



Etude de l'impact de suppléments en acides aminés dans un modèle murin d'anorexie associé à une activité physique.

Clement L'Huillier

► To cite this version:

Clement L'Huillier. Etude de l'impact de suppléments en acides aminés dans un modèle murin d'anorexie associé à une activité physique.. Médecine humaine et pathologie. Normandie Université, 2019. Français. NNT : 2019NORMR123 . tel-03494711

HAL Id: tel-03494711

<https://theses.hal.science/tel-03494711>

Submitted on 20 Dec 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Normandie Université

THÈSE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité Sciences de la Vie et de la Santé

Préparée au sein de « l'Université de Rouen Normandie »

Étude de l'impact de suppléments en acides aminés dans un modèle murin d'anorexie associé à une activité physique

**Présentée et soutenue par
Clément L'HUILLIER**

**Thèse soutenue publiquement le 19 décembre 2019
devant le jury composé de**

M. Pierre JESUS	MCUPH / CHU de Limoges	Rapporteur
M. François BLACHIER	DR INRA / INRA Unité PNCA	Rapporteur
Mme Mouna HANACHI	PH / AP-HP Paul Brousse	Examinateur
Mme Marie Astrid PIQUET	PUPH / CHU de Caen	Examinateur
M. Pierre DECHELOTTE	PUPH / INSERM UMR 1073	Examinateur
M. Moïse COEFFIER	MCUPH / INSERM UMR 1073	Directeur de thèse

Thèse dirigée par Moïse COEFFIER, laboratoire INSERM UMR 1073



*Les deux guerriers les plus puissants sont la patience et le temps.
N'oublie pas que les grandes réalisations prennent du temps
et qu'il n'y a pas de succès du jour au lendemain*

Léon Tolstoï

REMERCIEMENTS

ABRÉVIATIONS	1
AVANT-PROPOS.....	3
INTRODUCTION	5
A) Critères diagnostiques et épidémiologie de l'anorexie mentale	5
1) Le Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux.....	5
2) Épidémiologie.....	7
3) Étiologie	7
B) Neurobiologie de l'anorexie mentale.....	9
1) Régulation de l'appétit.....	9
2) Rôle des hormones gastrointestinales et pancréatiques	13
3) Implication de la sérotonine.....	15
a) Synthèse de la sérotonine	15
b) Récepteurs et transporteurs de la sérotonine	16
c) Dysfonctions des voies sérotoninergiques.....	17
4) Le système dopaminergique	18
a) Synthèse de la dopamine	18
b) Récepteurs de la dopamine.....	18
c) Intérêt de l'étude des voies dopaminergiques.....	19
5) Altérations des structures cérébrales.....	20
C) Complications somatiques de l'anorexie mentale.....	22
1) Modifications de la composition corporelle	22
2) Métabolisme osseux	22
3) Axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien (HPA)	24
a) Rappels sur le fonctionnement de l'axe HPA.....	24
b) Perturbations de l'axe HPA dans l'anorexie mentale	25
4) Impact de l'anorexie mentale sur le système immunitaire.....	26
a) Modifications des proportions des types cellulaires de l'immunité	26
b) Le TNF- α	27
c) L'IL-6.....	28
d) L'IL-1 β	28
e) Le stress oxydatif	29
f) L'adiponectine.....	29
5) Altérations hépatiques	30
6) Risques cardiovasculaires et rénaux	32
7) Atteintes de la cavité buccale et de l'œsophage.....	34
8) Troubles fonctionnels gastro-intestinaux.....	36
D) Place de l'axe intestin cerveau	38
1) Rappels sur la structure et la fonction intestinale	38
2) Implication du microbiote et de ses métabolites.....	42
E) La prise en charge nutritionnelle	45
1) La renutrition.....	45
2) Place des acides aminés : la glutamine	50
a) Rôle de la glutamine dans la prolifération des cellules intestinales	50
b) Glutamine et barrière intestinale	51
c) Inflammation	52
d) Influence de la glutamine sur le microbiote intestinal.....	53
e) Implication dans le système nerveux central.....	54
f) La glutamine : un acide aminé conditionnellement essentiel	56

g) Effets de la glutamine dans les autres pathologies intestinales	57
3) Place des acides aminés : les acides aminés branchés	58
a) Implication des acides aminés branchés dans la synthèse protéique	58
b) Inflammation et stress oxydant.....	60
c) Effet des acides aminés branchés sur les paramètres intestinaux	61
d) Métabolisme lipidique et composition corporelle	62
F) Les modèles animaux d'anorexie.....	65
1) Les modèles génétiques	65
a) Modification artificielle de l'expression génétique	65
b) Le modèle <i>anx/anx</i>	65
2) Les modèles de restriction calorique et de stress	67
3) Le modèle activity-based anorexia	70
a) Protocole et caractéristiques du modèle	70
b) Données obtenues au sein de l'unité	71
OBJECTIFS DU PROJET DE THÈSE	74
ARTICLE 1	75
.....	86
ARTICLE 2	93
DISCUSSION ET PERSPECTIVES.....	121
BIBLIOGRAPHIE	137
<u>ANNEXE 1</u> : POSTER JFN 2017	165
<u>ANNEXE 2</u> : POSTER JFN 2018	166
<u>ANNEXE 3</u> : Communications orales	167
ABSTRACT.....	169

ABRÉVIATIONS

4EBP-1 : eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein-1

5-FU : 5-fluorouracile

5-HT : 5-hydroxytryptophane (sérotonine)

ABA : activity-based anorexia

ABA-C : ABA contrôle

ABA-Rf : ABA renourri

ABA-Rf-B : ABA renourri supplémenté en acide aminés branchés

ABA-Rf-G : ABA renourri supplémenté en glutamine

AGCC : acides gras à chaîne courte

AM : anorexie mentale

Arg : arginine

ATF-4 : activating transcription factor-4

BCAA : branched-chain amino acids

BCAT : branched-chain amino acids transferase

BKCA : branched-keto amino acids

BKCD : branched-chain α -ketoacid dehydrogenase

CaM : calmoduline

CB-1 et 2 : récepteurs aux cannabinoïdes 1 et 2

CCK : cholécystokynine

CLDN: claudine

CTRL : contrôle

DMO : densité minérale osseuse

DSS : dextran sulfate sodium

GCL : glutamate-cysteine Ligase

GCLM : glutamate-Cysteine Ligase regulatory Modifier subunit

GCN-2 : general control nonderepressible 2

GDH : glutamate déshydrogénase

GIP : gastric inhibitory polypeptide / glucose-dependent insulintropic peptide

Gln : glutamine

GLP-1: glucagon-like peptide-1

GS : glutamine synthétase
GSH : glutathione
HPA : hypothalamic–pituitary–adrenal (axis) / axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien
HPT : hypothalamus
Hsp : heat shock protein
IL-1 β : interleukine-1 β
IL-6 : interleukine 6
Ile : isoleucine
IMC : indice de masse corporelle
LCR : liquide céphalo rachidien
Leu : leucine
MLC : myosin light chain
MLCK : myosin light chain kinase
MLCP : MLC phosphatase
mTOR : mammalian target of rapamycin
OCDN : occludine
p70S6K : p70S6kinase
PKC : phosphokinase C
PLC β : phospholipase C β
RTE : résistance transépithéliale
SIRT-1 : sirtuine-1
TNBS : trinitrobenzenesulfonic acid
TNF- α : tumor necrosis factor- α
TRPV-1 : transient receptor potential vanilloïde-1
TVG : temps de vidange gastrique
Val : valine
VIP : vasoactive intestinal peptide
ZO-1 : zonula occludens-1
 α -KG : α -keto glutarate

AVANT-PROPOS

En 2008, Jane Goodall publiait un livre intitulé, en français, *Nous sommes ce que nous mangeons*. En effet, l'organisme humain, comme tous les autres organismes vivants, a besoin d'apports réguliers en différents nutriments pour assurer le renouvellement des cellules qui le composent. Les aliments ingérés sont progressivement réduits en éléments plus simples et facilement assimilables par l'organisme au cours du processus complexe qu'est la digestion. En conséquence, la qualité de notre alimentation influe sur notre santé, un précepte déjà compris durant l'Antiquité avec la citation d'Hippocrate « Que ton aliment soit ta seule médecine ». Notre alimentation est également le reflet du contexte socio-économique, et scientifique, dans lequel nous vivons. En France, au sortir de la seconde Guerre Mondiale, les privations ont placé l'alimentation comme une préoccupation plus importante qu'auparavant et ont favorisé l'utilisation la plus complète des matières premières culinaires.

Au cours des années 1970 et 1980, l'alimentation a pris un tournant plus technologique avec la démocratisation du congélateur, du four micro-ondes et des plats préparés industriels, dont l'essor fut appuyé par le développement des droits des femmes à cette période. Au milieu des années 1990, la crise dite « de la vache folle », amorça une nouvelle réflexion sur la qualité de notre alimentation avec de plus grandes considérations sur le lien entre alimentation et santé. L'agriculture biologique devint de plus en plus plébiscitée même avec un prix plus élevé, la population préférant consommer moins mais mieux. D'autres scandales sanitaires vinrent s'ajouter à la liste et favorisèrent le développement de certains troubles alimentaires comme l'orthorexie, c'est-à-dire l'obsession de manger sainement. Ce faisant, il est donc possible de considérer la phrase « Nous sommes ce que nous mangeons » sous un nouvel angle, signifiant que notre façon de nous alimenter pourrait traduire notre état de santé, mental en particulier. Le début du vingt-et-unième siècle vit l'émergence de l'importance de la flore intestinale, qui fut renommée « microbiote », dans nombre de pathologies telles que l'obésité et le diabète. Parmi les études sur ce sujet, certaines ont démontré qu'il existait un lien entre altérations de l'humeur et dysbiose intestinale.

