyperphagie (61,62).

2.1.4. Traitements

En considérant la multitude de molécules impliquées de manière redondantes dans la régulation de la prise alimentaire, ainsi que leur importante interaction, il est raisonnable de supposer que les dérèglements observés dans l'action de l'insuline et de la leptine ne sont pas les seuls responsables du développement et de l'entretien de l'obésité. Ainsi, un effort important de recherche se poursuit afin d'élucider au maximum les mécanismes physiopathologiques de l'obésité et de développer des traitements médicamenteux plus efficaces et plus sûrs.

De nombreuses molécules ont été développées au cours du temps dans le but d'entraîner une perte de poids. Toutefois, presque l'entièreté de ces molécules ont été retirées du marché à cause de leurs effets secondaires graves, notamment l'augmentation du risque de survenue d'accidents cardiovasculaires. Aujourd'hui, seulement deux molécules sont recommandées pour le traitement de l'obésité en France : l'orlistat et le liraglutide. Dans tous les cas, le traitement médicamenteux doit toujours être accompagné de changements dans l'hygiène de vie et l'alimentation du patient. Il est essentiel de réduire la consommation d'aliments sucrés ou gras et de pratiquer une activité physique régulière adaptée aux capacités du patient (63).

L'orlistat est un inhibiteur de lipases gastro-intestinales qui diminue d'environ 30% l'absorption des graisses par l'intestin et réduit par conséquent les calories absorbées à la suite d'un repas. Il y a peu d'effets indésirables, si ce n'est la production de selles huileuses si le patient conserve une alimentation trop riche en graisses, ce qui renforce la motivation des patients à éviter ces aliments (63,64).

Le liraglutide est un analogue du GLP-1 humain avec une demi-vie augmentée car résistant à la DPPIV. Il exerce une action anorexigène en se fixant à la fois sur les récepteurs GLP-1R centraux présents dans l'hypothalamus et périphériques sur les afférences du nerf vague. Le principal effet indésirable accompagnant la prise de liraglutide est la nausée (63,64).

La connaissance des voies de signalisation impliquant les neuropeptides dans la prise alimentaire offre de nouveaux espoirs thérapeutiques. Il est cependant très délicat d'utiliser directement des peptides comme traitement car la fenêtre d'action des neuropeptides physiologiques est très étroite et leur demi-vie est très courte. De plus, l'administration orale d'hormones peptidiques est compliquée par leur dégradation rapide dans l'estomac. De plus en plus, il semble qu'une combinaison de molécules ciblant différents acteurs de la régulation de la prise alimentaire soit la meilleure approche pour contrecarrer les déséquilibres provoqués par l'obésité.

2.2. Diabète de type 2

2.2.1. Épidémiologie

Le diabète est une pathologie métabolique caractérisée par une glycémie anormalement élevée de manière chronique. L'apparition du diabète est la conséquence soit d'un déficit de production de l'insuline par le pancréas (diabète de type 1), soit d'une diminution de l'efficacité de l'insuline produite (diabète de type 2). L'élévation chronique de la glycémie provoque des dommages non sélectifs aux protéines et mène à l'apparition de troubles vasculaires et neurologiques. Ces troubles augmentent le risque de survenue d'accidents cardiovasculaires, d'insuffisance rénale, de rétinopathies pouvant aller jusqu'à la cécité et de neuropathies périphériques qui peuvent notamment conduire à l'amputation des membres inférieurs. Entre 1980 et 2014, la prévalence du diabète est passée de 108 millions à 422 millions, dont la majorité des cas correspondent au diabète de type 2 qui est dépendant du mode de vie, contrairement au diabète de type 1 qui est congénital et survient le plus souvent dès la naissance (65).

2.2.2. Physiopathologie

2.2.2.1. Développement du diabète de type 2

Le développement d'un diabète requiert la coexistence de deux anomalies liées à l'action de l'insuline : un défaut de sa sécrétion par les cellules β du pancréas et un défaut de son action au niveau du foie ou des muscles. Ces deux anomalies sont étroitement liées et l'apparition de l'une entraînera le développement de la seconde. Chez les patients en surpoids qui développent un DT2, une résistance des tissus à l'insuline se met en place dans un premier temps. Cette résistance poussera le pancréas à augmenter sa production d'insuline jusqu'à ce qu'il finisse par s'épuiser. A contrario, chez les patients qui développent un DT2 en l'absence de surpoids, l'installation du diabète commence le plus souvent par une diminution de la sécrétion de l'insuline (66).

2.2.2.2. Conséquences hormonales

Chez les patients atteints de DT2, la glycémie à jeun est augmentée de manière chronique. Cependant, leur concentration plasmatique en insuline est souvent normale, voire augmentée, à jeun et dans la phase postprandiale tardive (plus d'une heure après un repas). En outre, la réponse insulinaire de ces patients est souvent déficiente dans la phase postprandiale immédiate (67).

Chez des individus sains, la glycémie à jeun est régulée de manière précise par l'interaction de l'insuline et du glucagon qui contrôlent à la fois la libération de glucose par le foie et son utilisation par les tissus viscéraux (foie et intestins) et périphériques (principalement les muscles). Au cours de la phase postprandiale, l'équilibre glycémique est fortement bouleversé à la fois par l'absorption de nouveaux sucres contenus dans les aliments digérés et par les nombreuses hormones sécrétées par le TGI qui exercent également une action de régulation de la glycémie, nommée effet incrétine. Il est estimé que 65% de la réponse insulinaire postprandiale peuvent être attribués à l'effet incrétine, les 35% restants étant dépendants du délai de vidange gastrique (67).

Chez l'homme, le GLP-1 et le polypeptide inhibiteur gastrique (GIP), dont les concentrations plasmatiques augmentent à la suite d'un repas, sont les deux principales hormones porteuses de l'effet incrétine. La sécrétion de GIP et de GLP-1 à la suite d'un repas ne semble pas être différente chez les patients souffrant de DT2 par rapport à des sujets sains. Cependant, la capacité de ces deux hormones à stimuler la sécrétion d'insuline est diminuée, de manière plus importante pour le GIP que pour le GLP-1. Ainsi, le pic plasmatique d'insuline, engendré par l'effet incrétine à la suite de l'ingestion d'un repas est fortement diminué, altérant la normalisation de la glycémie. Diverses études semblent indiquer que l'altération de l'action insulinothèque du GIP et du GLP-1 ne sont pas à l'origine du développement du diabète, mais plutôt un épiphénomène consécutif à l'hyperglycémie chronique. Cependant, les mécanismes à l'origine de cette anomalie ne sont pas élucidés. Il est possible que l'hyperglycémie chronique entraîne une diminution de l'expression des récepteurs de ces deux hormones sur la membrane des cellules β du pancréas, diminuant leur réponse à des concentrations normales de GIP et GLP-1 (67).

Certaines études semblent indiquer que les différents effecteurs centraux retrouvés dans les circuits de la faim de l'hypothalamus sont également impliqués dans la régulation de la glycémie par une modification de la sécrétion de l'insuline. Cependant, les interactions complexes entre ces molécules ne sont actuellement pas clairement élucidées. En outre, il semble clair que non seulement le GLP-1 périphérique mais également le GLP-1 central, retrouvé dans ces circuits, influence la sécrétion d'insuline. En effet, l'injection intraventriculaire d'un agoniste de son récepteur augmente la sécrétion d'insuline par le pancréas, alors que l'administration d'un antagoniste la diminue (68).

2.2.3. Traitements

Dans un premier temps, avant de mettre en place un traitement médicamenteux, des mesures hygiéno-diététiques sont mises en place et peuvent être suffisantes pour provoquer une normalisation de la glycémie à jeun. Ces mesures comprennent le cas échéant la perte de poids par la mise en place d'un régime alimentaire équilibré, la mise en place d'une activité physique régulière adaptée aux capacités du patient et l'arrêt du tabac ((69).

Le traitement médicamenteux de première intention pour le DT2 est la metformine. Il s'agit d'un biguanide qui améliore la sensibilité des tissus à l'insuline, en particulier au niveau du foie et des muscles, ce qui permet de lutter contre la résistance à l'insuline qui se met en place dans cette pathologie et rétablir une glycémie normale (69).

Lorsque la metformine n'est pas suffisante pour normaliser la glycémie, on peut y associer des molécules qui vont diminuer la glycémie en stimulant la sécrétion d'insuline, au risque de provoquer une hypoglycémie en cas d'effort physique inhabituel ou de manque d'apport alimentaire en sucres. Ce sont les sulfamides hypoglycémisants (comme le gliclazide ou le glibenclamide) qui agissent en ciblant directement les cellules β du pancréas. En outre, la découverte de l'effet incrétine a permis de développer des molécules qui en tirent avantage afin de traiter le DT2. C'est le cas des inhibiteurs de la DPP-IV, faisant partie de la famille des gliptines (comme la sitagliptine), qui diminuent la dégradation du GLP-1, permettant d'augmenter son action. Des analogues du GLP-1 résistants à la dégradation par la DPP-IV ont également été développés dans le même but, ce sont par exemple le liraglutide ou l'exénatide (69).

Les inhibiteurs des α -glucosidases intestinales peuvent être utilisés en association ou en monothérapie en cas d'intolérance ou de contre-indications à la metformine ou aux sulfamides hypoglycémisants. Il s'agit de molécules qui retardent la digestion et ralentissent donc l'absorption des sucres dans le sang. Pour être efficaces, ces molécules doivent être prises au début du repas. Il est cependant fréquent qu'elles entraînent des troubles digestifs désagréables comme des douleurs abdominales, diarrhées et flatulences (69).

Les gliflozines sont la dernière famille d'antidiabétiques oraux ayant vu le jour. Il s'agit de molécules inhibant le co-transporteur sodium-glucose de type 2 retrouvé notamment au niveau du rein, ce qui empêche la réabsorption du glucose dans le sang et entraîne donc son élimination dans les urines (69).

De plus en plus, l'utilisation combinée de plusieurs analogues d'hormones issues du TGI est considérée comme une option de traitement prometteuse permettant une plus grande personnalisation de la thérapie aux altérations présentes chez le patient. Ces polyagonistes ont pour but d'améliorer l'action normoglycémiante du traitement, tout en utilisant une dose restreinte de chaque molécule afin d'en limiter les effets indésirables. Toutefois, le développement de ce genre de thérapies nécessite un niveau de compréhension des mécanismes physiopathologiques que nous ne possédons pas actuellement (70).

Dans cette optique, le tirzepatide, molécule à la fois agoniste des récepteurs au GLP-1 et au GIP est actuellement en essai clinique. Les résultats préliminaires montrent une amélioration de la sensibilité à l'insuline et de la fonction des cellules β du pancréas supérieur suite au traitement par ce double agoniste par rapport à un traitement par duraglutide, agoniste du GLP-1R uniquement (71).

2.3. Troubles du comportement alimentaire

2.3.1. Epidémiologie

Indépendamment des pathologies métaboliques évoquées précédemment, certains patients souffrent de troubles du comportement alimentaire. L'origine de l'apparition de ces troubles semble provenir de l'état psychologique des patients plutôt que d'altérations métaboliques. Les TCA les plus communs sont l'anorexie mentale, la boulimie et l'hyperphagie boulimique. Chacun de ces troubles est considéré comme une pathologie grave qui peut parfois entraîner le décès.

L'anorexie mentale se caractérise par une déformation de la perception de son image corporelle qui pousse les patients à se penser en surpoids. Il s'ensuit une poursuite de la maigreur et une peur intense de prendre du poids, ce qui se traduit par un comportement alimentaire dérangé avec une réduction constante de la prise alimentaire. Il est courant que les patients souffrant d'anorexie mentale pratiquent une activité physique intense pour augmenter leurs dépenses énergétiques, ou qu'ils se purgent (par vomissement ou prise de laxatifs) pour réduire le nombre de calories absorbées. Il s'agit du trouble mental ayant le plus haut taux de mortalité (72).

Les patients atteints de boulimie souffrent d'épisodes récurrents et fréquents durant lesquels ils rapportent une perte de contrôle sur leur alimentation et ingèrent une quantité démesurée de nourriture sur une courte période. De manière similaire aux patients anorexiques, les patients boulimiques vont essayer de compenser cette prise alimentaire massive en pratiquant une activité physique excessive, en se purgeant ou par une combinaison de ces comportements. De part ces techniques de compensation, il est fréquent que les patients souffrant de boulimie ne soient pas en surpoids (72).

L'hyperphagie boulimique est très proche de la boulimie dans sa manifestation, avec la survenue d'épisodes de perte de contrôle durant lesquels les patients mangent de manière excessive. Cependant, contrairement aux patients boulimiques, les patients souffrant d'hyperphagie boulimique ne mettent pas en place de comportements compensateurs. En conséquence, la majorité de ces patients finissent par développer un surpoids, voire une obésité (72).

Les TCA sont des pathologies qui touchent les femmes de manière beaucoup plus fréquente que les hommes. En effet, en moyenne, quatre fois plus de femmes que d'hommes souffrent d'au moins un épisode de TCA au cours de leur vie (8,4% contre 2,2%). En outre, la prévalence des TCA a doublé entre le début des années 2000 et la fin des années 2010. Ainsi, entre 2013 et 2018, le pourcentage de personnes souffrant au moins d'un épisode de TCA au cours de leur vie a atteint 7,8% (73).

2.3.2. Altération de l'expression des neuropeptides

Les mécanismes à l'origine du développement des TCA ne sont actuellement pas élucidés et relativement peu étudiés. Les progrès effectués dans la compréhension du cerveau humain ont toutefois permis de mettre en évidence certaines altérations neurobiologiques chez les patients présentant des TCA. Ces altérations semblent principalement être des conséquences du comportement alimentaire de ces patients et reviennent à la normale une fois que le patient entre en rémission, mais leur compréhension peut permettre le développement de stratégies thérapeutiques ciblées pour aider les patients à sortir plus facilement de ces comportements inadaptés et dangereux (74,75).

Chez les patients souffrant d'anorexie mentale, la concentration du NPY dans le liquide cébrospinal est augmentée alors que la concentration du PYY est similaire à celle de sujets sains. Cette augmentation de la concentration en NPY n'augmente pas la prise alimentaire chez ces patients. Cependant, il est envisageable qu'elle soit liée à l'apparition de pensées obsessives, concernant la nourriture et sa préparation, qui sont souvent présentes chez les patients anorexiques. D'autre part, les concentrations du NPY et du PYY dans le liquide rachidien sont toutes deux normales chez les patients boulimiques. En outre, une augmentation de la concentration du PYY est retrouvée chez les patients boulimiques uniquement après une certaine période d'abstinence dans leurs comportements de purge et d'hyperphagie (75).

Une diminution de la sécrétion de CCK en réponse aux repas est retrouvée chez les patients boulimiques. Au contraire, la sécrétion de CCK est augmentée chez les patients anorexiques. La dérégulation de cette hormone signalant la satiété crée un cercle vicieux qui pousse les patients à persister dans leurs TCA (75).

Le très faible pourcentage de masse grasse retrouvée chez les patients souffrant d'anorexie fait que la concentration de leptine retrouvée dans leur plasma est significativement diminuée. Toutefois, certaines études suggèrent que le niveau de leptine de ces patients serait augmenté par rapport à ce que l'on s'attendrait à trouver chez un individu ayant subi une telle perte de poids, ce qui pourrait participer à diminuer la sensation de faim de ces patients. De plus, la concentration de leptine dans le liquide cébrospinal de ces patients atteint des niveaux normaux avant la normalisation complète de leur poids, rendant d'autant plus difficile leur guérison complète et durable. Au contraire, la concentration plasmatique de leptine des patients boulimiques est diminuée de manière durable, même lorsqu'ils entrent en rémission (75).

La concentration plasmatique de ghréline est élevée à la fois chez les patients anorectiques et chez les patients boulimiques. Il semblerait qu'une résistance à l'action de la ghréline, liée à un état cachectique, se mette en place spécifiquement chez les patients souffrant d'anorexie (75).

2.3.3. Traitements

Actuellement, aucun traitement des TCA ne cible directement la régulation de la prise alimentaire. Le développement de polythérapies visant à normaliser la sécrétion des différentes hormones impliquées dans la régulation des circuits de la faim semble être une piste intéressante pour aider les patients souffrant de TCA à sortir du cercle vicieux dans lequel ils se trouvent. De nouveaux efforts de recherche sont cependant nécessaires afin de mieux comprendre les interactions entre ces différentes molécules, ainsi que la physiopathologie des TCA. Les stratégies thérapeutiques actuelles reposent sur la mise en place d'une psychothérapie, possiblement accompagnée d'un traitement antidépresseur ou antipsychotique (72).

Partie 2. Modulation de l'activité de circuits neuronaux impliqués dans la prise de décision

1. Les circuits de neurones dans la génération de comportements

Le système nerveux constitue l'interface entre un individu et le monde qui l'entoure. La majorité des actions effectuées par un individu en réponse à des stimuli extérieurs sont des réponses motrices. Les différents stimuli venant de l'environnement sont perçus par des récepteurs sensoriels qui les convertissent en signaux neuronaux. Ces signaux neuronaux sont relayés par l'intermédiaire de synapses successives, de neurone en neurone, à partir des neurones sensoriels jusqu'à une zone spécifique du système nerveux central qui dépend de la nature du stimulus. L'ensemble des neurones qui réagissent à un stimulus précis pour déclencher une réponse comportementale forment un réseau de neurones, dont un exemple d'organisation, telle qu'elle peut être observée chez les mammifères, est schématisé dans la Figure 11. Ainsi, l'information sensorielle est transmise par les voies neuronales jusqu'aux muscles effecteurs, mais aussi à des centres supérieurs du cerveau qui seront responsables de la perception du stimulus, qui pourra atteindre ou non la conscience de l'individu. Enfin, des informations internes à l'individu sont prises en compte par les réseaux de neurones et influencent leur signal de sortie (output) en temps réel (76).