Ces observations ont donc apporté un éclairage nouveau sur l'effet de l'alimentation sur l'organisme et ont donc participé à reconsidérer les troubles du comportement difficiles à traiter efficacement comme l'obésité, et bien sûr, l'anorexie mentale.

INTRODUCTION

A) Critères diagnostiques et épidémiologie de l'anorexie mentale

1) Le Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux

En 1980, les troubles du comportement alimentaire (TCA) apparaissent pour la première fois dans la troisième édition du *Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux* ou, en anglais, *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM) (Galmiche et al. 2019), publié par l'Association Américaine de Psychiatrie (American Psychiatric Association). Depuis lors, les données apportées par les nombreuses études sur les TCA ont conduit à réviser et rééditer le DSM pour aboutir à sa cinquième édition parue en 2013, le DSM-V (American Psychiatric Association (APA) 2013). L'anorexie mentale, la boulimie et l'hyperphagie y sont décrites comme les trois principaux troubles du comportement alimentaire (formes typiques). Le DSM-V fait état d'autres troubles de l'alimentation dont les caractéristiques ne correspondent pas aux critères des TCA mais qui conduisent toutefois à des effets cliniques et psychosociaux visibles et sont regroupés sous l'appellation « autres troubles du comportement alimentaire spécifiés » ou OSFED (Others Specified Feeding or Eating Disorders). Il faut également ajouter la catégorie des TCA non spécifiés ou UFED (Unspecified Feeding or Eating disorders), la plupart du temps utilisée par le personnel médical lorsqu'un TCA potentiel est suspecté mais sans que les informations communiquées soient suffisantes pour fournir un diagnostic complet. Enfin, il existe deux autres formes de TCA : le trouble d'alimentation sélective et/ou d'évitement ou ARFID (Avoidant/Restrictive Food Intake Disorder) et le mérycisme appelé également rumination.

En ce qui concerne l'anorexie mentale, son étiologie est profondément complexe et fait intervenir des facteurs génétiques, environnementaux, culturels et familiaux, ce qui rend la prise en charge des personnes anorexiques particulièrement compliquée, nécessitant un suivi personnalisé à la fois médical et psychiatrique. Afin d'améliorer les probabilités de réussite de la prise en charge, le dépistage doit être le plus précoce possible, ce qui nécessite donc des critères diagnostiques suffisamment efficaces. Pour déterminer si une personne souffre d'anorexie mentale, le DSM-V donne trois critères diagnostiques listés ci-dessous :

- Une restriction des apports énergétiques par rapport aux besoins normaux d'après l'âge, le sexe, la courbe de croissance et l'état de santé de la personne menant à une diminution significative du poids corporel.

- Une peur intense de prendre du poids, en dépit d'une faible masse pondérale, ou un comportement récurrent interférant avec la reprise de poids.
- Une altération de la perception du corps, appelée dysmorphophobie, une faible estime de soi ou un manque de prise de conscience de la gravité de la perte de poids.

En plus de ces éléments diagnostiques, l'anorexie mentale est divisée en deux sous-types : restrictif et purgatif. La distinction entre ces deux formes se fait après une enquête comportementale sur la période des trois mois précédant le diagnostic. Si la perte de poids est induite uniquement par une restriction récurrente de l'alimentation, alors il s'agit de la forme restrictive. Au contraire, s'il y a présence d'épisodes réguliers d'hyperphagie associée à la mise en place de stratégies purgatives avec, par exemple, des vomissements volontaires ou la prise de laxatifs, la forme sera dite de type purgatif. Bien qu'ils soient proches de ceux du DSM-IV, ces critères sont toutefois assez différents pour entraîner des changements dans le diagnostic et ainsi modifier les données épidémiologiques sur l'anorexie mentale.

Lorsque l'on compare les critères diagnostiques du DSM-V par rapport à ceux du DSM-IV, nous pouvons remarquer que plusieurs aspects ont été modifiés. Tout d'abord, la notion de « refus de maintenir le poids » a disparu. C'est en effet un point important dans la considération de cette pathologie car il n'y a pas de refus réel de s'alimenter mais plutôt une incapacité à se nourrir, voire une peur (Castro, Cole, et Berridge 2015).

Dans leur revue, Moskowitz *et al.* ont résumé d'autres changements majeurs entre le DSM-IV et le DSM-V permettant d'affiner sensiblement l'établissement d'un diagnostic pour l'anorexie mentale (Moskowitz et Weiselberg 2017). Dans cette étude, ils nous indiquent que, contrairement au DSM-IV, le DSM-V ne prend plus en compte un poids corporel en dessous d'une valeur de 85% du poids idéal car la méthode de calcul de ce poids idéal n'est pas correctement définie et ne permet pas d'inclure les patients souffrant d'anorexie mentale atypique. Cette dernière définit les personnes ayant toutes les manifestations de l'anorexie mentale, telles que la peur de prendre du poids ou l'hyperactivité physique, mais sans que la perte de poids, bien qu'importante, ne soit suffisante pour les inclure dans la forme typique de la maladie. Les auteurs mentionnent également le fait que la présence d'une aménorrhée a été retirée de la liste des critères diagnostiques dans le DSM-V, et ce pour plusieurs raisons. L'utilisation de ce paramètre exclut d'office non seulement les femmes prépubères, ménopausées ou sous certains traitements contraceptifs mais également les hommes, ce qui pose un problème majeur dans le diagnostic de la maladie. Par ailleurs, toutes les femmes en

âge de procréer et souffrant d'anorexie mentale n'ont pas un arrêt de leurs menstruations. Il est également fait mention d'une étude ayant démontré qu'il n'y a aucune différence dans les symptômes de l'anorexie mentale entre des femmes anorexiques avec ou sans aménorrhée ce qui renforce le caractère très facultatif de ce paramètre.

2) Épidémiologie

Bien que les TCA semblent, d'après les études, affecter davantage les femmes que les hommes de façon générale, l'anorexie mentale se distingue par un ratio femmes / hommes de 8 : 1. En effet, la prévalence sur la vie entière est de 1,4% chez les femmes alors qu'elle n'est que de 0,2% chez les hommes (Galmiche et al. 2019). Les adolescentes et les jeunes adultes sont les plus touchées avec plus de 75% des cas d'anorexie mentale diagnostiqués avant 22 ans (Volpe et al. 2016), et un pic qui survient entre 13 et 18 ans (Weaver et Liebman 2011). Les données sur la prévalence de l'anorexie mentale dans les pays avec un mode de vie peu occidentalisé restent rares. Néanmoins, il semblerait que cette prévalence soit plus faible dans ces pays. Une étude américaine récente chez 1177 femmes atteintes de TCA et ayant des origines différentes (caucasiennes, hispaniques, afro-américaines et asiatiques) a montré que les origines ethniques n'avaient aucune influence sur la prévalence des TCA et, par conséquent, de l'anorexie mentale (Z. H. Cheng et al. 2019). Cependant, les auteurs soulignent le fait que la population étudiée des femmes caucasiennes (N=841) était nettement supérieure aux autres populations et que leur étude nécessitait donc une confirmation. Une autre étude faite par Makino *et al.*, a montré que la prévalence des TCA de façon globale était plus importante dans les pays occidentaux que dans les pays non-occidentaux avec le même déséquilibre entre femmes et hommes (Makino, Tsuboi, et Dennerstein 2004). En ce qui concerne l'anorexie mentale, cette étude donne une prévalence chez les femmes allant de 0,002% à 0,9% dans les pays non-occidentalisés contre 0,1% à 5,7% pour les pays occidentalisés. Les auteurs pointent également le fait que la prévalence des TCA augmentent dans les pays non-occidentalisés, ce qui laisse à penser que le mode de vie possède une influence non négligeable sur ces troubles.

3) Étiologie

Bien que de nombreuses études se soient intéressées à l'anorexie mentale, la compréhension de son étiologie reste toutefois assez limitée. Cependant, il est communément admis que la

pathologie est multifactorielle avec une combinaison de facteurs biologiques et psychologiques ; la principale difficulté étant de distinguer avec certitude ce qui est une cause et ce qui est une conséquence de la maladie. En effet, l'anorexie mentale se caractérise par de nombreuses comorbidités telles que l'anxiété ou la dépression qui favorisent notamment les comportements suicidaires et augmentent sensiblement la mortalité. Si l'on considère les troubles anxieux, il faut noter que dans 75% des cas, ceux-ci précèdent l'apparition de l'anorexie mentale (Godart et al. 2000). Mais ces troubles sont-ils induits par un environnement particulièrement anxiogène ou bien ces personnes ont-elles une prédisposition à ressentir plus fortement l'anxiété ? Il semble donc nécessaire d'étudier le caractère génétique de cette pathologie pour en améliorer la compréhension.

Les études les plus anciennes sur l'anorexie mentale ont mis en avant très rapidement son caractère héréditaire. Ainsi, en 1939, le Professeur John A. Ryle recommandait de s'intéresser aux antécédents familiaux lorsqu'un cas d'anorexie mentale était diagnostiqué (Ryle 1939). Afin de déterminer l'influence de l'hérédité sur l'apparition de l'anorexie mentale, de nombreuses études ont été menées chez des jumelles. En se basant sur ces études, Yilmaz *et al.* dans leur revue font état d'une héritabilité comprise entre 48% et 74%, (Yilmaz, Hardaway, et Bulik 2015). Grice *et al.* ont étudié 192 familles dans lesquelles au moins un parent avait développé une anorexie mentale ou un autre TCA associé et ont observé une implication du chromosome 4 (Grice et al. 2002). En restreignant les critères retenus à au moins deux parents atteints d'anorexie mentale de type restrictive, les auteurs ont créé un sous-groupe de 37 familles parmi les 192 initiales. Cela leur a permis de mettre en évidence un lien entre anorexie mentale restrictive et le chromosome 1. Par ailleurs, une autre étude a également montré une implication des chromosomes 12 et 13, en plus du chromosome 1, chez des personnes anorexiques ayant en commun un comportement obsessionnel avec une recherche de la maigreur (B. Devlin 2002).

Biological	Psychological	Social
Susceptibility loci (i.e., chromosomes 1, 2, and 13)	Traits (i.e., perfectionism, obsessionality, inflexibility, neuroticism, and harm avoidance)	Cultural influences
Neurotransmitter abnormalities (i.e., OPRD1 and HTR1D)	Low self-esteem	Family influences
Hormone abnormalities (i.e., cortisol and leptin)	Autonomy issues	Peer influences
Family studies (i.e., higher rates in offspring)	Maturity fears	Dieting
Twin studies (i.e., higher rates in mono vs. dizygotic twins)	Comorbid psychiatric disorders (i.e., depression, anxiety, and personality disorders)	Stressors (i.e., college, moving, bullied, abuse, and death)

Figure 1 : Influence des facteurs biologiques, psychologiques et sociaux sur la prévalence de l'anorexie mentale. D'après Moskowitz et Weiselberg 2017 : *Anorexia Nervosa/Atypical Anorexia Nervosa*.

La méthode d'étude d'association pangénomique (GWAS : Genome-Wide Association Study) a grandement facilité la recherche en génétique. Cette méthode consiste à étudier les polymorphismes nucléotidiques (SNP : Single Nucleotide Polymorphism) et à les associer à des traits phénotypiques. Une étude comparant 3 495 personnes anorexiques à 10 982 personnes saines a démontré de nouveau l'implication du chromosome 12 (Duncan et al. 2016). Les auteurs y mettent également en avant des corrélations positives entre anorexie mentale et schizophrénie, neuroticisme et un haut niveau académique. Ces anomalies des circuits neuronaux expliqueraient les comorbidités présentes chez les patients anorexiques comme les comportements suicidaires (Sansone et Levitt 2002) ou l'alexithymie (Schmelkin et al. 2017). Il semblerait également que les sous-types restrictifs et purgatifs aient des associations plus fréquentes avec certains troubles plutôt que d'autres. Ainsi le sous-type restrictif apparaît lié aux troubles de la personnalité obsessionnelle-compulsive (TPOC) alors que le sous-type purgatif semble lié en particulier avec le trouble de la personnalité limite (Sansone et Sansone 2011). En parallèle de ces découvertes, il est à noter que des anomalies dans les voies sérotoninergiques et dopaminergiques ont également été montrées chez les personnes anorexiques (Södersten et al. 2016; D. J. Haleem 2012). En plus des altérations du système nerveux central utilisant ces voies, des altérations de l'hypothalamus, dont l'un des rôles majeurs est la régulation de l'appétit, sont également observées chez les patients anorexiques.

B) Neurobiologie de l'anorexie mentale

1) Régulation de l'appétit

L'hypothalamus est une zone cérébrale impliquée dans le contrôle de différentes fonctions comme le rythme circadien, le stress ou la prise alimentaire. Afin de fournir une réponse adaptée lors de variations de ces paramètres, l'hypothalamus intègre les différents signaux en provenance de l'ensemble de l'organisme, tels que des hormones endocrines acheminées via la voie sanguine, comme dans le cas du contrôle de la prise alimentaire. Celle-ci est régulée dans l'hypothalamus en fonction de la balance entre signaux orexigènes et anorexigènes (Abdalla 2017). Le tractus intestinal et les organes ou tissus associés, tels que le pancréas et le tissu adipeux, sécrètent différents peptides et hormones qui agissent sur l'hypothalamus et dont les taux varient entre les phases à jeun, la prise d'un repas et la période post-prandiale.

La ghréline est une hormone orexigène produite par les cellules du fundus de l'estomac à partir de la proghréline activée par acylation via la ghrelin-O-acyl transferase (GOAT). Après

libération dans le sang, la ghréline passe la BHE et va se fixer sur le récepteur GHSR-1a (Growth Hormone Secretagogues Receptor-1a) entraînant la libération de GH. La GH favorise la sécrétion de l'IGF-1 (Insulin Growth Factor-1) dont l'une des actions est la croissance et la minéralisation des os longs. Le tissu osseux étant affecté par l'anorexie mentale, la ghréline est un objet d'étude particulièrement important. Elle se fixe également sur ce récepteur présent à la surface des neurones à NPY (Neuropeptide Y) et AgRP (Agouti Related Protein) du noyau arqué de l'hypothalamus. Cette fixation active la voie CaM/AMPK dans ces neurones entraînant la libération de NPY et de GABA (Gamma Amino Butyric Acid). Le NPY a pour effet d'activer des neurones responsables de la sensation de faim dans le noyau paraventriculaire (PVN). En parallèle, les neurones à NPY/AgRP libèrent du GABA pour inhiber les neurones à POMC (Pro-opiomélanocortine) responsables de la sensation de satiété. Il existe un précurseur de la proghréline appelé préproghréline. Ce peptide est clivé en deux pour donner la proghréline d'un côté et l'obestatine de l'autre. Contrairement à la ghréline, l'obestatine aurait une action anorexigène et se fixerait sur le récepteur Grp39 (Gourcerol, St-Pierre, et Taché 2007) mais ces données sont controversées. La désacyl-ghréline, une autre forme de la ghréline, est considérée actuellement comme une forme inactive de la ghréline mais de nouvelles études laissent entendre qu'il pourrait s'agir d'une forme anorexigénique de la ghréline bien qu'elle ne se fixe pas sur le récepteur GHSR-1a (Schalla et Stengel 2019). D'autres études sont toutefois nécessaires afin de confirmer ou d'infirmer ces nouvelles observations.

Contrairement à la ghréline, la leptine est une hormone satiétogène synthétisée principalement par les adipocytes du tissu adipeux blanc. Elle possède des récepteurs à la surface des neurones à POMC situés dans le noyau arqué de l'hypothalamus. Sa fixation sur ces récepteurs entraîne une libération de POMC qui est clivée en différents peptides tels que l' α -MSH (α -Melanocyte Stimulating Hormone). L' α -MSH se fixe ensuite sur les récepteurs MC4R (Melanocortin 4 Receptor) dans le PVN, induisant la sensation de satiété. Au-delà de son rôle sur la prise alimentaire, la POMC serait impliquée dans les troubles anxieux via la voie dopaminergique. Des souris soumises à un stress chronique ont une hyperactivité des neurones à POMC du noyau arqué dont les projections dans l'aire tegmentaire ventrale inhibent les voies dopaminergiques. La suppression de l'activité des neurones à POMC chez ces souris stressées conduit à une amélioration des troubles anxieux et de l'activité hédonique (Qu et al. 2019).

À l'instar de la leptine, la cholécystokinine (CCK) est un peptide anorexigène. Sa synthèse est assurée par les entérocytes du duodénum et du jéjunum. En plus de diminuer l'appétit, la CCK

favorise la libération des sécrétions pancréatiques dans le duodénum lors de la prise d'un repas. Comme nous l'avons précisé antérieurement, l'hypothalamus régule la prise alimentaire en intégrant les signaux orexigènes et anorexigènes, ce qui sous-entend qu'il existe des seuils de concentrations plasmatiques à franchir pour que les différentes hormones aient un effet. Cependant, il est intéressant de noter que la co-injection de leptine et de CCK, chez des rats, à des taux inférieurs à leurs seuils d'efficacité respectifs, conduit à une forte diminution de la prise alimentaire via une baisse de la phosphorylation de l'AMPK et une augmentation de la synthèse de CART et de TRH dans l'hypothalamus. Or, cet effet synergique est aboli par la section du tronc cérébral ce qui implique que la médiation se fait par des voies neurologiques spécifiques entre le tronc cérébral et l'hypothalamus mais pas par voie sanguine (Akieda-Asai, Poleni, et Date 2014).

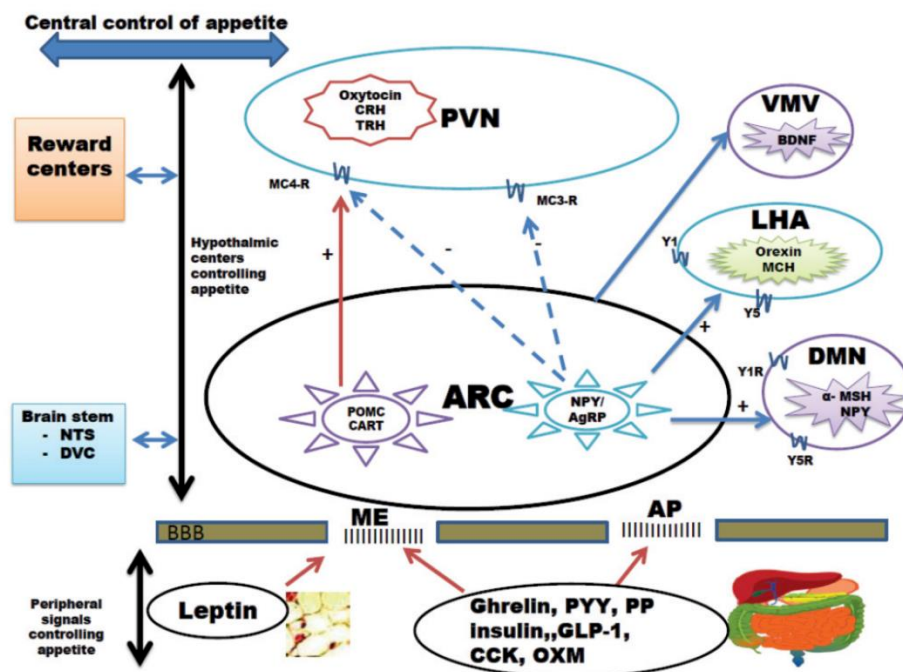


Figure 2 : Régulation hypothalamique de la prise alimentaire.