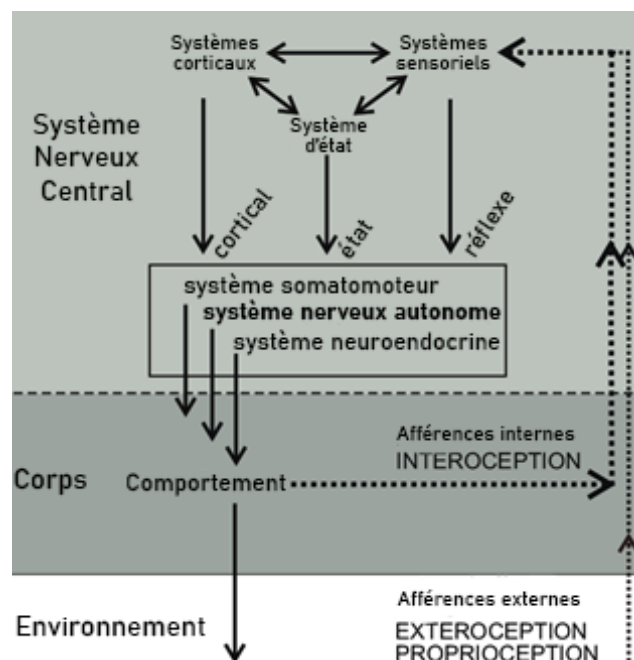


Figure 11 - Schéma de l'organisation d'un réseau de neurones – modifiée depuis (77)

1.1. Formation des circuits de neurones

Au cours du développement, il est essentiel de former de très nombreux circuits de neurones précis et intriqués afin d'assurer le fonctionnement normal de l'ensemble des fonctions de l'organisme qui dépendent de l'activité du système nerveux. Les mécanismes régissant la connexion des différents neurones entre eux sont complexes et finement régulés.

Lors de leur formation, les axones s'étendent à partir d'une zone appelée cône de croissance. Le cône de croissance exprime à sa surface de nombreux récepteurs sensibles à des gradients de concentration de plusieurs molécules, retrouvées dans le milieu extracellulaire, qui guident la croissance des axones vers leur zone cible, suivant l'éventail de récepteurs qu'ils expriment (78).

En plus de ce guidage chimiotactique de la croissance des axones, des interactions entre les différents axones eux-mêmes jouent un rôle primordial dans la formation des réseaux de neurones. En effet, des interactions homotypiques et hétérotypiques permettent l'adhésion d'axones entre eux et leur regroupement au sein de faisceaux, mais aussi la sortie d'un axone du faisceau au point approprié et la répulsion tout autant entre les différents faisceaux qu'entre les terminaisons axonales, permettant l'adressage précis des connexions synaptiques. Des défauts dans l'élaboration des réseaux de neurones ont été liés, entre autres, à l'apparition de troubles du spectre autistique ou de mouvements en miroirs congénitaux (78).

1.2. Cartographie des circuits de neurones

Il est très courant qu'un même neurone soit impliqué dans plusieurs circuits différents. L'identification anatomique d'un neurone individuel et de l'ensemble de ses partenaires synaptiques offre de précieuses informations sur son rôle potentiel dans le fonctionnement des circuits neuronaux auxquels il appartient. L'ensemble des connexions anatomiques entre les neurones dans le cerveau, ou dans un système nerveux, est appelé connectome. Par un effort de recherche phénoménal, il a été possible de reconstruire le connectome d'organismes simples, à partir de l'annotation d'images de microscopie électronique de coupes successives de l'intégralité du système nerveux central de l'organisme étudié qui ont été assemblées pour former un unique volume en trois dimensions. De cette manière, l'intégralité du connectome du nématode *Caenorhabditis Elegans* a été reconstruit et la reconstruction des systèmes nerveux de la mouche du vinaigre *Drosophila melanogaster* au stade larvaire et adulte est proche d'arriver à son terme (79–82).

1.3. Pertinence comportementale

Un individu possède plusieurs besoins physiologiques essentiels auxquels s'ajoutent des besoins de sécurité et des besoins sociaux. Parmi ces besoins, les plus essentiels à la survie de l'individu comprennent les besoins d'hydratation, d'alimentation, de sommeil et de thermorégulation. À chaque instant, tous ces besoins doivent être intégrés entre eux ainsi qu'aux besoins moins essentiels et à l'environnement extérieur afin que le comportement le plus adapté soit adopté par l'individu. Ainsi, l'état interne d'un individu, caractérisé par le degré de déplétion respectif de chacun de ses besoins, influence le choix de l'individu entre plusieurs comportements. Il a par exemple été observé qu'un manque de sommeil peut être responsable de la perturbation de la prise alimentaire d'un individu. En outre, la présence imminente ou seulement indiquée par des informations dans l'environnement d'un danger, entraîne l'apparition d'une peur qui est en mesure de provoquer l'abandon de la prise alimentaire pour prioriser la fuite, synonyme de sécurité immédiate. Ces différents comportements étant mutuellement exclusifs, l'individu est poussé à choisir l'action qui sera privilégiée. Au niveau des circuits de neurones, ce choix comportemental implique des interactions fortes entre plusieurs circuits qui mènent à la modulation de leur activité afin qu'elle déclenche l'exécution du comportement choisi. Au cours de ce processus, certains circuits neuronaux seront inhibés et d'autres stimulés ou remodelés afin de produire l'activité neuronale nécessaire à l'exécution du comportement (83).

2. La neuromodulation donne de la flexibilité aux circuits neuronaux

La connaissance des connexions anatomiques entre les neurones à elle seule n'est pas suffisante pour comprendre l'ensemble des fonctions qu'ils peuvent exercer au sein de réseaux. En effet, les circuits neuronaux sont soumis à des phénomènes de neuromodulation qui exercent une influence capitale sur la fonctionnalité des connexions anatomiques. Les mécanismes mis en jeu dans cette neuromodulation permettent un changement rapide, dynamique et réversible des propriétés d'un circuit de neurones, ce qui offre une certaine flexibilité à ce réseau fixe et lui permet de produire des comportements différents en fonction du contexte. La neuromodulation peut s'exercer au sein d'un circuit de neurones suivant deux mécanismes majeurs : la modification de propriétés intrinsèques d'un ou plusieurs neurones du circuit et la modification de l'efficacité synaptique du circuit.

2.1. Principes de fonctionnement de la neuromodulation

Les neuromodulateurs exercent leurs actions en se fixant à des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR) dont l'activation déclenche une cascade de signalisation intracellulaire qui sera responsable des effets cellulaires exercés par le neuromodulateur. Les neuromodulateurs appartiennent à deux groupes de molécules : les amines biogènes, comme la dopamine ou la sérotonine, et les neuropeptides. Les amines biogènes identifiées comme jouant un rôle de neuromodulation sont peu nombreuses (< 20) et très conservées à travers les différentes espèces du règne animal. Les neuropeptides, quant à eux, sont plus diversifiés selon les espèces animales et plusieurs centaines de neuropeptides différents ont été identifiés. Il est courant d'observer des similitudes de structure et de fonctions entre des neuropeptides de différentes espèces, soit parce que ces molécules ont évolué depuis un ancêtre commun, soit parce que la production de cette structure correspond à la réponse évolutive optimale pour assurer une fonction particulière (84,85).

2.1.1. Modulation de propriétés intrinsèques aux neurones

Chaque neurone composant le système nerveux possède des caractéristiques intrinsèques qui lui sont propres et sont la conséquence de l'ensemble des canaux ioniques et récepteurs exprimés à sa membrane. L'action d'un neuromodulateur sur un neurone peut modifier le nombre de récepteurs ou canaux exprimés à sa membrane, leur type et également leurs propriétés cinétiques (86).

Dans la majorité des cas, la modulation des propriétés intrinsèque d'un neurone est le résultat de l'action de plusieurs neuromodulateurs sur ce neurone. Comme le schématise la Figure 12, la fixation de différents neuromodulateurs sur leurs récepteurs à la membrane d'un neurone peut avoir un effet additif, synergique ou opposé sur l'activité ou l'expression d'un récepteur ou canal. De plus, un même neuromodulateur peut entraîner une modification de l'expression ou de l'activité de plusieurs récepteurs ou canaux différents, soit dans la même direction, soit dans des directions opposées. Ainsi, il est impératif de connaître l'ensemble des neuromodulateurs agissant sur un neurone et l'ensemble des mécanismes cellulaires mis en jeu par l'activation de leurs GPCRs afin de pouvoir comprendre pleinement leur effet sur le neurone ciblé et son impact sur le réseau de neurones dont il fait partie (87).

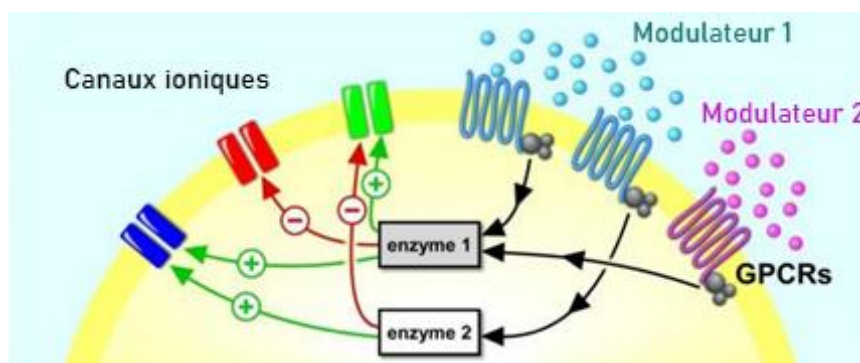


Figure 12 - Modulation de l'activité de neurones par des neuromodulateurs – modifiée depuis (87)

2.1.2. Modulation de l'efficacité synaptique

La modification des propriétés intrinsèques de neurones impliqués dans une synapse entraîne une modulation de l'efficacité de cette synapse. En effet, la modulation du neurone présynaptique peut influencer sur la quantité de neurotransmetteur relâché dans la fente synaptique (86,87).

Les phénomènes de feedback sur le neurone présynaptique, soit par des messagers rétrogrades, soit par l'action d'autorécepteurs, peuvent également être la cible de modulations (86,87).

De manière complémentaire, la sensibilité au neurotransmetteur du neurone post-synaptique peut être modulée, altérant la force de la liaison entre les deux neurones (86,87).

Par ces mécanismes, il est possible que certains neurones du réseau, habituellement inactifs, soient recrutés dans certaines conditions uniquement. De plus, la libération et l'action d'un neuromodulateur peuvent elles-mêmes subir une modulation par l'intermédiaire d'autres neuromodulateurs. Enfin, les synapses électriques peuvent également être modulées par l'intermédiaire d'une modification de la force du couplage électrique entre les deux neurones (86,87).

2.1.3. La neuromodulation à l'échelle des circuits

Comme l'ont décrit les paragraphes précédents, la libération d'un unique neuromodulateur peut avoir une multitude de conséquences sur l'activité d'un ou plusieurs neurones composant un circuit et ainsi changer drastiquement la fonctionnalité de celui-ci. Cependant, le nombre important de neuromodulateurs retrouvés dans un cerveau animal et la dynamique de leur sécrétion et de leur diffusion font que les neurones se trouvent en permanence dans un équilibre instable qui dépend de l'intégration de l'ensemble des signaux qu'ils reçoivent à un moment donné. La connaissance des conditions entraînant des changements dans cet équilibre est indispensable à la compréhension de la génération et la modulation de comportements à partir de circuits neuronaux mais demeure à ce jour impossible à étudier chez l'homme à l'échelle des circuits de neurones, à cause de l'invasivité des techniques nécessaires et du trop grand nombre de neurones et de connexions synaptiques.

3. La larve de drosophile comme modèle de la modulation des circuits neuronaux par les neuropeptides

Un certain nombre de conditions techniques sont requises afin de pouvoir étudier les mécanismes impliqués dans la modulation des décisions comportementales au niveau de circuits de neurones. Ainsi, il est nécessaire de pouvoir :

- Établir un lien de causalité entre l'activité d'un certain circuit de neurone identifié avec une précision cellulaire et l'apparition d'un comportement.
- Cartographier les connexions de tous les neurones impliqués dans ce circuit avec une précision synaptique.
- Manipuler l'expression ou la fonction de certaines protéines précises au sein de neurones individuels composant le circuit étudié.

3.1. Avantages de l'utilisation de la larve de drosophile comme modèle animal

Face à l'impossibilité d'obtenir ce niveau d'informations chez l'Homme, les scientifiques se tournent vers les modèles animaux. Au cours de la dernière décennie, la larve de drosophile a émergé comme un modèle de choix pour l'étude des circuits neuronaux.

3.1.1. Compacité du système nerveux

Le système nerveux de la larve de drosophile est composé d'environ 10 000 neurones, ce qui en fait un système beaucoup plus simple que le cerveau humain et ses 86 milliards de neurones. En outre, le connectome de la larve de drosophile est en cours de reconstruction à partir d'un ensemble de coupes de microscopie électronique, permettant de cartographier l'anatomie de chaque neurone, ses partenaires et le nombre de synapses formées à travers le système nerveux (88).

3.1.2. Manipulation génétiques ciblées avec une résolution cellulaire

Un large catalogue d'outils génétiques est disponible pour produire des larves chez qui l'expression de gènes cibles peut être contrôlée à volonté. Le système Gal4-UAS, décrit dans la Figure 13, a été utilisé lors de la réalisation des travaux exposés dans la partie suivante. Cet outil génétique repose sur le croisement de deux lignées de drosophiles. Le génome de chaque lignée a été préalablement modifié pour contenir :

- La séquence codant la protéine Gal4, sous le contrôle d'un promoteur spécifique, dans l'une des lignées. Il s'agit d'une protéine de levure qui joue un rôle de facteur d'activation de transcription.

- Le gène cible, sous le contrôle d'une séquence d'action UAS (pour upstream activation sequence), dans l'autre.

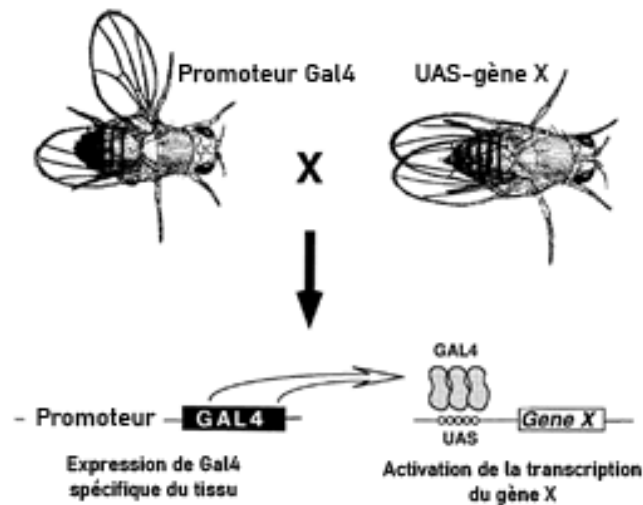


Figure 13 - Système Gal4-UAS – modifiée depuis (89)

Le croisement de ces deux lignées donnera naissance à des larves qui auront la séquence UAS et le gène cible dans toutes leurs cellules et chez qui la protéine Gal4 ne sera exprimée que dans certaines cellules, suivant le promoteur qui lui est associé. Seules, l'expression de la protéine Gal4 ou la présence de la séquence UAS accompagnée du gène cible n'entraînent pas d'effet. Cependant, lorsqu'une cellule dont le génome contient une séquence UAS exprime la protéine Gal4, cette dernière se fixe sur la séquence UAS et provoque la transcription du gène cible inséré en aval dans le génome. Ainsi, en sélectionnant avec soin le promoteur contrôlant l'expression de la protéine Gal4, il est possible de cibler très précisément le (ou les) neurone(s) de notre choix. Suivant le gène cible associé à la séquence UAS, il est possible par cette méthode d'altérer ou enregistrer l'activité de neurones, de marquer des neurones à l'aide de molécules fluorescentes, ou encore de manipuler l'expression de gènes d'intérêts (knock-down, inhibition, surexpression, knock-in) (89).

3.1.3. Facilités expérimentales

Un autre avantage de l'utilisation de larves de drosophile est la capacité d'étudier le comportement d'un grand nombre de larves à la fois, dans des expériences à haut rendement durant lesquelles les mouvements des larves peuvent être enregistrés et leurs comportements classifiés automatiquement.

De plus, le cycle de reproduction des drosophiles et le développement des larves sont très rapides, permettant l'obtention de plusieurs centaines de larves d'un génotype précis en seulement trois jours après la ponte suivant le croisement de mouches adultes.

Ainsi, la larve de drosophile remplit toutes les conditions nécessaires à l'étude de la modulation de décisions comportementales par les circuits de neurones.

Partie 3. Influence du short neuropeptide F et de l'état nutritionnel sur la prise de décision

1. Rationnel et objectifs de l'étude

Tous les êtres vivants ont une perception du monde qui leur est propre et dépend de leurs capacités sensorielles. Tous les animaux doivent analyser en temps réel un ensemble de signaux sensoriels afin de réagir aux événements environnants de manière appropriée (*e.g.* échapper à un prédateur, se réveiller à l'aube, démarrer la voiture quand le feu passe au vert, *etc.*). La plupart du temps, tout un éventail de comportements peuvent être adoptés en réponse à un ensemble de stimuli. En conséquence, un choix doit être fait entre toutes les réponses comportementales possibles. Ce choix dépend d'une multitude de facteurs, dont un certain nombre peut être inconscient (90–94).

L'état interne de l'animal exerce une influence considérable sur la décision entre plusieurs réponses comportementales (95–97). Cette régulation est essentielle pour assurer la survie de l'animal : *e.g.* si un animal ne recherche pas de nourriture lorsqu'il est à jeun, il finira par mourir de faim. En tant qu'état interne spécifique, la faim est capable d'augmenter l'effet d'odeurs appétitives qui favorisent la recherche de nourriture ou encore d'augmenter la tolérance à des nourritures ayant un goût aversif (98,99).

Les mécanismes impliqués dans ce processus de prise de décision et sa modulation par des changements dans l'environnement et l'état interne de l'animal sont mal compris, à cause de l'importante variabilité, à la fois intra- et inter-individuelle, des comportements adoptés et de la difficulté d'identifier les circuits de neurones causalement liés à la réalisation du comportement choisi.

La larve de drosophile est ici utilisée comme modèle animal afin d'éclairer les mécanismes sous-jacents à la modulation du processus de prise de décision par l'état de faim/satiété.

Dans ce but, nous étudions la réponse comportementale de centaines de larves à un jet d'air comprimé dans des expériences à haut rendement. En réponse à ce jet d'air, les larves réalisent l'une des cinq actions suivantes, illustrées dans la Figure 14, ou une séquence de certaines de ces actions : ramper vers l'avant (*crawl*), reculer (*back-up*), s'arrêter (*stop*), courber leur corps (*bend*) ou rétracter leur tête (*hunch*) (100–102).