D'après Abdalla 2017 : *Central and peripheral control of food intake.*

Il existe un groupe d'hormones intestinales appelées incrétines et qui comprend le glucagon-like peptide-1 (GLP-1) et le peptide insulino-trope dépendant du glucose ou gastric inhibitory peptide (GIP). Le GLP-1 est une entéro-hormone anorexigène dont la sécrétion par les cellules L de l'iléon et du colon est activée après le passage du chyle. Cette hormone est issue du clivage du proglucagon par la prohormone convertase 1/3 (PC1/3). Le GLP-1 a pour rôle principal de stimuler la sécrétion d'insuline par le pancréas mais il possède d'autres effets tels que l'augmentation de la dépense énergétique et de la lipolyse ainsi que la diminution de la sécrétion

acide de l'estomac et de la motilité intestinale (Sekar et al. 2016). Le résultat de ses différentes actions favorisant la sensation de satiété, il s'agit donc d'une hormone anorexigène.

Le GIP est, quant à lui, sécrété par les cellules K du duodénum et a lui aussi un rôle satiétogène. Les récepteurs au GIP (GIPR) sont localisés dans différents organes et tissus, comme les cellules α et β des îlots de Langerhans, les adipocytes du tissu adipeux brun interscapulaire et du tissu adipeux blanc inguinal, mais également dans les noyaux hypothalamiques impliqués dans le contrôle de la prise alimentaire (noyau arqué, noyau paraventriculaire et noyau hypothalamique dorsomédian). Il a récemment été montré que, chez la souris, l'activation des cellules GIPR positives entraîne une diminution drastique de la prise alimentaire similaire à l'anorexie (Adriaenssens et al. 2019). Il est à noter également que l'action principale du GIP est de favoriser la sécrétion d'insuline. Les neurones à NPY situés dans le noyau arqué de l'hypothalamus possèdent des récepteurs à l'insuline (IR) qui agissent sur la régulation de la prise alimentaire. La suppression de ces récepteurs chez la souris conduit à une augmentation du poids corporel en faveur de la masse grasse en raison d'une baisse de la dépense énergétique et d'une prise alimentaire plus élevée consécutive à une synthèse d'ARNm codant pour NPY plus importante (Loh et al. 2017).

Le NPY possède divers récepteurs qui vont permettre la transmission de son signal orexigène. Cependant, d'autres peptides sont également capables de se fixer sur certains récepteurs au NPY. C'est notamment le cas du peptide YY (PYY), une hormone anorexigène composée de 36 acides aminés et sécrétée par les cellules L situées dans l'iléon et le colon. De façon plus précise, le terme PYY désigne en réalité les différentes formes de cette hormone, dont les plus courantes sont le PYY₁₋₃₆ et PYY₃₋₃₆. La forme circulante PYY₃₋₃₆ est la plus abondante et peut se fixer sur le récepteur Y2 du NPY. Il s'agit d'un récepteur pré-synaptique très présent dans le noyau arqué et dont le rôle est d'inhiber l'effet du NPY en diminuant la synthèse d'ARNm codant pour ce dernier. De plus, la fixation de PYY₃₋₃₆ sur le récepteur Y2 entraîne une activation des neurones à POMC (Batterham et al. 2002).

Le NPY est également impliqué dans la conduction du signal d'une autre hormone, la somatostatine. Celle-ci est sécrétée par l'hypothalamus et certaines cellules stomacales, intestinales et pancréatiques (cellules D). La somatostatine inhibe la sécrétion d'hormones gastro-intestinales (VIP, GIP, gastrine, entéroglucagon, CCK), pancréatiques (insuline et glucagon), la sécrétion acide de l'estomac (voie paracrine) et diminue la vitesse de vidange gastrique. Il existe différents récepteurs à la somatostatine dans le cerveau dont certains sont situés dans différentes zones de l'hypothalamus. La fixation de la somatostatine sur ses

récepteurs cérébraux est à l'origine d'un signal orexigène. L'ODT8-STT est un agoniste des récepteurs à la somatostatine et son injection intra-cérébro-ventriculaire entraîne une augmentation de la prise alimentaire chez la souris et le rat. En revanche, l'utilisation d'un antagoniste du récepteur au NPY Y1 ou du récepteur à l'orexine OX-1 inhibe l'effet orexigène de l'ODT8-SST ce qui démontre que la somatostatine agit en amont des neurones à NPY (Stengel et Taché 2019).

Les études sur la régulation de l'appétit chez les personnes anorexiques ont montré qu'il existe de nombreuses altérations pour la sécrétion et la régulation des différentes hormones citées précédemment. Afin de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu dans la régulation de l'appétit dans le cadre de l'anorexie mentale, nous allons expliciter ces modifications.

2) Rôle des hormones gastrointestinales et pancréatiques

En raison de son effet orexigène, la ghréline a naturellement été au centre de nombreuses études. Afin de bien comprendre le rôle de la ghréline dans l'anorexie mentale, il est important de préciser que son taux varie entre les deux sous-types de la pathologie. Tanaka *et al.* ont observé que plus l'IMC est faible, plus le taux plasmatique de ghréline est élevé mais que cette élévation est plus importante chez les patients avec la forme purgative que chez ceux avec la forme restrictive (Tanaka et al. 2003). Les personnes atteintes d'une cachexie secondaire à un cancer ont un taux plus élevé de ghréline dans le plasma que des personnes saines mais moins que des patients anorexiques (Blauwhoff-Buskermolen et al. 2017). La prise orale de 100 grammes de glucose n'entraîne pas de baisse significative de la ghréline chez les patients ni de la GH (Misra et al. 2004) ce qui pourrait s'expliquer par un phénomène de résistance à la ghréline des récepteurs GHSR-1a dans la zone hypothalamique en raison d'une hyperghrélinémie prolongée. La voie de la ghréline semble donc être une piste intéressante pour le traitement de l'anorexie mentale.

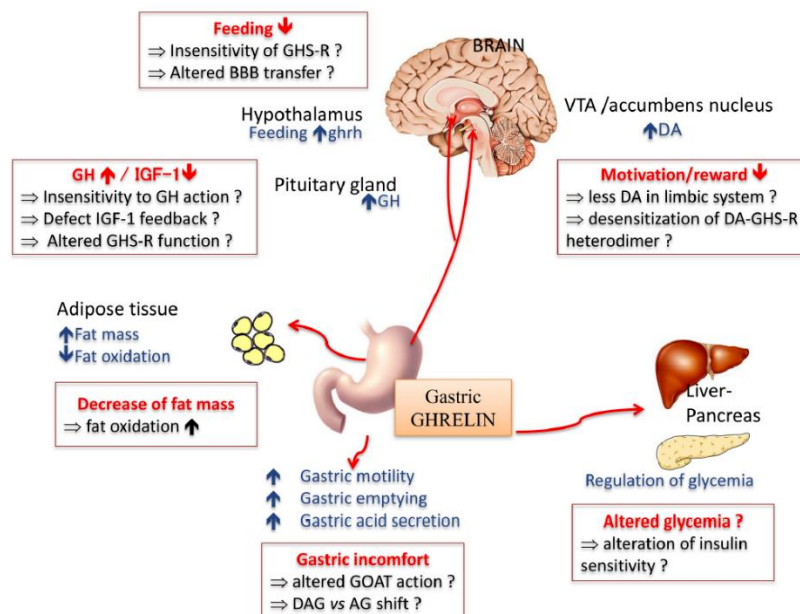


Figure 3 : Implications de la ghréline dans l'anorexie mentale.

D'après Gorwood et al 2016 : *New Insights in Anorexia Nervosa*.

Le pancréas assure un rôle dans le contrôle de la glycémie en sécrétant une hormone hypoglycémiante, l'insuline, et une hormone hyperglycémiante, le glucagon. L'insulinémie est diminuée chez les personnes anorexiques même après ingestion de glucose mais les tests de résistance à l'insuline montrent que la sensibilité à l'insuline est augmentée chez ces mêmes patients (Dostálová et al. 2007; Takeno et al. 1990). La sécrétion d'insuline est également favorisée par le GLP-1. Il est intéressant de noter que le taux de GLP-1 est plus élevé chez les patients anorexiques que chez les personnes avec une maigreur constitutionnelle, ce qui indiquerait une modification spécifique du GLP-1 dans l'anorexie mentale indépendamment de l'IMC (Germain et al. 2007). Cependant, à l'instar des personnes obèses, le taux post-prandial de GLP-1 des patients anorexiques est diminué en comparaison d'individus sains (Tomasik, Sztefko, et Starzyk 2004).

En ce qui concerne le PYY, les observations cliniques sont parfois contradictoires. Singhal *et al.* ont rapporté que le taux de PYY était augmenté dans le cadre de l'anorexie mentale et ne serait pas un effet adaptatif comme pour les autres peptides gastrointestinaux. Ce taux élevé a également pour effet de favoriser la diminution de la densité minérale-osseuse via l'inhibition de la synthèse de l'hormone de croissance dans l'hypothalamus (Singhal, Misra, et Klibanski 2014; Misra et al. 2006). D'autres travaux font état de taux en PYY équivalents entre personnes saines et patients anorexiques, alors que ce taux est plus élevé chez des personnes avec une maigreur constitutionnelle (Germain et al. 2007). Toutefois, dans ce dernier cas, aucune précision n'est apportée quant au type d'anorexie des patientes observées. Il s'avère qu'il existe

des différences de taux en PYY entre la forme restrictive et la forme purgative. Comparé à l'anorexie purgative, les taux en PYY₃₋₃₆ sont plus élevés chez les personnes atteintes d'anorexie restrictive (Eddy et al. 2015). Dans le cas de l'anorexie restrictive, l'élévation de PYY est associée à une augmentation des taux en ghréline, de la sensation de ballonnement et de l'anxiété, surtout après la prise d'un repas (Heruc et al. 2018). La somatostatine est une hormone dont l'action est inhibitrice pour la sécrétion des peptides intestinaux, comme PYY. Son taux est diminué chez les personnes anorexiques ce qui entraîne une hausse de la sécrétion du VIP (Baranowska et al. 2000). Cependant, l'administration de somatostatine à des personnes anorexiques ne diminue pas les taux de PYY ce qui sous-entendrait une hyposensibilité à la somatostatine des cellules L (Rigamonti et al. 2011).

Avec les études de plus en plus poussées sur les altérations des voies impliquées dans la régulation de l'appétit chez les personnes anorexiques, notre compréhension de cet aspect de la pathologie se développe mais reste relativement incomplet en raison de la complexité de ces voies neuronales, intriquées avec les voies impliquées dans les troubles anxiodépressifs. C'est pourquoi les voies sérotoninergiques et dopaminergiques, impliquées dans la régulation de l'humeur et de la récompense, sont fortement étudiées dans le cadre de l'anorexie mentale.

3) Implication de la sérotonine

Comme décrit précédemment, les troubles anxieux sont particulièrement répandus chez les personnes anorexiques. La sérotonine, ou 5-hydroxytryptamine (5-HT), est un neuropeptide dont les rôles sont multiples et variés mais elle est particulièrement connue pour son implication non seulement dans la régulation de l'humeur mais également de l'appétit et de l'activité physique (D. J. Haleem 2012) ce qui en fait un objet d'étude particulièrement intéressant dans le cadre de l'anorexie mentale.

a) Synthèse de la sérotonine

La synthèse de la sérotonine se fait par une succession de réactions enzymatiques et dont le précurseur est le tryptophane (Trp), un acide aminé essentiel (EAA) avec une charge neutre ce qui le classe dans la catégorie des LNAA (Large Neutral Amino Acids) et son apport se fait uniquement par l'alimentation. Une fois le Trp absorbé par l'organisme, il sera transporté au travers de la barrière hémato-encéphalique (BHE) via des transporteurs non sélectifs et

spécifiques aux LNAA. Ce transport se fait de manière facilitée et saturable, mais surtout ce système met en compétition tous les LNAA. Ainsi, il a été démontré qu'une injection de valine (Val), un autre LNAA, induit une diminution de la disponibilité en Trp dans le cerveau (Kennett et Joseph 1981). Une fois la BHE franchie, le Trp est hydroxylé en 5-hydroxytryptophane (5-HTP) par l'enzyme tryptophane hydroxylase, uniquement présente dans les neurones des voies sérotoninergiques (D. J. Haleem 2017). Le 5-HTP est ensuite décarboxylé en 5-HT par l'enzyme L-aromatic amino acid decarboxylase. La sérotonine est ensuite stockée dans des vésicules spécifiques localisées dans la région pré-synaptique du neurone près de la membrane cellulaire afin de pouvoir être relarguées rapidement. La dégradation de la sérotonine s'effectue par la monoamine oxydase (MAO) qui la transforme en acide acétique 5-hydroxyindole (5-HIAA). L'injection de tryptophane exogène est suivie d'une augmentation du taux de sérotonine mais également de 5-HIAA (J. Haleem, Jabeen, et Parveen 1998), ce qui implique un rôle de régulation de la MAO sur les taux cérébraux de sérotonine. Ce mécanisme, en plus du fait que 90% du Trp est métabolisé en kynurénine (Moroni 1999), expliquerait pourquoi une augmentation du taux de sérotonine dans le cerveau, après une injection de Trp, n'est pas obligatoirement suivie par une augmentation des fonctions de la sérotonine (Kulikov et Popova 2015).

b) Récepteurs et transporteurs de la sérotonine

Une fois relarguée dans la fente synaptique, la sérotonine va pouvoir se fixer sur plusieurs types de récepteurs notés de 5-HT-1 à 5-HT-6. Les récepteurs de type 5-HT-3 sont des récepteurs ionotropes permettant la dépolarisation de la membrane post-synaptique par influx calcique avec la création d'un potentiel d'action post-synaptique excitateur (PPSE). Tous les autres récepteurs à la sérotonine sont des récepteurs transmembranaires couplés aux protéines G. Les récepteurs à la sérotonine sont retrouvés dans une grande partie du cerveau, ce qui explique son implication dans de nombreuses fonctions cérébrales.

En plus des récepteurs, il existe des transporteurs de la sérotonine appelés SERT (ou 5-HTT). Leur rôle est de recapturer la sérotonine présente dans la fente synaptique afin de la séquestrer de nouveau dans sa zone de stockage dans le neurone pré-synaptique (D. J. Haleem 2012). Ce mécanisme a pour but d'éviter une action trop prolongée de la sérotonine ainsi que de l'économiser pour limiter les besoins d'une trop grande synthèse *de novo* en raison du caractère essentiel du Trp. En raison de la grande diversité des récepteurs à la sérotonine et de leur

présence dans la plupart des régions cérébrales, une régulation fine de son action est nécessaire afin d'éviter les altérations des fonctions dans lesquelles elle est impliquée.

c) Dysfonctions des voies sérotoninergiques

Chez des patientes anorexiques, une association entre la pathologie et des variations polymorphiques du gène codant pour le récepteur 5-HT-2A a été observée (Kiezebrink et al. 2010). Par ailleurs, il a également été montré chez des adolescentes qu'il existe une association entre le polymorphisme du gène codant le récepteur 5-HT-2C et la perte de poids (Westberg 2002). La fenfluramine est un agoniste des récepteurs 5-HT-2B et 5-HT-2C qui, lorsqu'elle est injectée à des souris, induit une hypophagie. Cet effet est nettement réduit chez des souris dont les gènes codant pour les récepteurs 5-HT-2B et 5-HT-2C ont été délétés (Lee et al. 2004; Lucas et al. 1998).

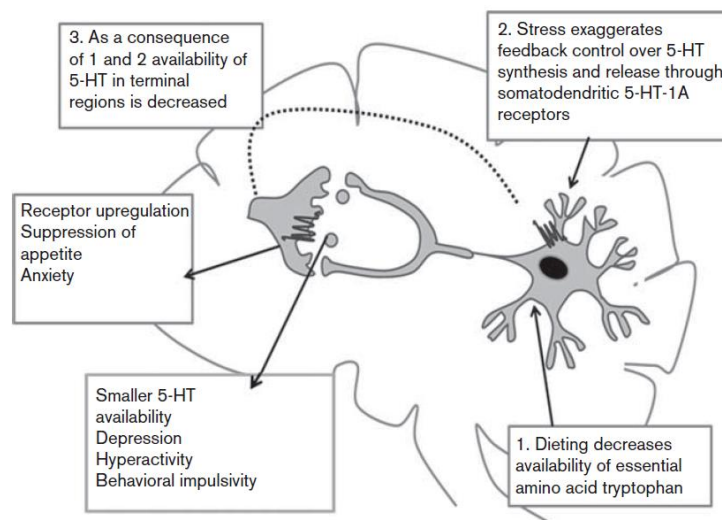


Figure 4 : Altérations des voies sérotoninergiques dans l'anorexie mentale.

D'après Haleem 2012 : *Serotonin neurotransmission in anorexia nervosa*.

La sérotonine semble donc avoir un effet anorexigène. Le récepteur 5-HT-1A est également particulièrement étudié car cette variante est très présente dans les régions cérébrales où se terminent les neurones sérotoninergiques, régions qui contrôlent notamment l'anxiété (File, Kenny, et Cheeta 2000) et l'hyperactivité (Shireen et al. 2002). En effet, les agonistes du récepteur 5-HT-1A sont capables d'annuler l'action d'antagonistes des récepteurs à la dopamine ainsi que d'induire une libération de dopamine (D. J. Haleem 2012). L'effet de la sérotonine sur l'activité physique implique donc les voies dopaminergiques.