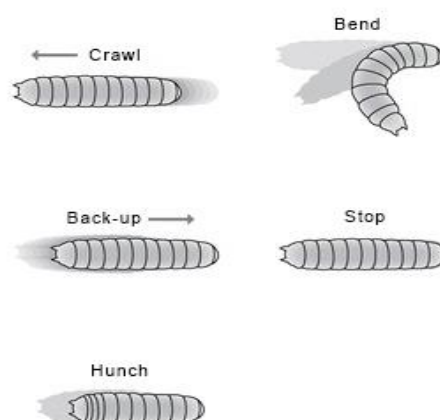


Figure 14 - Réponse comportementales des larves à un jet d'air (103)

Le processus de prise de décision des larves est ensuite analysé en calculant la probabilité de survenue de chaque action dans la population de larves étudiées. La quantification de ces probabilités d'action suite à une altération génétique précise de l'activité de neurones permettra d'identifier les neurones qui biaisent les décisions. Cette méthode, combinée à des analyses connectomiques et électrophysiologiques, a permis de décrire un circuit qui arbitre le choix entre la réalisation d'un hunch ou d'un bend en réponse à la stimulation par un jet d'air. Ce circuit, schématisé dans la Figure 15, relie des neurones mécano-sensoriels, nommés chordotonaux, à des neurones de projection, nommés Basin-1 et Basin-2, et comprend plusieurs types d'interneurones inhibiteurs dont les interactions déterminent l'activation des neurones de projection en sortie du circuit. Dans le cas où seul Basin-1 est activé, le circuit promeut le hunch. Si Basin-1 et Basin-2 sont actifs tous les deux, le circuit promeut le bend (100).

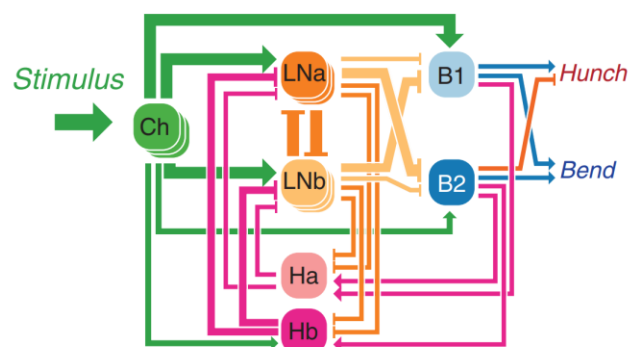


Figure 15 - Circuit de prise de décision entre le hunch et le bend en réponse à un jet d'air (100). Vert : neurones mécano-sensoriels chordotonaux. Oranges : interneurones inhibiteurs, dont Griddle-2. Roses : neurones locaux de feedback GABAergiques, dont Handle-B. Bleus : neurones de projection excitateurs Basin-1 et 2.

Des données préliminaires de mon équipe d'accueil, en cours de publication, montrent une modification de l'activité de certains neurones inhibiteurs constituant ce circuit de prise de décision en fonction de l'état de satiété des larves. En effet, dans des conditions de privation de protéines, l'activité du neurone Basin-1 est diminuée alors que l'activité du neurone Basin-2 est augmentée. Cette modulation par l'état interne entraîne l'augmentation de la probabilité que les larves effectuent un bend, en contrepartie d'une diminution de la probabilité de survenue de hunch chez des larves privées de nourriture.

Dans le but d'élucider les mécanismes à l'origine de cette modulation par l'état de satiété, nous avons sélectionné le short neuropeptide F (sNPF) comme molécule d'intérêt, potentiellement porteuse de l'action neuromodulatrice de l'état interne sur le circuit. En effet, le sNPF est un neuropeptide fonctionnellement homologue au NPY des mammifères dont le récepteur, sNPF-R, possède des similitudes structurales avec le récepteur du NPY (104–107).

En plus de son action majeure dans la régulation de la prise alimentaire, il a été montré que le NPY joue un rôle de régulation dans plusieurs voies de signalisation liées notamment à la peur, la douleur chronique, le stress et la sensation de démangeaison (108–111). De manière similaire, le sNPF est impliqué dans la régulation de plusieurs fonctions physiologiques, chez de nombreuses espèces d'invertébrés, dont la prise alimentaire, la locomotion ou l'olfaction (105,106,112). Cependant, le rôle du sNPF en réponse à une stimulation mécanique n'a été que peu étudié jusqu'ici chez la larve de drosophile, bien que des travaux récents aient montré que l'action du sNPF-R dans la corde nerveuse ventrale (VNC) de la larve soit nécessaire à l'exécution d'un comportement de fuite provoqué par mécano-nociception (113). De plus, comme le montre la Figure 16, le sNPF et son récepteur sont tous deux exprimés de manière très étendue dans le système nerveux de la larve de drosophile. Cette large distribution dans le système nerveux central est en accord avec un rôle régulateur du neuropeptide dans de nombreuses fonctions différentes.

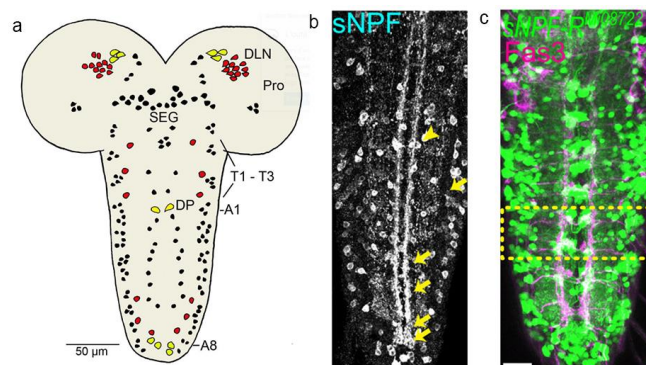


Figure 16 - Distribution du sNPF et sNPF-R dans le système nerveux central de la larve de drosophile. (a) Schéma de l'organisation des neurones exprimant le sNPF dans le système nerveux central de la larve de drosophile (114). (b) Immunomarquage du sNPF dans la VNC de la larve de drosophile (113). (c) Schéma d'expression du sNPF-R visualisé par un piège d'activateur couplé à une protéine fluorescente (113).

Ainsi, mon projet de master a exploré le rôle potentiel du sNPF et de son récepteur dans la modulation du circuit de neurones impliqué dans la décision entre plusieurs réponses comportementales à un jet d'air en fonction de l'état interne de satiété ou de faim. Dans ce but, l'expression du sNPF-R a été inhibée dans des neurones clés du circuit et la réponse des larves à un jet d'air dans différentes conditions d'alimentation a été analysée : satiété et privation de protéines.

2. Matériels et méthodes

2.1. Stocks de drosophiles

Les mouches (*Drosophila melanogaster*) ont été élevées à 25°C, sous une lumière ininterrompue et sur un milieu standard contenant des levures, de la semoule de maïs, un fongicide et de l'agar. Les différentes lignées (détaillées plus tard) étaient déjà présentes au laboratoire au moment de mon arrivée et ont été obtenues depuis le campus de recherche de Janelia (AttP2, AttP2-40, R20B01, R57C10, R61D08, R55C05, R60E02, SS00888, SS00918, UAS-TNT ; TNT pour toxine tétanique), le laboratoire de Thomas Preat (UAS-sNPF-R RNAi, TRiP JF02657) ou le laboratoire de Peter Soba (sNPF-R T2A-Gal4).

Dans le but d'inhiber l'expression du sNPF-R dans des neurones ciblés spécifiquement, nous avons utilisé le système d'expression Gal4-UAS décrit précédemment (Figure 13). Cette technique nous a permis d'entraîner l'expression d'un ARN interférant double brin (RNAi) dirigé contre le sNPF-R, uniquement dans les neurones souhaités, en croisant des lignées Gal4 spécifiques avec la lignée UAS-sNPF-R RNAi. En pratique, des mouches mâles d'une lignée Gal4 sont croisées à des femelles vierges dont le génome contient la construction UAS d'intérêt. Des lignées Gal4 différentes ont été utilisées pour cibler différents sous-ensembles de neurones : la totalité du système nerveux (R57C10/UAS-sNPF-R RNAi), les neurones mécanosensoriels chordotonaux (R61D08/UAS-sNPF-R RNAi), l'interneurone inhibiteur Handle-B (SS00888/UAS-sNPF-R RNAi) ou l'interneurone inhibiteur Griddle-2 (SS00918/UAS-sNPF-R RNAi). La Figure 17 illustre les neurones du circuit étudié qui sont ciblés par ces différentes lignées.

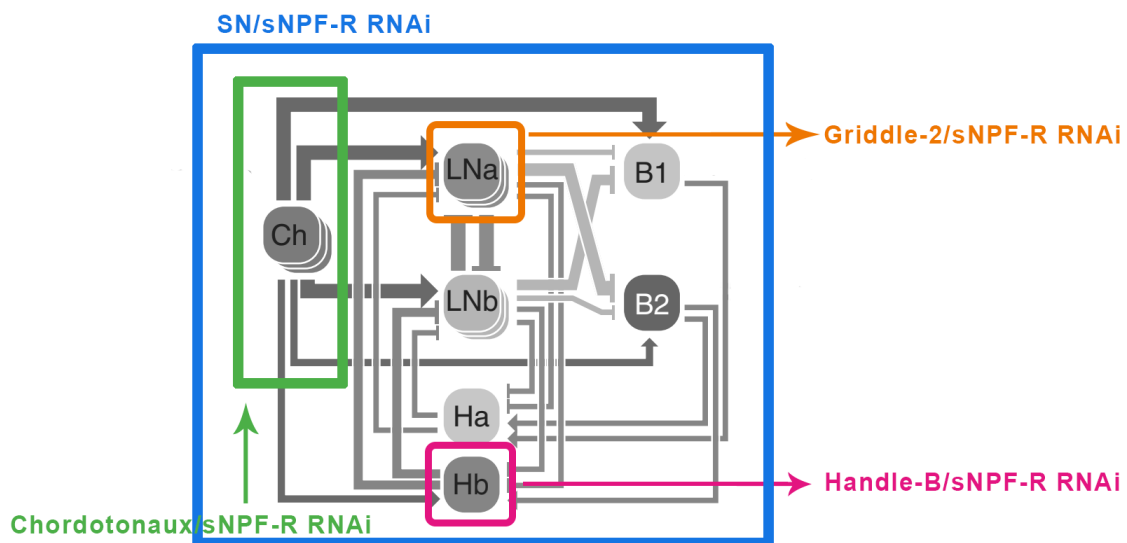


Figure 17 - Schéma des neurones du circuit de décision ciblés par le RNAi sNPF-R pour tous les génotypes testés (image modifiée depuis (100))

Les mouches ont été anesthésiées en utilisant du CO₂ dans le but de sélectionner les mâles et les femelles vierges et ensuite mises en contact pendant deux à trois jours afin qu'elles puissent s'accoupler. Au moment approprié, les mouches ont été placées pendant 8-16h à 25°C sur un milieu de nourriture solide sur lequel des levures avaient été saupoudrées pour augmenter leur motivation à pondre des œufs. Les boîtes contenant les œufs ont été collectées et gardées 72h à 25°C afin que les larves puissent se développer jusqu'au 3e stade avant les expériences de comportement.

2.2. Expériences de comportement

Dans le but de traquer le comportement des larves en temps réel, nous avons utilisé un dispositif personnalisé qui permet un contrôle précis de la distribution du stimulus (102,115). Ce dispositif est placé dans une pièce dont la température est régulée à 25°C. L'installation, montrée dans la Figure 18, est enfermée dans une boîte pour l'isoler de la lumière extérieure et contient une arène prévue pour recevoir une plaque d'agar sur laquelle les larves sont déposées. Des plaques d'agar noir ont été préparées en mélangeant du charbon avec de l'agar 3% dans le but d'augmenter le contraste entre la plaque et les larves blanches. L'arène est illuminée du dessus par un cercle de LED rouges (624 nm). Une caméra vidéo (Basler ace acA2040-90µm) et placée au-dessus des lumières pour enregistrer la plaque d'agar. Les images enregistrées par les caméras sont analysées en temps réel par le logiciel MultiWormTracker (MWT) pendant l'acquisition.

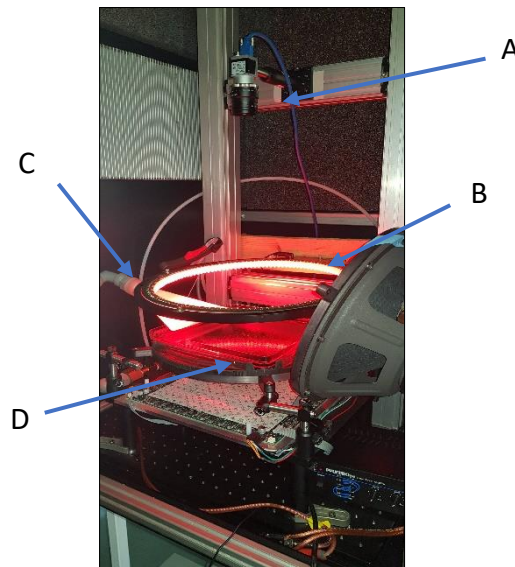


Figure 18 - Dispositif expérimental (photographie prise par Maryam REMDANE). (A) Camera. (B) Cercle de LED. (C) Buse de sortie du jet d'air. (D) Plaque d'agar.

Après avoir lancé l'analyse sur le MWT, un module de contrôle de stimulus, connecté au MWT, déclenche automatiquement un jet d'air de la durée spécifiée, à l'exact moment choisi. La stimulation par jet d'air est délivrée aux larves par l'intermédiaire d'une buse imprimée en 3D. La force du jet d'air est mesurée au début de chaque jour d'expérience en utilisant un anémomètre (PCE-423-ICA) afin d'éviter des irrégularités entre les jours. La vitesse mesurée du jet d'air décroissait de 5 m/s au plus proche de la buse jusqu'à 2 m/s du côté de la plaque d'agar le plus éloigné de la buse.

Les larves du génotype choisi étaient collectées depuis la nourriture en versant dessus une solution de sucrose à 20%. Cette solution étant plus dense que les larves, ces dernières flottent rapidement à sa surface et peuvent être collectées facilement en utilisant un pinceau. Les larves étaient ensuite rincées avec de l'eau MilliQ. Les animaux étaient ensuite séparés dans 2 groupes et placés dans des boîtes de pétri contenant un papier-filtre imbibé avec 1/ de la nourriture standard sans agar et de l'eau MilliQ (condition nourries) ou 2/ du sucrose 20% seulement (conditions privées de protéines). Après 1h30 dans ces différentes conditions, les larves étaient à nouveau collectées et rincées avec de l'eau MilliQ avant d'être placées sur une plaque d'agar neuve pour le suivi de leur comportement.

Le comportement des larves était suivi pendant 150s. Pendant les 60 premières secondes, les larves étaient libres de bouger sans stimulus afin qu'elles aient le temps de s'adapter à la plaque d'agar. Ensuite, un jet d'air de 30s était délivré par le module de contrôle de stimulus. Le suivi se poursuivait pour encore 60s pendant lesquelles la locomotion des larves revenait progressivement à la normale.

2.3. Immunomarquages

Plusieurs larves du même génotype ont été disséquées afin d'en extraire le système nerveux central, comprenant le cerveau et la corde nerveuse ventrale. Chaque cerveau individuel a ensuite été fixé dans du PFA à 4%, puis rincé au moins trois fois dans du PAT3. Ensuite, les cerveaux ont subi une étape de perméabilisation dans du PAT3 contenant 1% de Triton, puis de blocage dans du PAT3 contenant 1% de BSA.

Un anticorps primaire spécifique de la protéine GFP a été utilisé dans tous les marquages, mélangé à un deuxième anticorps primaire spécifique soit du sNPF-R, soit de la protéine tdTomato. Les cerveaux ont baigné dans le mélange d'anticorps primaires pendant 48h à 4 °C avant d'être lavés au moins trois fois dans du PAT3 puis placés dans le mélange d'anticorps secondaires. Ce dernier contenait un anticorps spécifique des immunoglobulines de poulet (correspondant à l'anticorps ciblant la GFP) marqué avec un fluorophore Alexa Fluor 488, de rat (correspondant à l'anticorps ciblant le sNPF-R) marqué avec un fluorophore Alexa Fluor 647 ou de lapin (correspondant à l'anticorps ciblant tdTomato) marqué avec un fluorophore Alexa Fluor 647. Les cerveaux ont baigné dans le mélange d'anticorps secondaires pendant 48h à 4 °C avant d'être à nouveau rincés puis montés sur une lame dans une goutte de réactif Antifade.

Les cerveaux ont finalement été imagés à l'aide d'un microscope confocal Leica SP8, avec un objectif x25. Alexa Fluor 488 a été excité avec un laser de longueur d'onde de 488 nm, et Alexa Fluor 647 a été excité avec un laser de longueur d'onde 633 nm.

2.4. Analyse de données

À partir des données du MWT, le logiciel Choreography extrait pour chaque larve les coordonnées de son contour et une ligne médiane. Ces données sont ensuite traitées par un algorithme automatique de machine learning, décrit en détails dans la référence (101), qui classe les mouvements des larves en différentes actions (crawl, bend, back-up, stop, roll, hunch, small actions) et calcule la probabilité avec laquelle chaque action survient au cours du temps.

Les probabilités d'action sont d'abord comparées entre les larves d'un même génotype ayant subi différentes conditions de nutrition. Ensuite, pour chaque condition de nutrition, toutes les lignées de drosophiles testées sont comparées à un contrôle qui n'exprime pas le RNAi dirigé contre le sNPF-R. Des graphiques représentant les probabilités d'action ont été générés à partir de scripts MATLAB écrits par Éloïse de Tredern, une post-doctorante de l'équipe.

Les probabilités moyennes ont été utilisées pour étudier la locomotion des larves avant le stimulus car elles sont bien adaptées à l'analyse de périodes longues. Les probabilités cumulatives corrigées par la locomotion basale des larves ont été utilisées pour étudier plus en détail le comportement de bend des larves pendant les 2 premières secondes du jet d'air. Puisque nous mesurons les probabilités d'action comme la fréquence de survenue de cette action dans une population de larves, il n'a pas été possible de calculer de déviation standard sur ces probabilités.