4) Le système dopaminergique

À l'instar de la sérotonine, la dopamine a été largement étudiée dans le cadre de l'anorexie mentale en raison de son lien avec la prise alimentaire, le contrôle de l'activité physique ou encore la perception du corps. Il est également intéressant de noter que, contrairement à la sérotonine, les connaissances sur le fonctionnement de la dopamine sont bien maîtrisées et ses modèles expérimentaux sont très fiables, ce qui facilite grandement son étude (Frank 2014).

a) Synthèse de la dopamine

La tyrosine circulante est captée par les neurones dopaminergiques afin de la transformer en L-DOPA grâce à l'action de la tyrosine hydroxylase (TH). La L-DOPA est ensuite convertie en dopamine par l'enzyme DOPA décarboxylase. Une fois produite, la dopamine, comme la sérotonine, est transportée dans des vésicules via les transporteurs VMAT-2 (Vesicle Monoamine Transporter-2) qui sont situés à proximité de la membrane cellulaire de la terminaison axonale du neurone pré-synaptique (Björklund et Dunnett 2007). Une fois relarguée dans la fente synaptique, la dopamine est dégradée soit dans l'espace extracellulaire par la catecholamine O-méthyltransferase (COMT) pour donner l'acide homovanillique (HVA), soit dans les mitochondries du neurone pré-synaptique par la MAO pour donner de l'acide dihydroxyphénylacétique (DOPAC). Ces composés peuvent être dosés dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) afin de servir de biomarqueurs de l'activité dopaminergique (Kontis et Theochari 2012).

b) Récepteurs de la dopamine

Il existe deux catégories de récepteurs à la dopamine : les récepteurs de type D1 (D1 et D5) et les récepteurs de type D2 (D2, D3, D4). Il s'agit de récepteurs transmembranaires couplés à des protéines G. Les récepteurs de type D1 sont retrouvés exclusivement sur la membrane post-synaptique et activent l'AMPC, alors que les récepteurs de type D2 sont présents à la fois sur la membrane pré-synaptique et post-synaptique et inhibent l'AMPC (Beaulieu et Gainetdinov 2011). Des autorécepteurs sont également présents sur la membrane des neurones dopaminergiques afin d'exercer un rétrocontrôle négatif sur leur activité (Missale et al. 1998).

c) Intérêt de l'étude des voies dopaminergiques

Parmi ses différentes fonctions, la dopamine est impliquée dans le fonctionnement du système de la récompense (Castro, Cole, et Berridge 2015) et de l'apprentissage (Lao-Kaim et al. 2015).

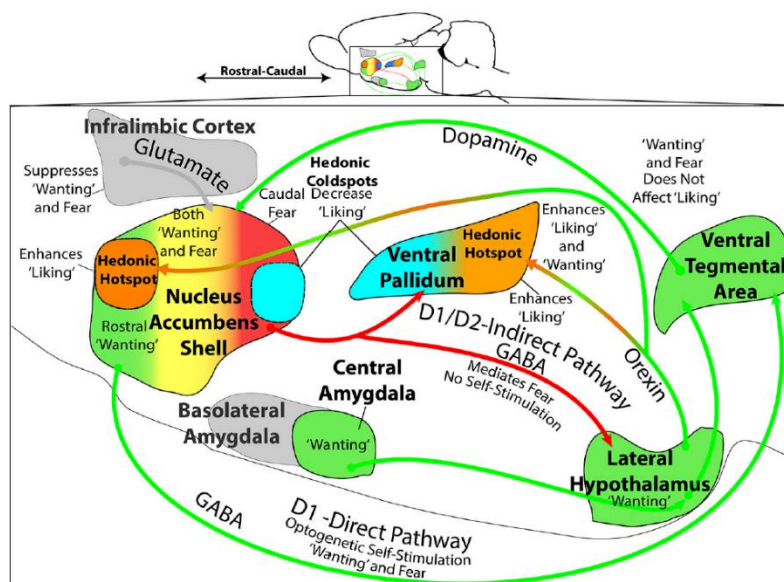


Figure 5 : Implication de la dopamine dans l'anorexie mentale.

D'après Castro et al. 2012 : *Lateral hypothalamus, nucleus accumbens, and ventral pallidum roles in eating and hunger: interactions between homeostatic and reward circuitry.*

Les études récentes sur la neurobiologie de l'anorexie mentale font état d'une peur de prendre du poids mais aussi d'un plaisir de perdre du poids, ce qui semblerait être en accord avec l'observation, chez des patientes anorexiques, d'une plus forte activation du circuit de l'apprentissage par punition (Bernardoni et al. 2018). Dans leur revue, Sibley *et al.* font état du rôle important du récepteur D2 dans le circuit de la récompense et dans celui de la locomotion (Missale et al. 1998; Sibley 1999). Ces deux fonctions sont gérées par le striatum. Il existe de nombreuses études qui se sont intéressées au rôle D2 dans le cadre de l'anorexie mentale. Chez des patientes atteintes d'anorexie, l'utilisation d'un agoniste partiel du récepteur D2, l'aripiprazole, a permis d'obtenir une augmentation de l'indice de masse corporelle (IMC) (Frank et al. 2017). Par ailleurs, une étude chinoise a montré un lien entre anorexie mentale et des variations génétiques des gènes codant pour le récepteur D2 et l'enzyme COMT (Peng et al. 2016). Cependant, d'autres travaux n'ont pas réussi à mettre en avant l'existence d'un lien entre le récepteur D2 et l'anorexie mentale (Broft et al. 2015). Ces données contradictoires démontrent que l'implication des voies dopaminergiques dans l'anorexie mentale est particulièrement complexe et fait intervenir d'autres acteurs en parallèle. À titre d'exemple, la formation dans l'hypothalamus d'hétérodimères entre le récepteur à la ghréline GHSR-1a et le

récepteur à la dopamine D2 semble jouer un rôle majeur dans l'effet anorexigénique du récepteur D2 (Kern et al. 2012). Des dysfonctions des neurotransmetteurs, ou de leurs récepteurs, impliqués dans les voies neuronales contrôlant l'appétit, l'activité physique, l'apprentissage ou encore l'humeur, ont donc été décrites au cours de l'anorexie mentale. L'utilisation de la neuro-imagerie a également permis de mettre en avant l'existence d'altérations structurelles du cerveau chez des personnes anorexiques.

5) Altérations des structures cérébrales

Évoquer les altérations des circuits neuronaux uniquement au travers du prisme des régulations des voies sérotoninergiques et dopaminergiques chez les patients anorexiques est particulièrement réducteur. La neurobiologie de l'anorexie mentale est bien plus complexe et ne peut se limiter à l'étude de deux neurotransmetteurs. De plus, les altérations biochimiques ne sont pas les seules anomalies détectées dans le cerveau des personnes atteintes d'anorexie mentale. En effet, il existe en parallèle des modifications anormales des structures cérébrales au sens physique du terme.

L'imagerie par résonnance magnétique fonctionnelle (fMRI) est une technique qui permet de mesurer, à l'état de repos, l'activité de neurones spécifiques en réponse à un stimulus activateur des voies impliquant ces derniers. Cette technique a été utilisée par Geisler *et al.* sur des patientes anorexiques, ce qui a permis d'observer une augmentation du temps de trajet de l'information et une assortativité plus importante dans les réseaux fonctionnels en association avec une diminution de la force du signal dans le cortex insulaire et le thalamus (Geisler et al. 2016). Les auteurs émettent l'hypothèse que ces anomalies pourraient jouer un rôle important dans les troubles de la perception du corps et de la faim chez les personnes anorexiques. Une autre étude utilisant la même technique a démontré qu'il existe une diminution du volume de la matière grise et de l'épaisseur cortical dans le réseau du gyrus singulaire avec une corrélation négative entre ces modifications et la sévérité de la pathologie (Bär et al. 2015). La perte globale de matière grise chez les patientes anorexiques est d'environ 1% mais atteint 5% dans le cortex singulaire et persiste sur le long terme, même après récupération et normalisation des autres paramètres (Mühlau et al. 2007; Martin Monzon et al. 2017). Une diminution du volume de l'hippocampe a également été trouvée chez des femmes anorexiques en lien avec une augmentation du stress (Burkert et al. 2015).

Cependant, le cerveau ne fonctionne pas uniquement avec des connexions entre différentes zones d'un même lobe, il existe de multiples réseaux permettant la communication entre des zones cérébrales éloignées. Ces réseaux, appelés réseaux profonds, sont également altérés par l'anorexie mentale. Gaudio *et al.* ont utilisé la fMRI chez des adolescentes anorexiques et ont démontré qu'il existait une diminution de la connectivité de ces réseaux profonds entre différents noyaux des régions occipitales, pariétales et frontales (Gaudio et al. 2018). Les auteurs soulignent que les zones affectées sont impliquées dans la perception et l'intégration des signaux somato-sensoriels, homéostatiques et émotionnels, qui sont connus pour être perturbés chez les personnes anorexiques.

Comme nous l'avons vu précédemment, l'utilisation du GWAS a permis d'identifier différents variants de gènes potentiellement impliqués dans l'anorexie mentale. Une étude très récente a utilisé ces données afin d'établir des scores de risques polygéniques (PGS) chez des femmes et des hommes anorexiques (n=380) reflétant leur charge génétique pour la pathologie (Leehr et al. 2019). Les auteurs ont démontré l'existence d'une corrélation négative entre IMC et PGS chez les femmes et une interaction significative entre le sexe et le PGS et la surface de certaines aires cérébrales du lobe frontal. Ils en ont conclu qu'il existe donc un lien entre la charge polygénique pour l'anorexie mentale et l'IMC de façon sexe-dépendante dans une région du cerveau impliquée dans les troubles du comportement fréquemment retrouvés dans cette pathologie. Cette étude permettrait également d'expliquer, en partie, la profonde différence de prévalence entre femmes et hommes.