Un test du χ^2 a été réalisé sur les probabilités moyennes avec une p-value fixée à $p < 0,05$. Ne disposant pas de test statistique adapté aux probabilités cumulatives corrigées, nous ne pouvons actuellement que formuler des hypothèses grâce aux tendances observées. Le Tableau 3 montre le nombre de larves utilisées dans chaque comparaison.

	Locomotion Basale	Réponse au jet d'air
Larves contrôles Attp2 nourries	1289	611
Larves contrôles Attp2 privées de protéines	1037	599
Larves SN/sNPF-R RNAi nourries	424	209
Larves SN/sNPF-R RNAi privées de protéines	350	184
Larves Chordotonaux/sNPF-R RNAi nourries	/	263
Larves Chordotonaux/sNPF-R RNAi privées de protéines	/	297
Larves Handle-B/sNPF-R RNAi nourries	/	256
Larves Handle-B/sNPF-R RNAi privées de protéines	/	217
Larves contrôles Attp2-40 Handle-B nourries	/	353
Larves contrôles Attp2-40 Handle-B privées de protéines	/	258
Larves Griddle-2 nourries	/	116
Larves Griddle-2 privées de protéines	/	136
Larves contrôles Attp2-40 Griddle-2 nourries	/	124
Larves contrôles Attp2-40 Griddle-2 privées de protéines	/	96

Tableau 3 - Nombre de larves de chaque génotype et condition de nutrition suivies pendant la locomotion basale (2ème colonne) et la réponse au jet d'air (3ème colonne). Les cases vides correspondent à des comparaisons qui ne seront pas étudiées ici.

2.5. Analyse de connectivité

Dans le cadre d'un projet collaboratif de reconstruction du connectome de la larve de drosophile, l'accès à des données de reconstruction publiées et non publiées a été donné à mon laboratoire (79,116). À partir de ces données, j'ai analysé les partenaires synaptique des neurones chordotonaux en utilisant l'outil CATMAID (<http://www.catmaid.org>) (88). Des tableaux contenant le nombre de synapses entre les neurones étudiés et chacun de leurs partenaires pré-synaptiques et post-synaptiques ont été exportés depuis CATMAID et analysés en utilisant Excel et MATLAB. Les données montrées plus loin sont une synthèse des tableaux exportés et ne sont pas exhaustives.

3. Résultats

3.1. Test de l'implication du sNPF dans la modulation de la réponse comportementale à un jet d'air par l'état interne

3.1.1. Locomotion basale

3.1.1.1. Comportement de larves contrôles

Afin de pouvoir étudier l'implication du sNPF dans le comportement des larves, un RNAi a été utilisé pour réguler négativement l'expression du sNPF-R. Le comportement de larves chez qui l'expression du sNPF-R était diminuée a ainsi été comparé au comportement de larves contrôles, sans altération de l'expression du sNPF-R. Le RNAi utilisé pour inhiber l'expression du sNPF-R est placé sous le contrôle d'une construction génétique Gal4 insérée dans le site d'intégration AttP2 de la lignée de drosophiles $y[1] \ v[1]; P\{y[+t7.7]=CaryP\}attP2$ (appelée AttP2 pour la suite) pour diriger l'expression du RNAi dans les cellules désirées. Ainsi, le contrôle théoriquement le plus approprié pour mes expériences est la progéniture du croisement entre la lignée contrôle AttP2 (sans construction Gal4) et la lignée UAS-sNPF-R RNAi. Cependant, des problèmes expérimentaux nous ont poussé à utiliser des larves AttP2/UAS-TNT, dont le fond génétique est très proche de celui des larves AttP2/UAS-sNPF-R RNAi et dont la réponse comportementale au jet d'air est bien connue des membres de mon laboratoire, comme contrôle lors de nos analyses.

Dans un premier temps, nous avons analysé les effets de l'état de satiété sur la locomotion des larves en absence de stimulation. Dans des conditions naturelles, pour explorer leur environnement, les larves alternent entre des séquences de crawl et de réorientation par courbure de leur corps avec une fréquence qui peut être quantifiée. Lorsqu'il leur était permis de se déplacer librement sur la plaque d'agar, les larves de tous les génotypes testés ont présenté presque exclusivement deux comportements différents : le crawl et le bend (Figure 19).

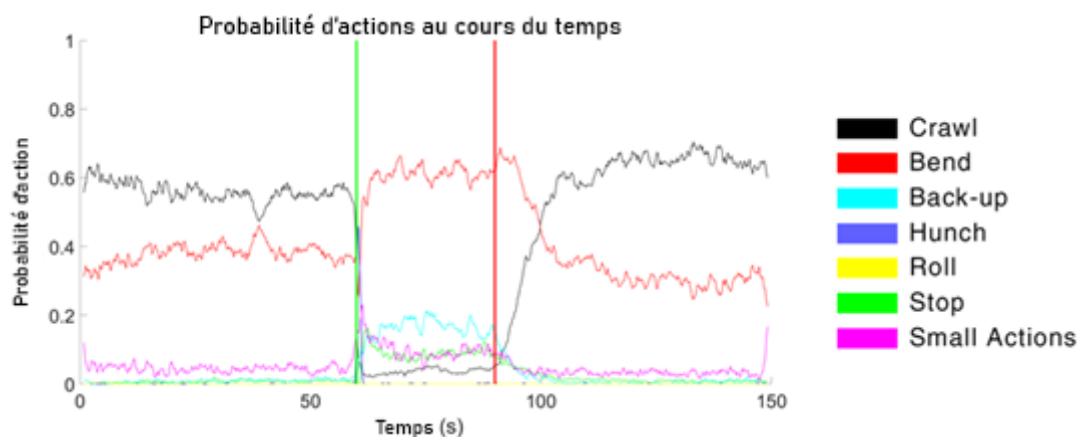


Figure 19 - Probabilités de toutes les actions traquées au cours du temps pour des larves contrôles (AttP2/UAS-TNT) (ligne verticale verte – début du jet d'air ; ligne verticale rouge – fin du jet d'air)

Après avoir été soumises à une privation de protéines, les larves contrôles ("AttP2/UAS-TNT"), avec un niveau d'expression du sNPF-R normal, n'ont présenté que des changements mineurs dans leur locomotion basale qui ne se sont pas révélés statistiquement significatifs (Figure 20, rouge).

Locomotion basale SN/RNAi sNPF-R

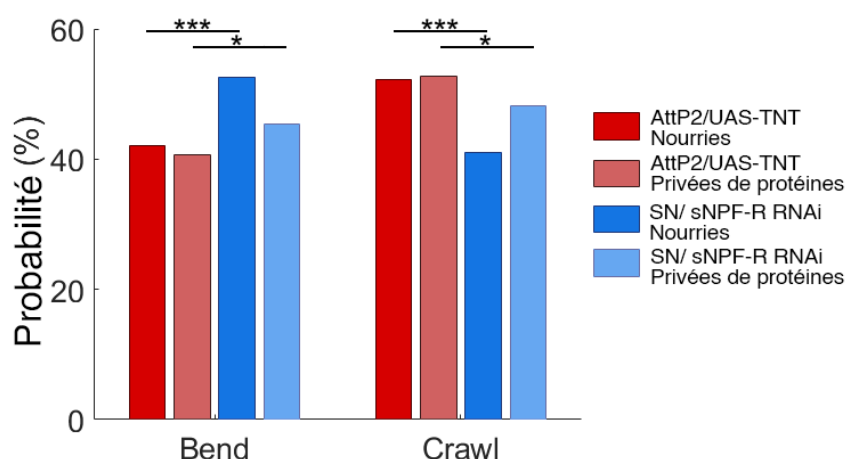


Figure 20 - Influence de la condition de nutrition sur la locomotion basale des larves contrôles (AttP2/UAS-TNT) et SN/sNPF-R RNAi. Les graphiques montrent la probabilité moyenne de survenue des actions Crawl ou Bend avant le début de la stimulation. Test du χ^2 , * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

3.1.1.2. Comportement des larves SN/sNPF-R RNAi

Afin de déterminer si la signalisation par le sNPF joue un rôle dans la modulation des choix comportementaux observés chez les larves contrôles, nous avons inhibé l'expression de son récepteur sNPF-R dans l'ensemble des neurones du système nerveux (SN/sNPF-R RNAi).

Ces larves ont présenté une augmentation de la probabilité de bend et une diminution de la probabilité de crawl comparé aux larves contrôles "AttP2/UAS-TNT" (Figure 20, bleu). Ces différences ont été retrouvées dans toutes les conditions d'alimentation testées et peuvent montrer que l'action du sNPF sur son récepteur influence constitutivement la locomotion basale des larves en faveur du crawl, peu importe leur état interne ; ou alors refléter les différences de fond génétique entre les deux lignées étudiées.

Lorsque l'on compare les larves "SN/sNPF-R RNAi" dont l'alimentation a été altérée aux larves du même génotype nourries normalement, on peut également observer une tendance à la modification de leur locomotion basale, en faveur du crawl, qui ne s'est pas révélée statistiquement significative (Figure 20, bleu). Il semble donc que la signalisation par le sNPF atténue les effets de la privation de nourriture sur la locomotion basale.

3.1.2. Réponse au jet d'air

En réponse à un jet d'air, dans les deux premières secondes de la stimulation, les larves réalisent principalement des hunchs, des back-ups, des stops et des bends. En réponse au stimulus, les larves peuvent aussi réaliser des crawls, mais dans une proportion réduite par rapport à la locomotion basale, si bien que l'on observe une chute de la probabilité de crawl après le début du jet d'air. Cette diminution de la probabilité de crawl est surtout un reflet de la survenue d'autres actions et ne sera donc pas étudiée plus en détail ici.

En outre, un modèle précédemment publié (100) prédit la survenue de bend ou de hunch en fonction de l'activité des neurones de projection Basin-1 et Basin-2 (Figure 21) suite à la stimulation des larves par un jet d'air : dans le cas où seul Basin-1 est activé, la larve réalise un hunch, alors qu'elle réalise un bend si à la fois Basin-1 et Basin-2 sont activés. Du fait de la connaissance de ce modèle, nous avons concentré notre analyse de la réponse comportementale des larves sur ces deux actions : le hunch et le bend.

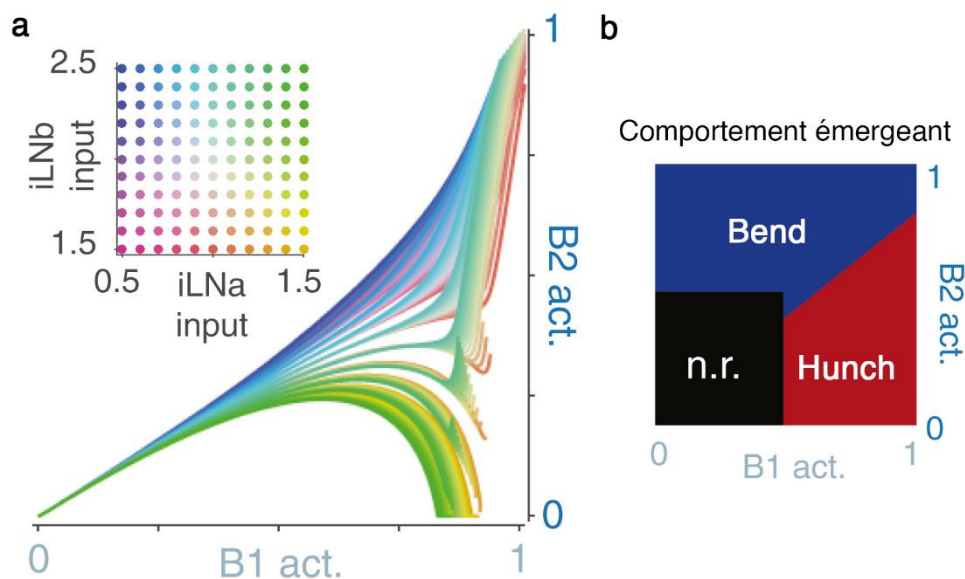


Figure 21 - Modèle de l'activité des neurones de projection Basin et de la réponse comportementale des larves en fonction de l'activité des interneurons inhibiteurs (image modifiée depuis (100)). (a) Influence de la balance entre les interneurons inhibiteurs sur l'activité des neurones de projections Basin. (b) Réponse comportementale des larves à un jet d'air en fonction des niveaux d'activation respectifs de Basin-1 et Basin-2.

Une diminution statistiquement significative de la probabilité de hunch a été retrouvée chez les larves contrôles privées de protéines par rapport aux larves nourries. De plus, ces larves privées de protéines ont montré une plus grande proportion de bends en réponse au jet d'air que les larves nourries (Figure 22, rouge). Ces résultats ont été utilisés comme point de départ afin d'élucider l'impact de l'inhibition de l'expression du sNPF-R dans des neurones clés de notre circuit de décision.

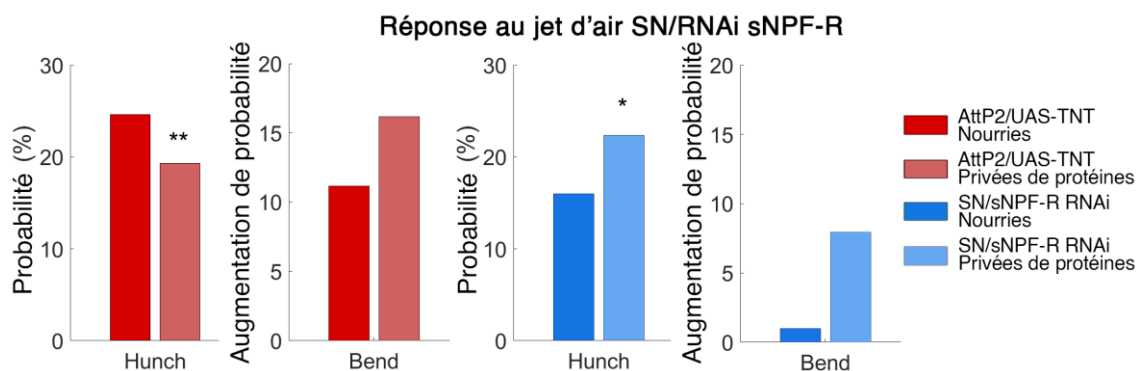


Figure 22 - Influence de la condition d'alimentation sur la réponse comportementale chez les larves contrôles (AttP2/UAS-TNT) et SN/sNPF-R RNAi. Les graphiques montrent la probabilité moyenne de survenue de Hunch et la probabilité cumulée de survenue de Bend corrigée par la locomotion basale dans les deux premières secondes de la stimulation. Test du χ^2 , * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Les larves chez qui l'expression du sNPF-R a été inhibée dans l'ensemble des neurones du système nerveux ont montré une réponse au jet d'air différente des larves contrôles. En effet, pour ce génotype, la probabilité de survie de hunchs est plus faible chez les larves nourries que chez les larves privées de protéines (Figure 22, bleu). Il semble donc que la signalisation par le sNPF soit essentielle pour entraîner une réduction de la probabilité de hunch en réponse au jet d'air chez les larves privées de protéines par rapport aux larves nourries. De plus, la probabilité de survie de hunchs est plus faible chez les larves SN/RNAi sNPF-R nourries que chez les larves contrôles nourries, ce qui montre que le sNPF promeut le hunch dans cette condition. Il est possible que, dans des conditions de privation de protéines, la signalisation par le sNPF inhibe un acteur non-identifié qui entraîne une recrudescence de hunchs. En outre, si une augmentation de la probabilité de bend est à nouveau observée chez les larves privées de protéines, cette réponse est moins importante que chez les larves contrôles.

Nous avons ainsi montré que le sNPF est impliqué dans la survie de hunchs et de bends en réponse à un jet d'air et que l'altération de son activité est capable de changer la balance entre ces deux comportements dans différentes conditions d'alimentation. Cependant, ces comparaisons ayant été basées sur un contrôle génotypique inadapté, il sera nécessaire de vérifier ces résultats avec le contrôle adéquat.

3.2. Immunomarquage du sNPF-R

Dans le but de déterminer quels neurones au sein du circuit de neurones qui arbitre la décision entre le hunch et le bend en réponse à un jet d'air peuvent être la cible de la signalisation par le sNPF, nous avons révélé l'expression du sNPF-R à l'aide d'un anticorps spécifique de ce récepteur, lui-même marqué par un anticorps lié à un fluorophore (en magenta sur la Figure 23). Ce marquage a été réalisé après dissection du système nerveux central de larves chez qui le système Gal4-UAS a été utilisé pour entraîner l'expression d'une protéine fluorescente verte (GFP, en vert sur la Figure 23) dans un type neuronal isolé au sein du circuit étudié. Ainsi, une colocalisation entre le signal de l'anticorps spécifique du sNPF-R (magenta) et de la GFP (vert) indique que le neurone ciblé génétiquement par le promoteur Gal4 exprime le récepteur du sNPF.

Par ce marquage, nous avons pu montrer que l'interneurone inhibiteur Griddle-2 (en orange sur la Figure 15) exprime le sNPF-R, comme on peut le voir sur la Figure 23. La sensibilité et la spécificité de l'anticorps dirigé contre le sNPF-R se sont cependant révélées faibles, ce qui a compliqué l'interprétation des images.

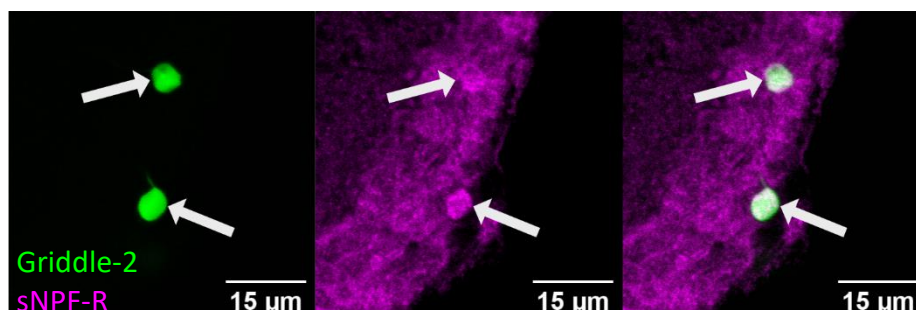


Figure 23 - Immunomarquage direct du sNPF-R sur l'interneurone Griddle-2. Vert = neurones Griddle-2 ; Magenta = Anticorps spécifique du sNPF-R.