Loin d'être exhaustives, les altérations biochimiques, génétiques, fonctionnelles et structurales du cerveau chez les personnes atteintes d'anorexie mentale décrites ci-dessus, témoignent de la complexité de cette maladie. En effet, il est difficile de faire la part entre les influences des différents paramètres et déterminer si ceux-ci sont à l'origine de la pathologie ou une conséquence de celle-ci. La restriction drastique de la prise alimentaire seule peut altérer la biochimie du cerveau, par manque de substrat, ou sa structure (McCormick et al. 2008) et entraîner ainsi la mise en place d'un cercle vicieux permettant à la pathologie de devenir chronique. Bien que nombreuses, les études sur les perturbations neurologiques dans l'anorexie mentale ne permettent pas, actuellement, de pouvoir traiter la pathologie de façon efficace par une médication intervenant sur les voies abordées précédemment. La mortalité élevée retrouvée chez les personnes anorexiques réside pour une bonne part dans les comorbidités psychiatriques qui l'accompagnent mais il ne faut pas négliger les conséquences physiopathologiques

importantes affectant l'organisme dans son ensemble et qui, à terme, s'avèrent tout aussi délétères.

C) Complications somatiques de l'anorexie mentale

1) Modifications de la composition corporelle

La sévérité de la restriction alimentaire chez les personnes atteintes d'anorexie a pour première conséquence une modification importante de la composition corporelle avec une perte de masse grasse et de masse maigre. Toutefois, ces modifications ne sont pas uniformes entre les différentes parties du corps et peuvent également varier en fonction de l'âge de la personne. En effet, les adolescentes perdent principalement de la masse grasse dans la région abdominale alors que les femmes adultes ont une diminution plus marquée de la masse grasse périphérique (Marwan El Ghoch et al. 2014). Par ailleurs, il a été montré que la persistance de l'hyperactivité physique augmente le risque de rechute (Achamrah, Coëffier, et Déchelotte 2016).

2) Métabolisme osseux

L'une des principales conséquences de l'anorexie mentale est la perte de minéralisation osseuse. Il s'agit d'une anomalie retrouvée chez la quasi-totalité des personnes atteintes par la maladie. Schorr *et al.* ont mesuré le Z-score pour la densité minérale osseuse (DMO) de 33 femmes anorexiques selon les critères du DSM-V et ont observé que chez 82% d'entre elles, ce score était inférieur à -1,0, témoignant d'un lien entre diminution de la DMO et anorexie mentale (Schorr et al. 2017). Dans la même étude, ce taux atteint 69% pour les femmes souffrant d'anorexie mentale atypique. Le métabolisme osseux résulte du différentiel entre la minéralisation effectuée par l'intermédiaire des ostéoblastes et la déminéralisation opérée via les ostéoclastes (Datta et al. 2008). Ce rapport varie naturellement au cours de la vie. En phase de croissance, c'est-à-dire pendant l'enfance et l'adolescence, la minéralisation est plus importante que la déminéralisation. Ensuite, les deux processus sont à l'équilibre pendant la phase adulte avant que la déminéralisation ne prenne le dessus vers 50 ans. Dans des conditions physiologiques, 95% de la masse osseuse est formée avant 19 ans (Chou et Mantzoros 2018). Or l'anorexie mentale survient majoritairement entre 13 et 18 ans, lors de la formation principale de la masse osseuse, entraînant un pic plus faible. Plus ce pic est faible, plus la survenue de l'ostéoporose sera précoce et son processus rapide. Il est donc important de

comprendre comment limiter la perte du tissu osseux pour en préserver l'intégrité au maximum dans le cadre de l'anorexie mentale. La déminéralisation du tissu osseux entraîne l'ostéoporose qui tend à affecter plus fortement les femmes après la ménopause. Ce constat indique que le métabolisme osseux est fortement lié à la sécrétion des hormones sexuelles féminines.

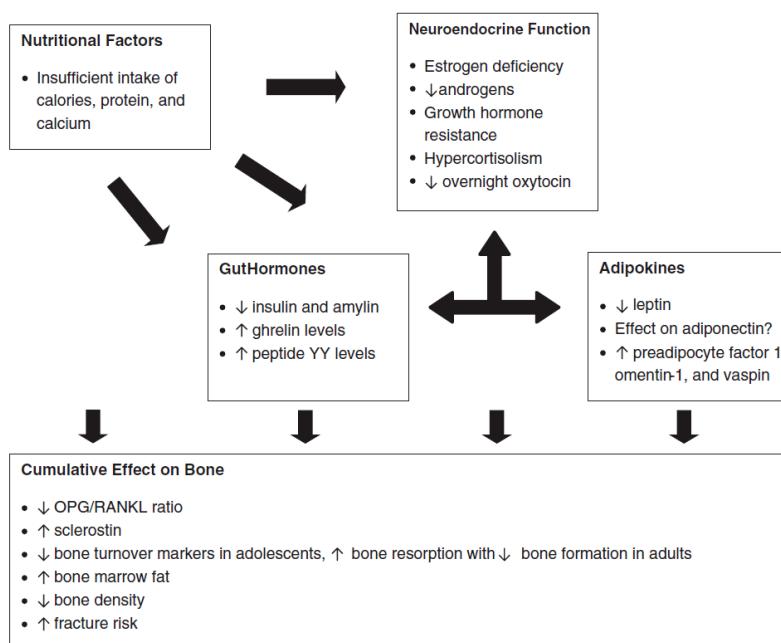


Figure 6 : Dysfonctions du métabolisme osseux chez les patientes anorexiques.

D'après Chou et Mantzoros 2018 : *Bone metabolism in anorexia nervosa and hypothalamic amenorrhea*.

Les ostéoblastes sécrètent une molécule appelée RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Ligand) capable de se fixer sur son récepteur RANK, exprimé par les ostéoclastes, ce qui a pour effet d'activer les ostéoclastes matures tout en augmentant leur survie en diminuant leur mécanisme d'apoptose (Chou et Mantzoros 2018; Boyle, Simonet, et Lacey 2003; Nakagawa et al. 1998). À l'inverse, l'ostéoprotégérine (OPG) inhibe l'action des ostéoclastes en séquestrant RANKL (Simonet et al. 1997). Les ostéoblastes se différencient en ostéocytes via l'activation de la voie Wnt/ β -caténine. Les ostéocytes sont capables d'effectuer un rétrocontrôle négatif sur la maturation des ostéoblastes en sécrétant de la sclérostine, un inhibiteur de la voie Wnt/ β -caténine. Une élévation de la concentration plasmatique en sclérostine a été observée chez des jeunes femmes anorexiques (Maïmoun et al. 2014), ce qui contribuerait à la perte de masse osseuse. Il est intéressant de noter que la normalisation de la DMO n'est pas liée à la restauration du poids corporel chez les patientes anorexiques malgré le fait qu'il semble exister un lien entre la reprise de masse grasse et l'amélioration de la DMO (Achamrah, Coëffier, et al. 2017).

La vitamine D est connue pour favoriser l'absorption du calcium dans l'intestin et favoriser la minéralisation des os (Christakos et al. 2011). Le précurseur de la vitamine D est un dérivé du cholestérol. Bien que l'on pourrait s'attendre à un déficit de vitamine D, en raison d'une élimination quasi-totale des graisses dans l'alimentation chez les personnes anorexiques, il s'avère que ce taux n'est pas différent comparé à des personnes saines et qu'il n'existe aucun lien avec la DMO (Carlsson, Brudin, et Wanby 2018). Cependant, la supplémentation en vitamine D a permis d'améliorer la restauration de la masse osseuse lors de la reprise de poids des personnes anorexiques (Giollo et al. 2017), bien que ces résultats n'aient pas été retrouvés dans les toutes les études.

Les œstrogènes ont un rôle important dans le maintien de la DMO. Or, chez les femmes anorexiques, le taux plasmatique en œstrogènes est diminué (Schorr et Miller 2017) ce qui en fait un axe d'étude intéressant pour le maintien du tissu osseux. Les œstrogènes sont sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien (HPA) dont des altérations ont été trouvées dans l'anorexie mentale.

3) Axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien (HPA)

a) Rappels sur le fonctionnement de l'axe HPA

L'hypothalamus est une région du cerveau où sont intégrés de nombreux signaux provenant de l'organisme entier et où sont synthétisées différentes hormones endocrines qui servent à la régulation de diverses fonctions telles que la prise alimentaire, la reproduction, les fonctions thyroïdiennes, le stress ou le cycle circadien. L'hypothalamus communique directement avec l'hypophyse via des vaisseaux portes et des influx nerveux afin de générer la sécrétion d'autres hormones. En effet, l'hypophyse est divisée en deux régions. La post-hypophyse reçoit directement des influx nerveux de l'hypothalamus puisqu'elle en est une extension des neurones. Son rôle est de sécréter l'ocytocine, qui agit sur la lactation et l'accouchement entre autres, et l'hormone antidiurétique (ADH) dont l'effet est la contraction artérielle et la diminution de l'excrétion d'eau par les reins. L'anté-hypophyse communique avec l'hypothalamus via les vaisseaux portes qui acheminent les hormones sécrétées par ce dernier. En réponse à ces stimuli hormonaux, l'anté-hypophyse va sécréter à son tour différentes hormones telles que l'hormone folliculostimulante (FSH) et l'hormone lutéinisante (LH) pour le contrôle des fonctions gonadiques, l'hormone de croissance (GH), l'hormone thyroïdienne (TSH), la prolactine ou encore l'hormone adrénocorticotrope (ACTH).

b) Perturbations de l'axe HPA dans l'anorexie mentale

Compte tenu des fonctions régulées par l'axe HPA, comme le stress, la reproduction, la croissance et la prise alimentaire, il n'est pas étonnant de trouver de multiples études de celles-ci chez les personnes anorexiques.