Pour pallier les limitations techniques de l'anticorps utilisé, nous avons utilisé, conjointement au système Gal4-UAS, le système d'expression génétique LexA/LexAop. Ce dernier fonctionne selon le même mécanisme que le système Gal4-UAS mais utilise des molécules différentes. La combinaison de ces deux systèmes d'expression permet donc de provoquer l'expression de deux protéines cibles, dans deux populations neuronales différentes.

Ainsi, nous avons exprimé une protéine fluorescente verte (GCaMP) dans l'ensemble des neurones exprimant le sNPF-R grâce à un promoteur Gal4 inséré dans le promoteur du gène du récepteur et une protéine fluorescente rouge (tdTomato) dans un type neuronal isolé au sein du circuit étudié avant de les marquer avec des anticorps spécifiques afin d'amplifier le signal fluorescent. Comme précédemment, une colocalisation entre le signal de la GCaMP (en vert sur la Figure 25 et la Figure 24) et de tdTomato (en magenta sur la Figure 25 et la Figure 24) indique que le neurone ciblé génétiquement par le promoteur LexA exprime le récepteur du sNPF.

Nous avons pu réaliser ce second type de marquage sur les neurones de projection Basin-1 et Basin-2 (en bleu sur la Figure 15), sur les neurones mécano-sensoriels chordotonaux (en vert sur la Figure 15) et sur l'interneurone inhibiteur Handle-B (en rose sur la Figure 15).

Les neurones mécano-sensoriels chordotonaux comprennent 8 sous-types différents : 5 Lch, 1 VchA, 1 VchB et 1 v'ch. Nous avons montré que le neurone v'ch (Figure 24b), les neurones VchA et VchB (Figure 25c) et 3 neurones Lch parmi les 5 existant (Figure 24a) expriment le sNPF-R.

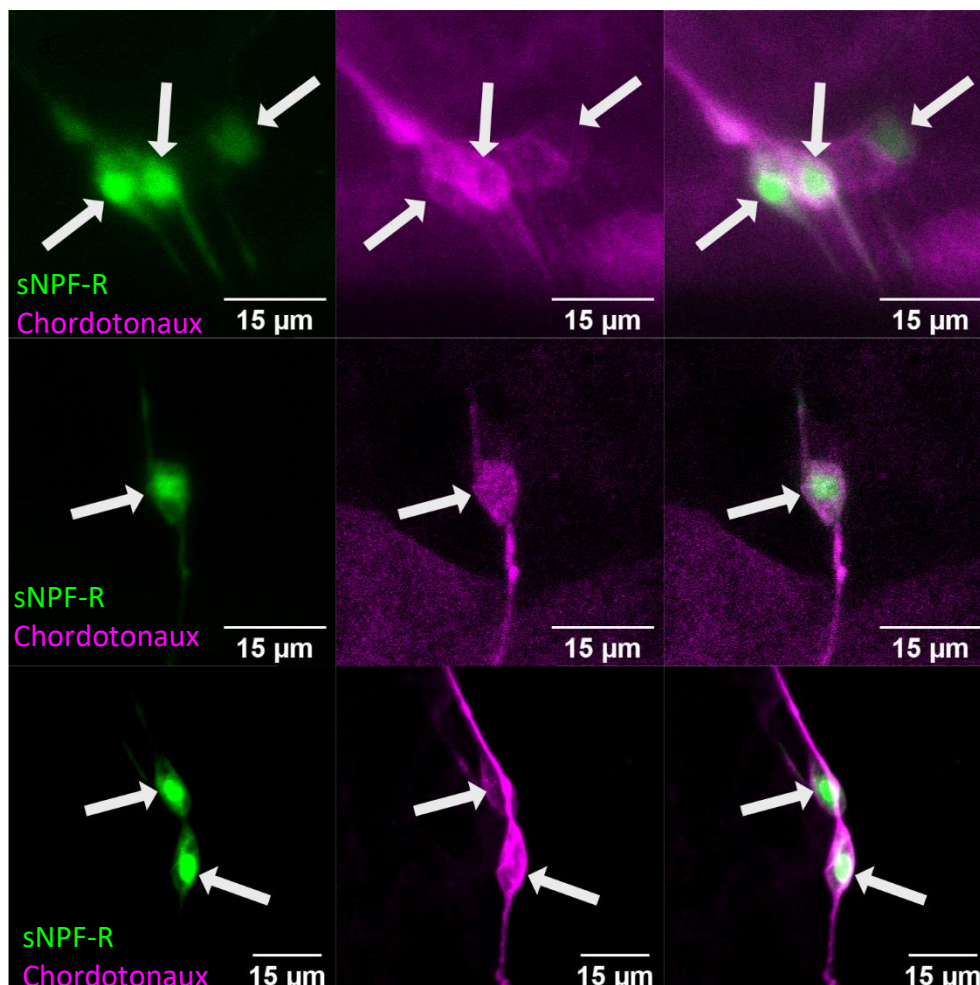


Figure 24 - Immunomarquage du sNPF-R sur les neurones mécano-sensoriels chordotonaux par expression génétique de protéines reportrices. (a) Co-marquage des neurones chordotonaux Lch (magenta) et du sNPF-R (vert). 3 Lch et v'ch sont positifs au sNPF-R. (b) Co-marquage du neurone v'ch (magenta) et du sNPF-R (vert). Ce neurone est positif au sNPF-R. (c) Co-marquage des neurones chordotonaux VchA et VchB (magenta) et du sNPF-R (vert). Tous deux sont positifs.

Par cette technique, nous avons également montré que ni Basin-1 (Figure 25a), ni Basin-2 (Figure 25b) n'expriment le sNPF-R.

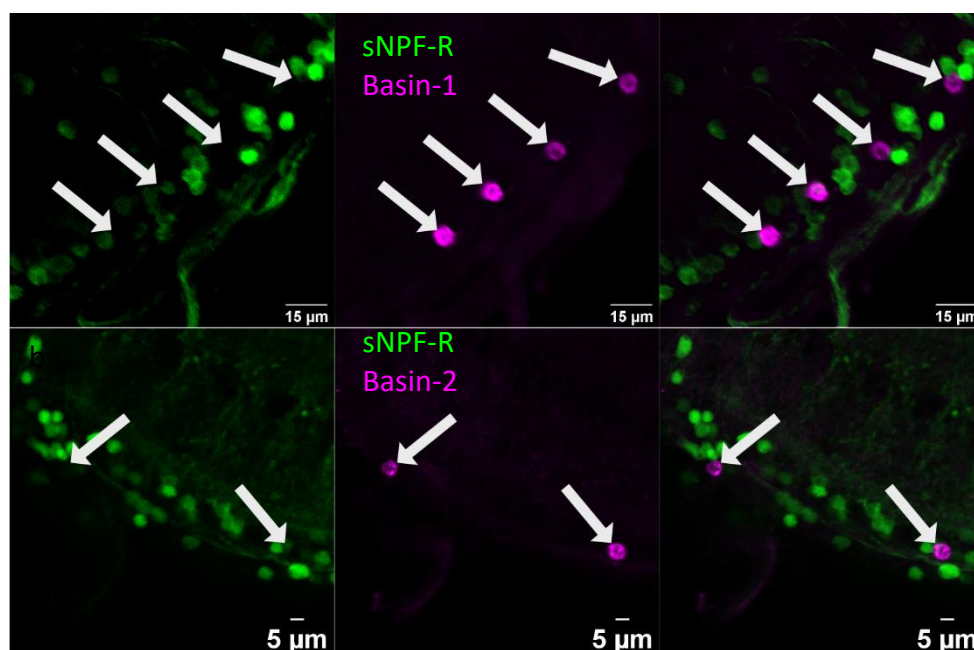


Figure 25 - Immunomarquage du sNPF-R sur les neurones de projection Basin par expression génétique de protéines reportrices. (a) Co-marquage des neurones Basin-1 (magenta) et du sNPF-R (vert). Aucune colocalisation n'est détectée. (b) Co-marquage des neurones Basin-2 (magenta) et du sNPF-R (vert). Aucune colocalisation n'est détectée.

Enfin, grâce à ce marquage génétique, nous avons pu montrer que l'interneurone Handle-B expriment lui aussi le sNPF-R (Figure 26).

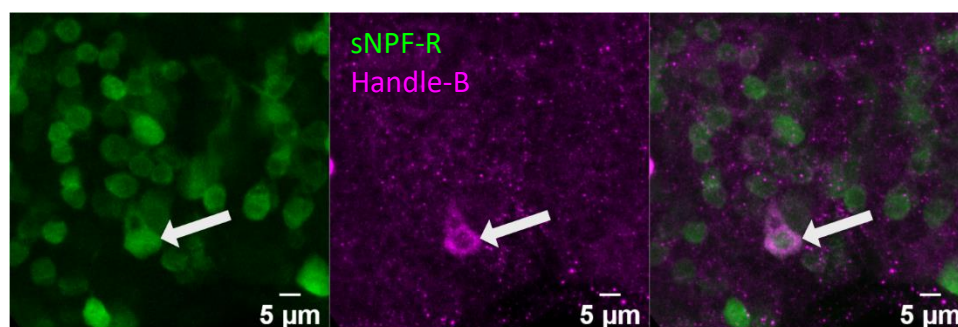


Figure 26 - Immunomarquage du sNPF-R sur l'interneurone Handle-B par expression génétique de protéines reportrices. Vert = neurones positifs au sNPF-R ; Magenta = neurones Handle-B. L'interneurone Handle-B est positif au sNPF-R.

Les résultats de ces marquages nous indiquent que les neurones Griddle-2, Handle-B et six sous-types de neurones chordotonaux expriment le récepteur au sNPF et pourraient donc être à l'origine de son effet dans la modulation de la décision comportementale des larves par leur état interne. Les neurones Basin-1 et Basin-2, quant à eux, n'expriment pas le sNPF-R.

3.3. Importance comportementale du sNPF dans le circuit de prise de décision

3.3.1. Inhibition de l'expression du sNPF-R dans les neurones mécano-sensoriels chordotonaux

Les neurones mécano-sensoriels chordotonaux sont impliqués dans la sensation du jet d'air, ce qui en fait une cible potentiellement intéressante pour la modulation de la réponse comportementale à celui-ci. Cependant, les larves chez qui nous avons inhibé l'expression du sNPF-R dans les neurones chordotonaux ont subi la même modulation de leur réponse comportementale que les larves contrôles à la suite de la modification de leur alimentation : on observe en effet une diminution de la probabilité de hunchs et une augmentation plus importante de la proportion de bends provoqués par la stimulation chez les larves privées de protéines que chez les larves nourries (Figure 27, vert).

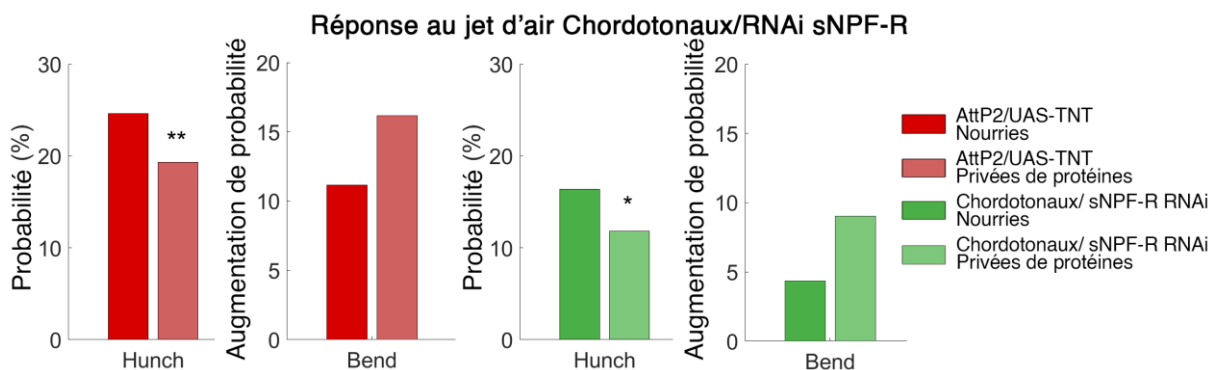


Figure 27 - Influence de la condition d'alimentation sur la réponse comportementale chez les larves chez les larves contrôles (AttP2/UAS-TNT) et Chordotonaux/sNPF-R RNAi. Les graphiques montrent la probabilité moyenne de survenue de Hunch et la probabilité cumulée de survenue de Bend corrigée par la locomotion basale dans les deux premières secondes de la stimulation. Test du χ^2 , * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Ces résultats suggèrent donc que l'action du sNPF sur les neurones chordotonaux n'est pas impliquée dans la modulation de la décision des larves en fonction de leur état interne. Ainsi, puisque la modulation n'a pas lieu au niveau sensoriel, il est probable qu'elle ait lieu au niveau des interneurones dont l'activité est prédite par le modèle de la Figure 21 comme déterminant l'état final du circuit à la suite d'une stimulation par le jet d'air. Cette hypothèse est renforcée par des données préliminaires d'imagerie fonctionnelle dans mon équipe d'accueil qui montrent une augmentation de la réponse de l'interneurone Handle-B à des stimulation mécaniques dans des conditions de privation de protéines et au contraire une diminution de la réponse de l'interneurone Griddle-2.

3.3.2. Inhibition de l'expression du sNPF-R dans l'interneurone inhibiteur Handle-B

Dans le but de tester l'effet du sNPF-R sur l'interneurone inhibiteur Handle-B, nous avons utilisé une lignée de drosophiles dans laquelle la construction Gal4 est séparée en une partie AD (pour Activation Domain) et une partie DBD (pour DNA-Binding Domain), couramment appelée "lignée split". Cette construction permet d'exprimer les parties AD et DBD de la protéine Gal4 sous le contrôle de deux promoteurs différents, et donc dans deux populations neuronales différentes. La protéine Gal4 ne sera fonctionnelle que dans les neurones exprimant à la fois la partie AD et la partie DBD. Nous pouvons ainsi cibler uniquement les neurones compris dans l'intersection entre le profil d'expression des deux promoteurs utilisés. Ainsi, deux moitiés du gène codant la protéine Gal4 ont été insérées dans le génome de cette lignée dans les sites d'insertion AttP2 et AttP40 respectivement. Pour cette raison, la lignée AttP2-40/UAS-RNAi sNPF-R a été utilisée comme contrôle lors pour ces analyses.

Les résultats obtenus chez ce nouveau contrôle se sont montrés similaires à ceux obtenus pour le contrôle AttP2/UAS-TNT (Figure 27 et Figure 28, rouge), confirmant l'observation d'une diminution de la probabilité de hunchs et d'une augmentation de la proportion de bends provoqués par le jet d'air dans des conditions de privation de protéines.

L'inhibition de l'expression du sNPF-R dans l'interneurone Handle-B a entraîné une disparition de la différence entre la probabilité de hunchs chez les larves nourries et les larves privées de protéines. En outre, plus de bends ont été provoqués chez les larves nourries que chez les larves privées de protéines dans ce génotype (Figure 28, rose).

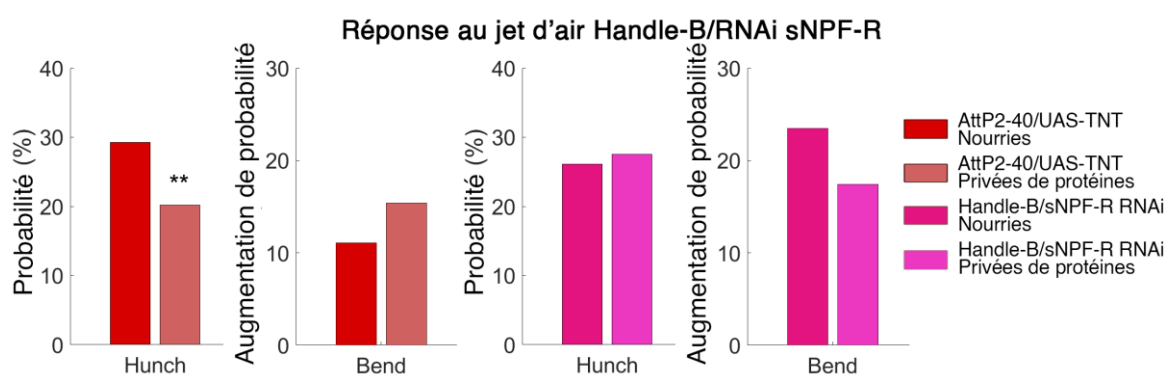


Figure 28 - Influence de la condition d'alimentation sur la réponse comportementale chez les larves chez les larves contrôles (AttP2-40/UAS-sNPF-R RNAi) et Handle-B/sNPF-R RNAi. Les graphiques montrent la probabilité moyenne de survenue de Hunch et la probabilité cumulée de survenue de Bend corrigée par la locomotion basale dans les deux premières secondes de la stimulation. Test du χ^2 , * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Il est intéressant de noter que les larves Handle-B/sNPF-R RNAi privées de protéines ont ici un comportement proche des larves contrôles nourries. Ces résultats suggèrent que l'action du sNPF sur l'interneurone Handle-B entraîne une inhibition différentielle de ces deux actions suivant l'état alimentaire des larves : en effet, il inhibe la réponse de hunchs chez les larves privées de protéines et inhibe la réponse de bends chez les larves nourries.

3.3.3. Inhibition de l'expression du sNPF-R dans l'interneurone inhibiteur Griddle-2

Afin d'étudier l'action du sNPF sur l'interneurone Griddle-2, nous avons à nouveau utilisé une lignée split, qui a donc également requis l'utilisation du contrôle AttP2-40/UAS-RNAi sNPF-R. Ces expériences ont cependant été réalisées avec des larves légèrement plus jeunes que celles utilisées précédemment, ce qui peut expliquer les plus faibles valeurs de probabilités observées. Cependant, ce contrôle, au même titre que ceux présentés précédemment, a montré une diminution de la probabilité de hunchs et une augmentation de la proportion de bends provoqués par le jet d'air dans des conditions de privation de protéines, nous confortant dans l'exploitabilité de ces données (Figure 29, rouge).

L'inhibition de l'expression du sNPF-R dans l'interneurone Griddle-2 a entraîné une disparition de la différence entre la probabilité de hunchs entre les larves nourries et les larves privées de protéines. En outre, l'augmentation de la proportion de bends provoqués par la stimulation, retrouvée chez les larves privées de protéines contrôles, est toujours présente après inhibition de l'expression du sNPF-R dans Griddle-2 (Figure 29, orange).

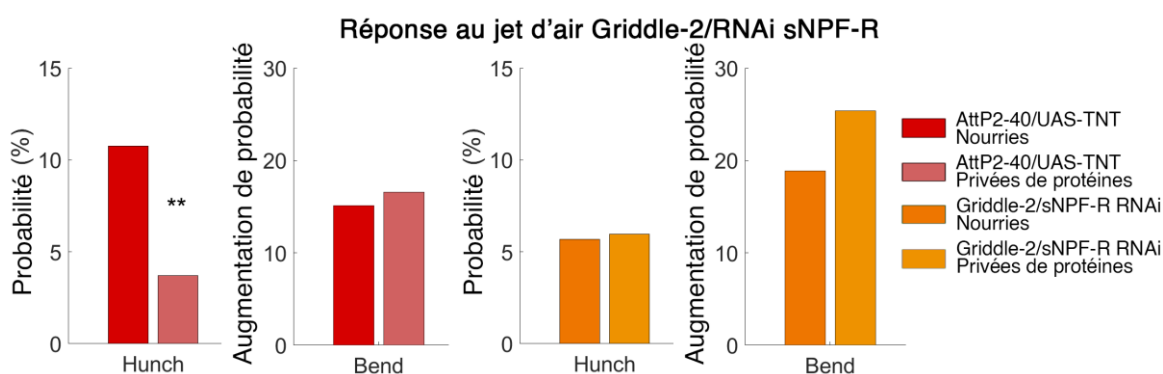


Figure 29 - Influence de la condition d'alimentation sur la réponse comportementale chez les larves chez les larves contrôles (AttP2-40/UAS-sNPF-R RNAi) et Griddle-2/sNPF-R RNAi. Les graphiques montrent la probabilité moyenne de survenue de Hunch et la probabilité cumulée de survenue de Bend corrigée par la locomotion basale dans les deux premières secondes de la stimulation. Test du χ^2 , * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Il est intéressant de noter que les larves Griddle-2/sNPF-R RNAi nourries ont ici un comportement proche des larves contrôles privées de protéines. Ces résultats suggèrent que l'action du sNPF sur l'interneurone Griddle-2 est nécessaire pour promouvoir les hunchs chez les larves nourries.

3.3.4. Synthèse des données de comportement

L'analyse de la réponse comportementale à un jet d'air de larves chez qui nous avons inhibé l'expression du sNPF-R dans différents neurones du circuit précédemment décrit nous a permis de déterminer que :

- Le sNPF est impliqué dans la modulation par l'état interne de la décision entre le hunch et le bend en réponse au jet d'air.
- Au sein du circuit de prise de décision, la modulation n'a pas lieu au niveau des neurones sensoriels mais au niveau des interneurones.

- Le sNPF semble exercer son rôle modulateur par une action différentielle sur les interneurons Handle-B et Griddle-2 selon l'état interne des larves. Il est en effet capable aussi bien de promouvoir la réponse de hunchs chez des larves nourries par son action sur Griddle-2, que de l'inhiber chez des larves privées de protéines par son action sur Handle-B.

3.4. Analyse de la connectivité des neurones chordotonaux par microscopie électronique

Les neurones mécano-sensoriels chordotonaux sont des neurones clés pour le circuit de prise de décision puisqu'ils en sont le point d'entrée des informations mécaniques (vibration, jet d'air, pression). Nos résultats ayant montré que la majorité des sous-types de chordotonaux expriment le récepteur du sNPF, nous avons décidé d'étudier les partenaires présynaptiques des neurones chordotonaux dans le but d'identifier des neurones qui pourraient apporter du sNPF au sein du circuit de décision étudié.

La VNC de la larve de drosophile est divisée en 3 segments thoraciques et 9 segments abdominaux, correspondant à une segmentation anatomique du corps de la larve (117). Les neurones chordotonaux correspondent à des paires de huit neurones (lch5 1-5, vch A-B, v'ch) symétriques par rapport à la ligne médiane de la larve et répétées dans chaque segment. Nous avons concentré notre analyse sur les partenaires présynaptiques des neurones chordotonaux retrouvés dans le premier segment abdominal car il s'agit du segment dont la reconstruction est la plus avancée. Nous avons découvert que les neurones chordotonaux peuvent être regroupés en deux catégories en fonction des neurones dont ils reçoivent des synapses.

D'un côté, la majorité des synapses reçues par les neurones lch5 1, lch5 3, vchA, vchB et v'ch proviennent des neurones Drunken-1 et 4 ipsilatéraux, du neurone "T2 contralateral descending" (appelé T2 descending pour la suite), des neurones contralatéraux A08f et "T1 bilateral descending" (appelé T1 descending pour la suite), ainsi que de plusieurs neurones Ladder (principalement Ladder a et e) qui appartiennent à un groupe de neurones dont les corps cellulaires sont localisés dans la ligne médiane de la VNC (Figure 30a).

D'un autre côté, la majorité des synapses reçues par les neurones lch5 2, lch5 4 et lch5 5 proviennent du neurone T2 descending ipsilatéral et de plusieurs neurones Ladder (principalement Ladder a, b, c, d et f) (Figure 30a).

Tandis que les neurones Drunken et Ladder sont des interneurons inhibiteurs locaux (faisant partie respectivement des LNa et LNb décrits dans la Figure 15) connus pour être impliqués dans le processus de prise de décision en réponse à un jet d'air (100), le rôle des neurones A08f, T1 descending et T2 descending n'était pas identifié. Nous avons donc décidé d'étudier plus en détails leur morphologie et leur connectivité dans le but, si possible, d'en déduire leur fonction potentielle.

a

Partenaire présynaptique	lch5-1 a1	lch5-2/4 a1	lch5-3 a1	lch5-2/4 a1_1,2	lch5-5 a1	vchA/B a1	vchA/B a1_3,4	v'ch a1
t2r contralateral pre lch5	6	0	7	0	5	2	1	2
t1r bilateral pre-lch5 descending neuron	7	0	6	0	0	4	3	3
t2l contralateral pre lch5	2	1	6	0	7	4	0	2
Drunken-1 a1r	9	0	7	0	1	0	2	2
t1l bilateral pre-lch5 descending neuron	6	0	7	0	0	5	1	2
Ladder-e a1	5	0	10	1	0	4	0	0
crescent a1r	3	0	2	0	0	3	5	6
drunken-4 a1r	7	0	5	0	0	0	6	0
drunken-4 a1l	8	0	4	0	0	0	1	2
Ladder-a_t3l	0	0	8	0	1	2	0	3
Drunken-1 a1l	4	0	9	0	0	0	0	0
crescent a1l_lmpair 1 A08s upstream	4	0	0	1	0	3	4	1
Ladder-f a2	0	6	0	5	1	0	0	0
Ladder_a3 (post lch5-2/4)	0	7	0	4	0	0	0	0
Ladder-d a2	0	5	0	6	0	0	0	0
Ladder-a a2	2	0	9	0	0	0	0	0
t2 contralateral descending pre lch5-2/4	0	4	0	5	0	0	0	0
Ladder t3 max_descending	1	0	1	0	0	0	3	4
t2r bilateral pre lch5	0	6	0	2	0	0	0	0
drunken-1_a2l	4	0	3	0	0	0	0	1
A08f a3r	6	0	0	0	0	0	2	0
A08m2? a3r	0	0	3	1	1	0	0	2
descending pre-lch5 t2l	0	0	0	0	0	2	1	3
A08f a3l	2	0	1	0	1	0	1	0
Ladder-d_a1	0	2	1	1	1	0	0	0
Presynaptic-to-VLEL9-a1_a4l(A12?)	0	0	1	0	3	1	0	0
Ladder_a3 another (pre-lch5-3 axon)	0	0	5	0	0	0	0	0
A08f a5r	3	0	1	0	0	0	1	0
Ladder a7	5	0	0	0	0	0	0	0
% de synapses								
reçues de T1 et T2 descending	22,34	27,5	25,74	20,59	33,33	42,86	15,15	15,25

b

Partenaire présynaptique	T1 Descending	T2 Descending
AN-R-Sens-B2-VM-07	42	35
AN-L-Sens6B2-VM-07	38	23
MN-L-Sens-B3-VM-09	26	19
MN-R-Sens-B3-VM-08	31	10
MN-R-Sens-B3-VM-05	18	18
MN-R-Sens-B3-VM-09	14	17
MN-L-Sens-B3-VM-10	18	12
MN-R-Sens-B2-VM-19	15	14
Ladder-a a1	25	0
MN-L-Sens-B2-VM-12	16	5
handle B or A t1_todo	5	13
vch? sensory t2r (neuron 7209351)	2	16
vchAB_t3r	3	14
vch t3l	0	16
ladder?_t1	3	13
vch?_t2l neuron 3966408	1	11
MN-L-Sens-B3-VM-08	8	4
AN-R-Sens-B3-VM-15	10	1
vchA/B a1r	0	10
t2l contralateral pre lch5	8	0
t2r contralateral pre lch5	8	0
A08f a2r	6	2
vchA/B a1l	0	8
MN-R-Sens-B3-VM-06	6	2
neuron 18663128	4	4
Ladder-e a1	2	5
Ladder-b a2	0	7
A08f a3r	4	3
A08f a2l	3	4
Ladder-b t3	0	6
A08f a3l	3	3
A12l_a3l	5	0
lch5-5 a1l	0	5
v'ch a1l	0	5
VLEL9_a1l	0	5
Handle-A t3	0	5
% de synapses sur neurones AN et MN		
	49,69	29,96

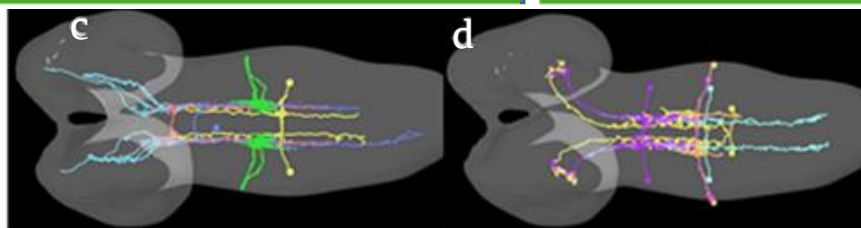


Figure 30 - Connectivité des neurones chordotonaux. (a) Tableau de connectivité des partenaires présynaptiques des neurones chordotonaux. Les valeurs représentent le nombre de synapses reçues par chaque neurone chordotonal. La dernière ligne montre le pourcentage de synapses reçues depuis les neurones T1 ou T2 descending. (b) Tableau de connectivité des partenaires présynaptiques des neurones T1 et T2 descending. Les valeurs représentent le nombre de synapses reçues par chaque neurone. La dernière ligne montre le pourcentage de synapses reçues depuis les neurones AN ou MN. (c) Vue dorsale de la reconstitution par microscopie électronique des neurones chordotonaux (vert), T1 descending (rouge), T2 descending (bleu), A08f (jaune) et AN + MN (bleu clair). (d) Vue dorsale de la reconstitution par microscopie électronique des neurones Griddle-1 (orange), A19x (rose), Jupiter (bleu clair), A10j (jaune) et Recliner (violet).

3.4.1. Partenaires présynaptiques des neurones chordotonaux

Les neurones T1 descending, T2 descending et A08f correspondent à trois paires de neurones dont les morphologies sont similaires : le corps cellulaire est situé sur un côté de la VNC et envoie des projections ipsilatérales qui traversent la ligne médiane avant de se développer en de plus longues projections contralatérales. Cette morphologie fait de ces neurones de bons candidats pour la modulation de l'activité des neurones chordotonaux en fonction d'informations venant de régions distantes du système nerveux (Figure 30c).

En étudiant les partenaires synaptiques du neurone A08f, on peut voir que jusqu'à 30% des synapses qu'il reçoit proviennent des neurones chordotonaux. De plus, la majorité des connections post-synaptiques d'A08f se font avec des neurones impliqués dans le circuit de prise de décision que nous étudions, notamment A09-Basin, Ladder, Griddle-1 et les neurones chordotonaux, mais aussi avec les neurones T2 descending ipsilatéral et T1 descending contralatéral (Figure 30c). Cette connectivité suggère que les neurones A08f pourraient être impliqués dans la synchronisation inter-segmentale de notre circuit de prise de décision.

La connectivité des neurones T1 et T2 descending impliquent les mêmes neurones (Figure 30b, c). Tous deux reçoivent la majorité de leurs synapses de neurones AN (pour sensory neurons of the antennal nerve) et MN (pour sensory neurons of the maxillary nerve). Les connections avec ces neurones représentent jusqu'à 50% et 30% des synapses reçues respectivement par les neurones T1 et T2 descending. Les neurones MN sont connus pour être impliqués dans les sensations gustatives (118–121). Les neurones AN appartiennent au nerf antennal, qui regroupe des neurones olfactifs, gustatifs (exprimant des récepteurs GR, connus comme ayant une fonction gustative), thermosensibles et des neurones dont le rôle n'est actuellement pas identifié, en provenance de l'organe sensoriel dorsal de la larve. Les neurones AN connectés aux neurones T1 et T2 descending ne semblent pas appartenir aux neurones olfactifs, nous ne savons donc pas quelles informations sensorielles ils leur relaient, même s'ils semblent également impliqués dans l'alimentation. (118,119,121,122). Il est intéressant de noter que ces connections à des neurones sensoriels suggèrent que les neurones T1 et T2 descending pourraient être capables d'intégrer des informations de multiples modalités sensorielles et influencer les neurones post-synaptiques du réseau en conséquence. Les principaux partenaires post-synaptiques des neurones T1 et T2 descending étant les neurones A19x, Griddle-1, Ladder et chordotonaux, il est possible que les informations olfactives et gustatives soient en mesure de moduler l'activité des neurones chordotonaux par l'intermédiaire des neurones T1 et T2 descending.

Les neurones Ladder sont des neurones localisés dans la ligne médiane et répétés le long de la VNC pour former une sorte d'échelle. Cette localisation et morphologie en font de bons candidats pour la synchronisation inter-segmentale requise afin que les larves puissent réaliser des actions coordonnées. Nous avons donc décidé de concentrer notre analyse sur les neurones Griddle-1 et A19x qui, au contraire, semble avoir une action plus locale.

3.4.2. Partenaires présynaptiques secondaires des neurones chordotonaux

Jusqu'à 50% des synapses reçues par les neurones Griddle-1 proviennent des neurones chordotonaux, le reste provenant majoritairement de neurones Ladder et de T1 et T2 descending. Concernant leurs partenaires post-synaptiques, les neurones Griddle-1 forment des synapses avec des neurones locaux comme Ladder et Handle (Ha et Hb sur la Figure 15), mais aussi sur des neurones ascendants dont les ramifications atteignent le cerveau comme A10j et Jupiter.

De manière similaire, les neurones A19x reçoivent la plupart de leurs synapses de neurones locaux comme T1 descending, Handle, Drunken, Ladder, ainsi que des neurones chordotonaux à hauteur de 12% et ont pour partenaires post-synaptiques des neurones ascendants comme Jupiter, Recliner et A10j (Figure 30d).

Ainsi, il semble que Griddle-1 et A19x communiquent les informations rassemblées par les neurones chordotonaux et d'autres neurones locaux jusqu'au lobes cérébraux.

4. Discussion

L'analyse du comportement des larves chez qui nous avons inhibé l'expression du sNPF-R dans différentes conditions d'alimentation pendant la locomotion basale semble montrer un décalage des probabilités de bend et de crawl observées chez les larves contrôles, dans toutes les conditions d'alimentation testées (Figure 20). Cela pourrait suggérer une action constitutive du sNPF dans la stratégie exploratoire des larves. Cependant, il est important de noter qu'en utilisant des larves AttP2/UAS-TNT comme contrôle dans nos analyses, à la place de larves AttP2/UAS-sNPF-R RNAi, nous comparons le comportement de larves ayant un fond génétique légèrement différent. Ces différences dans le fond génétique des larves pourraient expliquer le décalage des probabilités observées. Il sera donc nécessaire dans le futur de corriger les problèmes expérimentaux qui nous ont empêché d'utiliser le contrôle adéquat afin de clarifier nos observations.

Nous avons montré que l'inhibition de l'expression du sNPF-R dans tous les neurones du système nerveux central des larves entraîne un changement dans la modulation de la réponse au jet d'air par rapport au contrôle. En effet, on peut observer une probabilité de hunch plus importante chez les larves SN/sNPF-R RNAi privée de protéines que chez les nourries (Figure 22). Ainsi, nous montrons que le sNPF joue un rôle dans la modulation de la décision de la réponse comportementale que les larves vont adopter à la suite de la stimulation par un jet d'air en fonction de leur condition d'alimentation (nourries ou privées de protéines).

Nos résultats de l'analyse du comportement des larves Chordotonaux/sNPF-R RNAi nous indiquent que l'action modulatrice du sNPF sur ce circuit de décision ne s'exerce pas au niveau des neurones sensoriels (Figure 27). Ce résultat suggère que la modification du comportement des larves lors de leur réponse au jet d'air n'est pas la conséquence d'une modification de leur sensibilité sensorielle au stimulus, mais plutôt d'une modulation du traitement des informations sensorielles par les neurones en aval dans le circuit.

Cette conclusion est cohérente avec les résultats obtenus à la suite de l'inhibition de l'expression du sNPF-R dans les interneurones inhibiteurs Handle-B et Griddle-2. En effet, nous avons observé une abolition complète de la modulation de la probabilité de hunch entre les conditions nourries et privées de protéines (Figure 28 et Figure 29), ce qui confirme que l'action que le sNPF exerce sur ces neurones est nécessaire à la modulation de la survenue de hunchs par l'état interne des larves. De plus, des expériences d'imagerie calcique dans les neurones Handle-B et Griddle-2, réalisées par une post-doctorante de l'équipe, ont montré que, en réponse à une stimulation mécanique, l'activité de Handle-B est faible chez des larves nourries et forte chez des larves privées de protéines ; alors que l'activité de Griddle-2 est forte chez des larves nourries et faible chez des larves privées de protéines. D'après ces résultats et nos observations selon lesquelles les larves Handle-B/sNPF-R RNAi privées de protéines se comportent comme des larves nourries et les Griddle-2/sNPF-R RNAi nourries se comportent comme des larves privées de protéines, nous pouvons supposer que le sNPF joue un rôle excitateur de Handle-B dans des conditions de privation de protéines et un rôle excitateur de Griddle-2 dans des conditions d'alimentation normale.

Les effets de modulation observés sur la probabilité de bend sont moins robustes dans ces deux génotypes (Figure 28 et Figure 29). Notre connaissance du fonctionnement du circuit de prise de décision (100) nous suggère qu'il est possible que les interneurons testés aient un effet modulateur différent sur l'activité du neurone de projection Basin-2. En effet, en réponse au jet d'air, le circuit produit deux états différents : un état dans lequel seul Basin-1 est actif, résultant en un hunch ; un deuxième état où Basin-2 est actif en plus de Basin-1, résultant en un bend. Afin de vérifier cette hypothèse, il sera possible d'enregistrer par imagerie calcique l'activité du neurone Basin-2 en réponse à une stimulation mécanique en inhibant et activant les interneurons Handle-B et Griddle-2 chacun leur tour. Une post-doctorante de l'équipe a effectué cette expérience en enregistrant l'activité du neurone Basin-2 alors que le neurone Handle-B est inhibé et a montré que l'activité de Handle-B est nécessaire à l'augmentation de l'activité de Basin-2 dans des conditions de privation de protéines, responsable de la diminution de survenue de hunchs dans cette condition.

Nos expériences de comportement montrent que l'inhibition de l'expression du sNPF-R dans Griddle-2 pousse les larves nourries à se comporter comme des larves privées de protéines, et inversement lorsque l'on inhibe l'expression du sNPF-R dans Handle-B. Des données préliminaires d'autres membres du laboratoire indiquent que l'activité de Griddle-2 est plus importante chez les larves nourries que privées de protéines, et inversement pour l'activité de Handle-2. En somme, ces données nous permettent d'émettre l'hypothèse que l'action du sNPF sur Griddle-2 diminue son activité dans des conditions nourries, alors que l'action du sNPF sur Handle-B diminue son activité dans des conditions de privation de protéines. Afin de tester cette hypothèse, des expériences d'imagerie calcique seront réalisées pour quantifier l'intensité de l'activation de Griddle-2 et Handle-B en réponse à une stimulation mécanique dans en condition d'alimentation normale ou de privation de protéines, lorsque l'expression du sNPF-R est inhibée dans ces neurones.

Cette hypothétique action opposée sur les neurones Handle-B et Griddle-2 du sNPF suivant la condition alimentaire pourrait être la conséquence d'une libération du sNPF ciblée sur chaque neurone dans chaque condition, ou alors d'une modulation de la quantité de récepteurs sNPF-R exprimés à la membrane de ces neurones suivant les conditions alimentaires. Il sera donc intéressant dans le futur d'identifier les neurones acheminant le sNPF jusqu'aux interneurons de notre circuit et de quantifier le niveau d'expression du sNPF-R dans les neurones Handle-B et Griddle-2 chez des larves nourries et privées de protéines.

L'analyse de la connectivité des neurones chordotonaux a montré qu'en moyenne 25% des synapses qu'ils reçoivent proviennent des neurones T1 et T2 descending, qui eux-mêmes reçoivent en moyenne 40% de leurs synapses depuis des neurones sensoriels AN et MN, provenant d'organes sensoriels dont certains pourraient être olfactifs. Il a été montré que ces neurones sensoriels sont impliqués dans les sensations gustatives (120–122). Cette découverte suggère que l'activité des neurones chordotonaux pourrait être fortement influencée par des signaux gustatifs intégrés par les neurones T1 et T2 descending, ou d'autres signaux sensoriels qui restent à déterminer. Il sera donc particulièrement intéressant de présenter différents échantillons de goûts à des larves, en enregistrant l'activité des neurones T1 descending, T2 descending et chordotonaux dans le but de voir caractériser une potentielle modulation de leur activité par ces modalités sensorielles.

Nous avons également révélé que les neurones chordotonaux peuvent être divisés en deux sous-groupes selon leur connectivité : les lch5 1, lch5 3, vchA, vchB et v'ch reçoivent des synapses principalement des neurones T1 et T2 descending, Drunken-1 et 4, Ladder-a et e et Ao8f, alors que les neurones lch5 2, lch5 4 et lch5 5 reçoivent la plupart de leurs synapses des neurones T2 descending et Ladder-a, b, c, d et f. Cette différence pourrait suggérer que le premier groupe de neurones chordotonaux intègre des informations d'autres modalités sensorielles, tandis que le deuxième groupe est influencé principalement par des informations venant des lobes cérébraux. Tous les chordotonaux semblent impliqués dans des feedbacks provenant de notre circuit de prise de décision par l'intermédiaire notamment des neurones Ladder. Une telle ségrégation pourrait permettre que le premier groupe réponde aux stimuli de manière complètement intégrée avec à la fois l'état du circuit de décision et des informations sur d'autres modalités sensorielles. D'un autre côté, le second groupe intégrerait moins d'information, lui permettant de rester focalisé sur les stimuli entrants, potentiellement pour prendre le dessus en cas de danger imminent.

Dans le but de donner plus de sens aux connexions anatomiques que nous avons mis en évidence, il sera nécessaire de tester leur fonctionnalité. Il est possible de le faire en activant un neurone présynaptique par stimulation optogénétique pendant que l'on enregistre l'activité de son partenaire post-synaptique en réponse à cette stimulation grâce à une technique d'imagerie calcique reposant sur l'expression de la protéine GCaMP dans le neurone étudié. Une telle expérience est aisément réalisée chez la larve de drosophile grâce à l'utilisation simultanée du système Gal4-UAS décrit précédemment et d'un second système d'expression, au fonctionnement similaire, appelé LexA/LexAop. En combinant ces techniques, il est possible d'entraîner l'expression d'un canal-rhodopsine spécifiquement dans le neurone présynaptique et la GCaMP dans le neurone post-synaptique souhaité (123).

En outre, il sera essentiel de caractériser plus précisément l'état des larves privées de protéines : en effet, ces larves sont mises en présence de sucrose à une concentration élevée, ce qui constitue un milieu très osmolaire. Nous avons montré que les larves mises dans cette condition souffrent de soif. Nous ne pouvons donc actuellement pas conclure si les résultats obtenus chez cette condition sont dus au manque d'acides aminés, à la soif, ou aux deux, ni quel est l'état interne signalé par le sNPF dans cette condition.

Enfin, il sera intéressant de compléter notre compréhension de la modulation des décisions comportementales résultant de l'action de neuropeptides sur notre circuit. Dans ce but, nous devons répéter les expériences présentées ici dans l'ensemble des neurones constituant le circuit. L'action d'autres neuropeptides que le sNPF sur ces neurones devra également être caractérisée. Ces informations sur la modulation conditionnelle de l'activité du circuit permettront de mettre à jour un modèle développé dans le passé (100), pour prendre en compte à la fois la modulation potentielle par les neurones descendants de l'activité du circuit et les événements de neuromodulation qui modulent la réponse des différents neurones le constituant en fonction de l'état interne.

Conclusion

Les résultats de ces travaux confirment la possibilité d'étudier les mécanismes moléculaire responsables de la modulation de décisions comportementales. Nous nous sommes focalisés ici sur la neuromodulation induite par des changements dans l'état de satiété. L'influence d'un tel état interne sur des comportements liés à l'alimentation est évident. En outre, la dérégulation de cette modulation peut biaiser les choix alimentaires d'un individu vers une alimentation malsaine. Ce processus pourrait être impliqué dans l'initiation et/ou le maintien de diverses pathologies métaboliques et troubles du comportement alimentaire.

Ici, nous mettons en évidence le fait que la neuromodulation induite par l'état interne de satiété influence également des décisions comportementales qui ne sont pas liées directement à la prise alimentaire. L'étude de ces mécanismes chez des modèles animaux est rendue nécessaire par la complexité à la fois des comportements humains et de notre système nerveux, ainsi que par le manque d'outils pour les étudier à ce niveau de détails. Il est probable que les mécanismes d'action des différents neuromodulateurs et les stratégies évolutives utilisées chez ces modèles animaux soient conservées chez de nombreuses espèces, dont l'Homme.

De nombreux états internes différents coexistent chez un individu à chaque instant (e.g. la faim, le sommeil, le stress, etc.). Le très grand nombre de neuropeptides identifiés au sein d'une même espèce suggère qu'il est possible que différents états internes utilisent des molécules qui leur sont propres afin de moduler l'activité de circuits. Toutefois, il est possible que des molécules soient communes à plusieurs états et que leurs effets modulateurs soient intriqués. Au niveau de neurones individuels, il est probable que de multiples molécules se fixent à leurs récepteurs en même temps, requérant une intégration de plusieurs signaux simultanément.

La cartographie de l'ensemble des états internes, de leurs neuromodulateurs et de leurs actions sur les neurones représente un véritable défi pour les chercheurs. Une compréhension fine de l'ensemble des processus mis en jeu permettrait d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques et développer de nouveaux traitements personnalisés aux déséquilibres de chaque patient pour des pathologies comme le diabète, l'obésité ou l'anorexie.

Bibliographie

1. Chládek G, Zapletal D. A free-choice intake of mineral blocks in beef cows during the grazing season and in winter. *Livest Sci.* 2007 Jan 1;106(1):41–6.
2. Dostaler S, Ouellet JP, Therrien JF, Côté SD. Are feeding preferences of white-tailed deer related to plant constituents? *J Wildl Manag.* 2011;75(4):913–8.
3. Ceacero F, Landete-Castillejos T, García AJ, Estévez JA, Martinez A, Calatayud A, et al. Free-choice mineral consumption in Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) response to diet deficiencies. *Livest Sci.* 2009 Jun 1;122(2):345–8.
4. Villalba JJ, Provenza FD, Hall JO. Learned appetites for calcium, phosphorus, and sodium in sheep^{1,2}. *J Anim Sci.* 2008 Mar 1;86(3):738–47.
5. Muñoz Fernández SS, Lima Ribeiro SM. Nutrition and Alzheimer Disease. *Clin Geriatr Med.* 2018 Nov;34(4):677–97.
6. Castronovo V. [Nutrition and cancer]. *Rev Med Liege.* 2003 Apr;58(4):231–9.
7. Mayer J. Regulation of Energy Intake and the Body Weight: The Glucostatic Theory and the Lipostatic Hypothesis. *Ann N Y Acad Sci.* 1955;63(1):15–43.
8. Human eating: Evidence for a physiological basis using a modified paradigm. *Neurosci Biobehav Rev.* 1996 Jan 1;20(1):133–7.
9. Campfield LA, Smith FJ. Transient declines in blood glucose signal meal initiation. *Int J Obes.* 1990;14 Suppl 3:15–31; discussion 31-34.
10. Woods SC, Schwartz MW, Baskin DG, Seeley RJ. Food Intake and the Regulation of Body Weight. *Annu Rev Psychol.* 2000 Feb 1;51(1):255–77.
11. Woods SC. Gastrointestinal Satiety Signals I. An overview of gastrointestinal signals that influence food intake. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol.* 2004 Jan 1;286(1):G7–13.
12. Valassi E, Scacchi M, Cavagnini F. Neuroendocrine control of food intake. *Nutr Metab Cardiovasc Dis NMCD.* 2008 Feb;18(2):158–68.
13. Simpson KA, Martin NM, Bloom SR. Hypothalamic regulation of appetite. *Expert Rev Endocrinol Metab.* 2008 Sep;3(5):577–92.
14. Meister B. Neurotransmitters in key neurons of the hypothalamus that regulate feeding behavior and body weight. *Physiol Behav.* 2007 Sep 10;92(1–2):263–71.
15. Parker JA, Bloom SR. Hypothalamic neuropeptides and the regulation of appetite. *Neuropharmacology.* 2012 Jul;63(1):18–30.
16. Woods SC, Seeley RJ, Porte D, Schwartz MW. Signals That Regulate Food Intake and Energy Homeostasis. *Science.* 1998 May 29;280(5368):1378–83.

17. Kalra SP, Dube MG, Pu S, Xu B, Horvath TL, Kalra PS. Interacting Appetite-Regulating Pathways in the Hypothalamic Regulation of Body Weight. *Endocr Rev.* 1999 Feb 1;20(1):68–100.
18. Nijenhuis WAJ, Oosterom J, Adan RAH. AgRP(83–132) Acts as an Inverse Agonist on the Human-Melanocortin-4 Receptor. *Mol Endocrinol.* 2001 Jan 1;15(1):164–71.
19. Lambert PD, Couceyro PR, McGirr KM, Vechia SED, Smith Y, Kuhar MJ. CART peptides in the central control of feeding and interactions with neuropeptide Y. *Synapse.* 1998;29(4):293–8.
20. Aja S, Sahandy S, Ladenheim EE, Schwartz GJ, Moran TH. Intracerebroventricular CART peptide reduces food intake and alters motor behavior at a hindbrain site. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol.* 2001 Dec 1;281(6):R1862–7.
21. Sailer AW, Sano H, Zeng Z, McDonald TP, Pan J, Pong SS, et al. Identification and characterization of a second melanin-concentrating hormone receptor, MCH-2R. *Proc Natl Acad Sci.* 2001 Jun 19;98(13):7564–9.
22. Blevins JE, Schwartz MW, Baskin DG. Evidence that paraventricular nucleus oxytocin neurons link hypothalamic leptin action to caudal brain stem nuclei controlling meal size. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol.* 2004 Jul 1;287(1):R87–96.
23. Nieuwenhuizen AG, Rutters F. The hypothalamic-pituitary-adrenal-axis in the regulation of energy balance. *Physiol Behav.* 2008 May 23;94(2):169–77.
24. Epstein LH, Leddy JJ. Food reinforcement. *Appetite.* 2006 Jan 1;46(1):22–5.
25. Ibáñez-Sandoval O, Tecuapetla F, Unal B, Shah F, Koós T, Tepper JM. Electrophysiological and Morphological Characteristics and Synaptic Connectivity of Tyrosine Hydroxylase-Expressing Neurons in Adult Mouse Striatum. *J Neurosci.* 2010 May 19;30(20):6999–7016.
26. Reed KK, Wickham R. Review of the Gastrointestinal Tract: From Macro to Micro. *Semin Oncol Nurs.* 2009 Feb 1;25(1):3–14.
27. Groves DA, Brown VJ. Vagal nerve stimulation: a review of its applications and potential mechanisms that mediate its clinical effects. *Neurosci Biobehav Rev.* 2005 May 1;29(3):493–500.
28. Berthoud HR, Blackshaw LA, Brookes SJH, Grundy D. Neuroanatomy of extrinsic afferents supplying the gastrointestinal tract. *Neurogastroenterol Motil.* 2004;16(s1):28–33.
29. Brookes SJH, Spencer NJ, Costa M, Zagorodnyuk VP. Extrinsic primary afferent signalling in the gut. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2013 May;10(5):286–96.
30. Moura-Assis A, Friedman JM, Velloso LA. Gut-to-brain signals in feeding control. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2021 Feb 1;320(2):E326–32.

31. Yuan H, Silberstein SD. Vagus Nerve and Vagus Nerve Stimulation, a Comprehensive Review: Part I. Headache J Head Face Pain. 2016;56(1):71–8.
32. Posovszky C, Wabitsch M. Regulation of Appetite, Satiation, and Body Weight by Enteroendocrine Cells. Part 1: Characteristics of Enteroendocrine Cells and Their Capability of Weight Regulation. Horm Res Paediatr. 2015;83(1):1–10.
33. Latorre R, Sternini C, De Giorgio R, Greenwood-Van Meerveld B. Enteroendocrine Cells: A Review of Their Role In Brain-Gut Communication. Neurogastroenterol Motil Off J Eur Gastrointest Motil Soc. 2016 May;28(5):620–30.
34. Engelstoft MS, Egerod KL, Holst B, Schwartz TW. A Gut Feeling for Obesity: 7TM Sensors on Enteroendocrine Cells. Cell Metab. 2008 Dec 6;8(6):447–9.
35. Woods SC, May-Zhang AA, Begg DP. How and Why Do Gastrointestinal Peptides Influence Food Intake? Physiol Behav. 2018 Sep 1;193(Pt B):218–22.
36. Liddle RA, Goldfine ID, Rosen MS, Taplitz RA, Williams JA. Cholecystokinin bioactivity in human plasma. Molecular forms, responses to feeding, and relationship to gallbladder contraction. J Clin Invest. 1985 Apr;75(4):1144–52.
37. Dockray GJ. Cholecystokinin. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. 2012 Feb;19(1):8–12.
38. Wren AM, Bloom SR. Gut Hormones and Appetite Control. Gastroenterology. 2007 May 1;132(6):2116–30.
39. Batterham RL, Cowley MA, Small CJ, Herzog H, Cohen MA, Dakin CL, et al. Gut hormone PYY 3-36 physiologically inhibits food intake. Nature. 2002 Aug;418(6898):650–4.
40. Larhammar D. Structural diversity of receptors for neuropeptide Y, peptide YY and pancreatic polypeptide. Regul Pept. 1996 Sep 16;65(3):165–74.
41. Abbott CR, Monteiro M, Small CJ, Sajedi A, Smith KL, Parkinson JRC, et al. The inhibitory effects of peripheral administration of peptide YY(3-36) and glucagon-like peptide-1 on food intake are attenuated by ablation of the vagal-brainstem-hypothalamic pathway. Brain Res. 2005 May 17;1044(1):127–31.
42. Batterham RL, Le Roux CW, Cohen MA, Park AJ, Ellis SM, Patterson M, et al. Pancreatic polypeptide reduces appetite and food intake in humans. J Clin Endocrinol Metab. 2003 Aug;88(8):3989–92.
43. Lutz TA, Althaus J, Rossi R, Scharrer E. Anorectic effect of amylin is not transmitted by capsaicin-sensitive nerve fibers. Am J Physiol. 1998 Jun;274(6):R1777-1782.
44. Cummings DE, Overduin J. Gastrointestinal regulation of food intake. J Clin Invest. 2007 Jan 2;117(1):13–23.
45. Potes CS, Lutz TA. Brainstem mechanisms of amylin-induced anorexia. Physiol Behav. 2010 Jul 14;100(5):511–8.

46. Hameed S, Dhillon WS, Bloom SR. Gut hormones and appetite control. *Oral Dis.* 2009;15(1):18–26.
47. Chambers AP, Sandoval DA, Seeley RJ. “Central nervous system integration of satiety signals.” *Curr Biol CB.* 2013 May 6;23(9):R379–88.
48. Tso P, Sun W, Liu M. Gastrointestinal Satiety Signals IV. Apolipoprotein A-IV. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol.* 2004 Jun 1;286(6):G885–90.
49. Toshinai K, Date Y, Murakami N, Shimada M, Mondal MS, Shimbara T, et al. Ghrelin-Induced Food Intake Is Mediated via the Orexin Pathway. *Endocrinology.* 2003 Apr 1;144(4):1506–12.
50. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature.* 2000 Apr;404(6778):661–71.
51. Mueller WM, Gregoire FM, Stanhope KL, Mobbs CV, Mizuno TM, Warden CH, et al. Evidence That Glucose Metabolism Regulates Leptin Secretion from Cultured Rat Adipocytes*. *Endocrinology.* 1998 Feb 1;139(2):551–8.
52. World Health Organization. Obesity and overweight [Internet]. 2021 [cited 2021 Jun 13]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
53. Bouchard C, Tremblay A, Després JP, Nadeau A, Lupien PJ, Thériault G, et al. The Response to Long-Term Overfeeding in Identical Twins [Internet]. <http://dx.doi.org/insb.bib.cnrs.fr/10.1056/NEJM199005243222101>. Massachusetts Medical Society; 2010 [cited 2021 Jul 21]. Available from: <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199005243222101>
54. Stunkard AJ, Sørensen TIA, Hanis C, Teasdale TW, Chakraborty R, Schull WJ, et al. An Adoption Study of Human Obesity [Internet]. <http://dx.doi.org/insb.bib.cnrs.fr/10.1056/NEJM198601233140401>. Massachusetts Medical Society; 2009 [cited 2021 Jul 21]. Available from: <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM198601233140401>
55. Pigeyre M, Yazdi FT, Kaur Y, Meyre D. Recent progress in genetics, epigenetics and metagenomics unveils the pathophysiology of human obesity. *Clin Sci Lond Engl* 1979. 2016 Jun 1;130(12):943–86.
56. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol.* 2019 May;15(5):288–98.
57. Heymsfield SB, Wadden TA. Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *N Engl J Med.* 2017 Jan 19;376(3):254–66.
58. Tchkonian T, Thomou T, Zhu Y, Karagiannides I, Pothoulakis C, Jensen MD, et al. Mechanisms and Metabolic Implications of Regional Differences among Fat Depots. *Cell Metab.* 2013 May 7;17(5):644–56.

59. Heymsfield SB, Wadden TA. Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity [Internet]. <http://dx.doi.org/insb.bib.cnrs.fr/10.1056/NEJMra1514009>. Massachusetts Medical Society; 2017 [cited 2021 Jul 4]. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1514009>
60. Hall JE, do Carmo JM, da Silva AA, Wang Z, Hall ME. Obesity-Induced Hypertension. *Circ Res*. 2015 Mar 13;116(6):991–1006.
61. Timper K, Brüning JC. Hypothalamic circuits regulating appetite and energy homeostasis: pathways to obesity. *Dis Model Mech*. 2017 Jun 1;10(6):679–89.
62. Zhang L, Bijker MS, Herzog H. The neuropeptide Y system: Pathophysiological and therapeutic implications in obesity and cancer. *Pharmacol Ther*. 2011 Jul 1;131(1):91–113.
63. Vidal. Les médicaments de l'obésité [Internet]. VIDAL. 2021 [cited 2021 Aug 15]. Available from: <https://www.vidal.fr/maladies/metabolisme-diabete/obesite/medicaments.html>
64. Martinussen C, Bojsen-Moller KN, Svane MS, Dejgaard TF, Madsbad S. Emerging drugs for the treatment of obesity. *Expert Opin Emerg Drugs*. 2017 Mar;22(1):87–99.
65. World Health Organization. Diabetes [Internet]. 2021 [cited 2021 Jun 13]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
66. DeFronzo RA. The Triumvirate: β -Cell, Muscle, Liver: A Collusion Responsible for NIDDM. *Diabetes*. 1988 Jun 1;37(6):667–87.
67. Meier JJ. The contribution of incretin hormones to the pathogenesis of type 2 diabetes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2009 Aug 1;23(4):433–41.
68. Wasilewska M, Adamiec R. Cerebral regulation of insulin secretion and the development of insulin resistance in type 2 diabetes. *Adv Clin Exp Med Off Organ Wroclaw Med Univ*. 2012 Dec;21(6):695–703.
69. Vidal. Quels sont les médicaments du diabète de type 2 ? [Internet]. VIDAL. 2021 [cited 2021 Sep 11]. Available from: <https://www.vidal.fr/maladies/metabolisme-diabete/diabete-type-2/medicaments.html>
70. Brandt SJ, Götz A, Tschöp MH, Müller TD. Gut hormone polyagonists for the treatment of type 2 diabetes. *Peptides*. 2018 Feb;100:190–201.
71. Thomas MK, Nikooinenejad A, Bray R, Cui X, Wilson J, Duffin K, et al. Dual GIP and GLP-1 Receptor Agonist Tirzepatide Improves Beta-cell Function and Insulin Sensitivity in Type 2 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2021 Jan 23;106(2):388–96.
72. National Institute of Mental Health. NIMH » Eating Disorders [Internet]. 2016 [cited 2021 Sep 12]. Available from: <https://www.nimh.nih.gov/health/topics/eating-disorders>

73. Galmiche M, Déchelotte P, Lambert G, Tavalacci MP. Prevalence of eating disorders over the 2000–2018 period: a systematic literature review. *Am J Clin Nutr.* 2019 May 1;109(5):1402–13.
74. Frank GKW, Shott ME, DeGuzman MC. The Neurobiology of Eating Disorders. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am.* 2019 Oct;28(4):629–40.
75. Bailer UF, Kaye WH. A review of neuropeptide and neuroendocrine dysregulation in anorexia and bulimia nervosa. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord.* 2003 Feb;2(1):53–9.
76. Biology NRC (US) C on RO in. The Nervous System and Behavior [Internet]. Opportunities in Biology. National Academies Press (US); 1989 [cited 2021 Sep 26]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK217810/>
77. Jänig W. Autonomic nervous system dysfunction. In 2009. p. 265–300.
78. Spead O, Poulain FE. Trans-Axonal Signaling in Neural Circuit Wiring. *Int J Mol Sci.* 2020 Jul 21;21(14).
79. Schneider-Mizell CM, Gerhard S, Longair M, Kazimiers T, Li F, Zwart MF, et al. Quantitative neuroanatomy for connectomics in *Drosophila*. Calabrese RL, editor. *eLife.* 2016 Mar 18;5:e12059.
80. White JG, Southgate E, Thomson JN, Brenner S. The structure of the nervous system of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1986 Nov 12;314(1165):1–340.
81. Bargmann CI, Marder E. From the connectome to brain function. *Nat Methods.* 2013 Jun;10(6):483–90.
82. Getting PA. Emerging principles governing the operation of neural networks. *Annu Rev Neurosci.* 1989;12:185–204.
83. Sutton AK, Krashes MJ. Integrating Hunger with Rival Motivations. *Trends Endocrinol Metab TEM.* 2020 Jul;31(7):495–507.
84. Muneoka Y, Morishita F, Furukawa Y, Matsushima O, Kobayashi M, Ohtani M, et al. Comparative Aspects of Invertebrate Neuropeptides. *Acta Biol Hung.* 2000 Feb 1;51:111–32.
85. O’Shea M, Schaffer M. Neuropeptide function: the invertebrate contribution. *Annu Rev Neurosci.* 1985;8:171–98.
86. Harris-Warrick RM, Marder E. Modulation of neural networks for behavior. *Annu Rev Neurosci.* 1991;14:39–57.
87. Nadim F, Bucher D. Neuromodulation of Neurons and Synapses. *Curr Opin Neurobiol.* 2014 Dec;0:48–56.

88. Saalfeld S, Cardona A, Hartenstein V, Tomančák P. CATMAID: collaborative annotation toolkit for massive amounts of image data. *Bioinformatics*. 2009 Aug 1;25(15):1984–6.
89. Brand AH, Perrimon N. Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes. *Dev Camb Engl*. 1993 Jun;118(2):401–15.
90. Gollisch T, Herz AVM. The iso-response method: measuring neuronal stimulus integration with closed-loop experiments. *Front Neural Circuits* [Internet]. 2012 Dec 19 [cited 2020 May 7];6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3525953/>
91. Gordus A, Pokala N, Levy S, Flavell SW, Bargmann CI. Feedback from Network States Generates Variability in a Probabilistic Olfactory Circuit. *Cell*. 2015 Apr 9;161(2):215–27.
92. Palmer CR, Kristan WB. Contextual modulation of behavioral choice. *Curr Opin Neurobiol*. 2011 Aug;21(4):520–6.
93. Custers R, Aarts H. The Unconscious Will: How the Pursuit of Goals Operates Outside of Conscious Awareness. *Science*. 2010 Jul 2;329(5987):47–50.
94. Newell BR, Shanks DR. Unconscious influences on decision making: A critical review. *Behav Brain Sci*. 2014 Feb;37(1):1–19.
95. Anderson DJ. Circuit modules linking internal states and social behaviour in flies and mice. *Nat Rev Neurosci*. 2016 18;17(11):692–704.
96. Burnett CJ, Funderburk SC, Navarrete J, Sabol A, Liang-Guallpa J, Desrochers TM, et al. Need-based prioritization of behavior. *eLife*. 2019 25;8.
97. Rodríguez M, Álvarez B, Loy I. Hunger and satiety determine foraging decisions in land snails: Evidence from the invasive species *Theba pisana*. *Behav Processes*. 2019 Jul;164:230–6.
98. Slankster E, Kollala S, Baria D, Dailey-Krempel B, Jain R, Odell SR, et al. Mechanism underlying starvation-dependent modulation of olfactory behavior in *Drosophila* larva. *Sci Rep*. 2020 Feb 20;10(1):3119.
99. Fu O, Iwai Y, Narukawa M, Ishikawa AW, Ishii KK, Murata K, et al. Hypothalamic neuronal circuits regulating hunger-induced taste modification. *Nat Commun*. 2019 08;10(1):4560.
100. Jovanic T, Schneider-Mizell CM, Shao M, Masson JB, Denisov G, Fetter RD, et al. Competitive Disinhibition Mediates Behavioral Choice and Sequences in *Drosophila*. *Cell*. 2016 Oct;167(3):858-870.e19.
101. Masson JB, Laurent F, Cardona A, Barré C, Skatchkovsky N, Zlatic M, et al. Identifying neural substrates of competitive interactions and sequence transitions during mechanosensory responses in *Drosophila*. *PLoS Genet*. 2020 Feb;16(2):e1008589.

102. Ohyama T, Jovanic T, Denisov G, Dang TC, Hoffmann D, Kerr RA, et al. High-throughput analysis of stimulus-evoked behaviors in *Drosophila* larva reveals multiple modality-specific escape strategies. *PloS One*. 2013;8(8):e71706.
103. Clark MQ, Zarin AA, Carreira-Rosario A, Doe CQ. Neural circuits driving larval locomotion in *Drosophila*. *Neural Develop* [Internet]. 2018 Apr 19 [cited 2020 May 7];13. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5907184/>
104. Nässel DR, Zandawala M. Recent advances in neuropeptide signaling in *Drosophila*, from genes to physiology and behavior. *Prog Neurobiol*. 2019;179:101607.
105. Nässel DR, Wegener C. A comparative review of short and long neuropeptide F signaling in invertebrates: Any similarities to vertebrate neuropeptide Y signaling? *Peptides*. 2011 Jun;32(6):1335–55.
106. Fadda M, Hasakiogullari I, Temmerman L, Beets I, Zels S, Schoofs L. Regulation of Feeding and Metabolism by Neuropeptide F and Short Neuropeptide F in Invertebrates. *Front Endocrinol*. 2019;10:64.
107. Feng G, Reale V, Chatwin H, Kennedy K, Venard R, Ericsson C, et al. Functional characterization of a neuropeptide F-like receptor from *Drosophila melanogaster*. *Eur J Neurosci*. 2003 Jul;18(2):227–38.
108. Comeras LB, Herzog H, Tasan RO. Neuropeptides at the crossroad of fear and hunger: a special focus on neuropeptide Y. *Ann N Y Acad Sci*. 2019;1455(1):59–80.
109. Diaz-delCastillo M, Woldbye DPD, Heegaard AM. Neuropeptide Y and its Involvement in Chronic Pain. *Neuroscience*. 2018 01;387:162–9.
110. Jakobsson JET, Ma H, Lagerström MC. Neuropeptide Y in itch regulation. *Neuropeptides*. 2019 Dec;78:101976.
111. Reichmann F, Holzer P. Neuropeptide Y: A stressful review. *Neuropeptides*. 2016 Feb;55:99–109.
112. Lee KS, You KH, Choo JK, Han YM, Yu K. *Drosophila* Short Neuropeptide F Regulates Food Intake and Body Size. *J Biol Chem*. 2004 Mar 12;279(49):50781–9.
113. Hu C, Petersen M, Hoyer N, Spitzweck B, Tenedini F, Wang D, et al. Modality-specific sensory integration and neuropeptide-mediated feedback facilitate mechanonociceptive behavior in *Drosophila*. *Nat Neurosci*. 2017 Aug;20(8):1085–95.
114. Nässel DR, Enell LE, Santos JG, Wegener C, Johard HA. A large population of diverse neurons in the *Drosophila* central nervous system expresses short neuropeptide F, suggesting multiple distributed peptide functions. *BMC Neurosci*. 2008 Sep 19;9:90.
115. Swierczek NA, Giles AC, Rankin CH, Kerr RA. High-throughput behavioral analysis in *C. elegans*. *Nat Methods*. 2011 Jun 5;8(7):592–8.

116. Ohyama T, Schneider-Mizell CM, Fetter RD, Aleman JV, Franconville R, Rivera-Alba M, et al. A multilevel multimodal circuit enhances action selection in *Drosophila*. *Nature*. 2015 Apr 30;520(7549):633–9.
117. Karlsson D, Baumgardt M, Thor S. Segment-Specific Neuronal Subtype Specification by the Integration of Anteroposterior and Temporal Cues. *PLoS Biol* [Internet]. 2010 May 11 [cited 2020 Jun 6];8(5). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2867937/>
118. Python F, Stocker RF. Adult-like complexity of the larval antennal lobe of *D. melanogaster* despite markedly low numbers of odorant receptor neurons. *J Comp Neurol*. 2002 Apr 15;445(4):374–87.
119. Komarov N, Sprecher SG. The chemosensory system of the *Drosophila* larva: an overview of current understanding. *Fly (Austin)*. 16(1):1–12.
120. Jeong YT, Oh SM, Shim J, Seo JT, Kwon JY, Moon SJ. Mechanosensory neurons control sweet sensing in *Drosophila*. *Nat Commun*. 2016 Sep 19;7(1):12872.
121. Miroshnikow A, Schlegel P, Schoofs A, Hueckesfeld S, Li F, Schneider-Mizell CM, et al. Convergence of monosynaptic and polysynaptic sensory paths onto common motor outputs in a *Drosophila* feeding connectome. *eLife*. 2018 Dec 11;7:e40247.
122. de Bruyne M, Foster K, Carlson JR. Odor Coding in the *Drosophila* Antenna. *Neuron*. 2001 May 1;30(2):537–52.
123. Simpson JH, Looger LL. Functional Imaging and Optogenetics in *Drosophila*. *Genetics*. 2018 Apr;208(4):1291–309.

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné (e)

Déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. (*Décret n°92-657 du 13 juillet 1992*)

En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature :



SIGNATURES DU DIRECTEUR DE THESE ET DU DOYEN

N° Étudiant : **21302000**

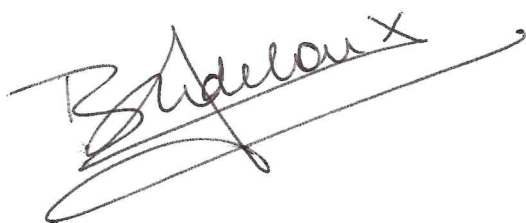
N° Thèse : **56**

Nom et Prénom : **Manceau Dylan**

Sujet : **Influence de l'alimentation sur le comportement : la larve de drosophile lève
les voiles de la neuromodulation**

Tours, le : **30/08/2022**

Le(s) Directeur(s) de Thèse :
Nom(s) et signature(s)

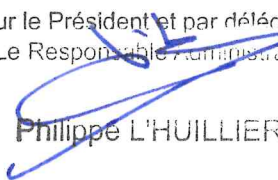


Vu et Transmis :
Le Doyen

Le directeur de la Faculté
des Sciences Pharmaceutiques

Pr Denys BRAND

Pour le Président et par délégation
Le Responsable Administration



Philippe L'HUILLIER

MANCEAU Dylan

N° 56

TITRE DE LA THÈSE

Influence de l'alimentation sur le comportement : la larve de *drosophile* lève les voiles de la neuromodulation

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

La neuromodulation modifie les propriétés des neurones, résultant en une reconfiguration de circuits neuronaux et une modulation du comportement de l'individu. Les mécanismes responsables de l'adaptation comportementale à des modifications du contexte sensoriel ou de l'état-interne au sein de circuits de neurones demeurent inconnus. Dans cette thèse, nous étudions l'importance des neuropeptides dans les comportements alimentaires, ainsi que leur intérêt présent et futur dans l'arsenal thérapeutique de différentes maladies métaboliques et troubles du comportement alimentaire. Une étude réalisée sur la larve de *Drosophile* est utilisée pour illustrer l'importance de l'alimentation dans des choix comportementaux qui ne sont pas directement liés à la prise de nourriture, ainsi que les techniques disponibles pour élucider les mécanismes de modulation de l'activité de circuits neuronaux.

MOTS-CLÉS :

Prise de décision – Circuits neuronaux – Neuropeptides – Alimentation – Larve de *Drosophile* – Neuromodulation – Maladies métaboliques – Troubles du comportement alimentaire

JURY

PRÉSIDENT : **Dumas Jean-François**, Maître de conférences - Université de Tours

MEMBRES :

Bredeloux Pierre, Docteur en Pharmacie – Faculté de Pharmacie de Tours

Hoerdt Aurélien, Docteur en Pharmacie – Wefight, Montpellier

Soutenance le 30 août 2022, Salle des Actes, Faculté de Pharmacie de Tours