Un comportement anormalement anxieux précède l'apparition de l'anorexie mentale dans la plupart des cas et aboutit à une augmentation de la sécrétion en cortisol. Le taux de cortisol au réveil est plus élevé chez les personnes anorexiques mais ne semble pas être en lien avec un traumatisme dans l'enfance contrairement aux personnes boulimiques (A. M. Monteleone et al. 2015). Dans leur étude, Rigaud *et al.* ont administré, en aveugle et par voie nasogastrique, des liquides de charges caloriques différentes (0, 300 ou 700 kcal) à des patientes anorexiques ou en bonne santé et ont mesuré leurs taux en différentes hormones ainsi que leur ressenti sur différents paramètres (Rigaud et al. 2007). Il en ressort que l'effet thermique de la quantité de calories absorbée dépend de la dose mais celui-ci est plus important dans le groupe anorexique. Les auteurs ont démontré qu'il y avait une augmentation plasmatique des taux en ACTH, cortisol, dopamine, adrénaline et noradrénaline chez les patientes anorexiques avec la dose de 700 kcal. Par ailleurs, plus la quantité de calories est élevée, plus les sensations de nausées et de douleurs abdominales sont élevées avec également une augmentation de la peur de prendre du poids et une accentuation de la distorsion de la perception du corps.

La profonde implication de l'axe HPA dans des fonctions communément altérées dans l'anorexie mentale a entraîné différentes études basées sur l'utilisation d'hormones de cet axe. À titre d'exemple, l'ocytocine était un bon candidat pour ces tests. L'administration d'ocytocine chez des patientes anorexiques par voie intranasale a pour effet de diminuer le taux de cortisol présent dans la salive tout en améliorant les réactions comportementales vis-à-vis de la nourriture mais sans diminuer l'anxiété (Leppanen et al. 2017). Cet effet permet également d'améliorer l'efficacité des protocoles de renutrition en diminuant l'aversion pour la nourriture (J. Russell et al. 2018). Une méta-analyse sur des études ayant pour objet l'effet de l'ocytocine sur l'axe HPA, montre que cette hormone possède un effet bénéfique sur la sécrétion de cortisol et la sollicitation du circuit HPA lors de tâches que ne devraient pas le requérir (Cardoso, Kingdon, et Ellenbogen 2014).

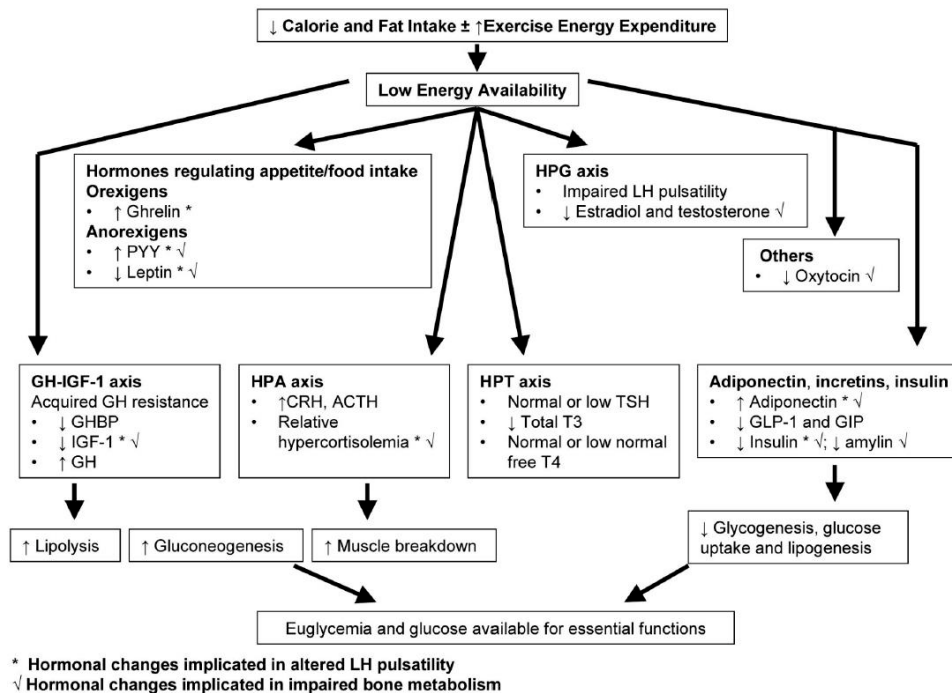


Figure 7 : Modifications endocrinologiques au cours de l’anorexie mentale.

D’après Misra et Klibanski 2014 : *Endocrine Consequences of Anorexia Nervosa*.

Cependant, comme le soulignent Bou Khalil *et al.*, il est difficile de connaître avec précision ce qui est une cause de ce qui est une conséquence de l’anorexie mentale sur l’axe HPA étant donné que certaines altérations disparaissent lors de la reprise de poids (Bou Khalil, Souaiby, et Farès 2017). Toutefois, diminuer le taux de cortisol chez les personnes anorexiques reste un point crucial en raison des effets délétères qu’il peut engendrer sur le système immunitaire.

4) Impact de l’anorexie mentale sur le système immunitaire

a) Modifications des proportions des types cellulaires de l’immunité

Le système immunitaire repose sur la coordination des différentes cellules immunitaires et de leurs sécrétions telles que les cytokines ou les anticorps. Ce système requiert suffisamment d’énergie pour fonctionner normalement et l’on comprend aisément qu’il peut être profondément affecté par la restriction calorique intense chez les personnes anorexiques. Les dysfonctions du système immunitaire pourraient être un facteur de risque pour la survenue de l’anorexie mentale puisque la présence d’une maladie auto-immune augmenterait de 36% le risque de développer la pathologie (Zerwas et al. 2017).

Les Natural Killers (NK) sont des cellules immunitaires chargées de détruire les cellules infectées par un pathogène ou les cellules cancéreuses. L'activation de ces cellules est en partie liée au système HPA et il a été montré qu'une corrélation inverse existe entre l'activation spontanée des NK et le taux basal en cortisol chez des patientes anorexiques (Staurenghi et al. 1997). Les lymphocytes sont également affectés. Une diminution du nombre de cellules lymphocytaires a été observée dans le cas d'anorexie mentale de type restrictive. Mustafa *et al.* ont mis en avant l'existence d'une diminution des lymphocytes T CD8+ (LTCD8+) et des lymphocytes T CD4+ (LTCD4+) naïfs (Mustafa et al. 1997). La diminution des LTCD8+ a été retrouvée dans une étude récente en plus d'une diminution des NK (Elegido et al. 2017). En revanche, le nombre de LTCD4+ reste inchangé, mais une corrélation négative entre le Z-score de l'IMC et le nombre de lymphocytes B (LB) et de LTCD4+ naïfs est rapportée ce qui, d'après les auteurs, serait un mécanisme d'adaptation au maintien de la fonction immunitaire. Par ailleurs, l'interaction des neutrophiles circulants avec l'endothélium vasculaire est modifiée chez les patientes anorexiques. Víctor *et al.* ont montré que la vitesse de progression de ces cellules étaient diminuée avec une augmentation de la synthèse de la molécule d'adhésion cellulaire vasculaire-1 (VCAM-1) en parallèle d'une augmentation de la sécrétion d'interleukine-6 (IL6) et de tumor necrosis factor- α (TNF- α) (Víctor et al. 2015).

Les cytokines pro-inflammatoires ont donc également un rôle dans le développement et/ou dans le maintien de la pathologie. Le TNF- α et l'IL-6 ont été largement étudiés dans le cadre de l'anorexie mentale puisque ces cytokines contribuent à la perte de poids, notamment dans les cas de cachexie induite par le cancer (Patel et Patel 2017; Han et al. 2018; Dalton et al. 2019).

b) Le TNF- α

Les personnes anorexiques ont une inflammation systémique de bas grade qui se traduit par une augmentation du TNF- α et de son récepteur ainsi qu'un stress oxydatif plus important, ce qui permettrait un maintien de la pathologie (Agnello et al. 2012). Les auteurs de cette étude précisent que le taux de récepteurs au TNF- α corrèle positivement avec la durée de la maladie, et négativement avec l'IMC. Cependant, cette augmentation du TNF- α et de son récepteur n'est pas toujours retrouvée chez les personnes anorexiques (Brambilla et al. 1998) et une diminution peut également être observée (Nova et al. 2002). Bien que l'effet cachectique du TNF- α soit bien établi dans des pathologies telles que le cancer, son rôle est moins évident dans l'anorexie mentale. Il se pourrait que ces données contradictoires soient imputées à un polymorphisme du

gène codant pour le TNF- α . Kanbur *et al.* ont observé que des patients anorexiques, dont la guanine était remplacée par une adénine à la position 308 de la région promotrice du gène codant pour le TNF- α , avaient les IMC parmi les plus bas (Kanbur et al. 2008). D'autres polymorphismes de la région promotrice du TNF- α pourraient également augmenter la susceptibilité à l'anorexie mentale (Ando et al. 2001). Enfin, tout comme l'IL-1 β , une injection intrapéritonéale de TNF- α entraîne une diminution de la prise alimentaire (McCarthy 2000).

c) L'IL-6

La culture de cellules immunitaires circulantes obtenues après prélèvement sanguin est une méthode qui permet de mesurer leur production de cytokines. De cette façon, il a été démontré que la production de certaines cytokines pro-inflammatoires était augmentée. C'est le cas notamment pour l'IL-6 et l'interféron- γ (IFN- γ) (Raymond et al. 1999; Pisetsky et al. 2014). Il en va de même pour le taux en ARNm codant pour l'IL-6 (Kahl et al. 2004). En revanche, le taux de récepteurs solubles à l'IL-6 est, quant à lui, diminué (Karczewska-Kupczewska et al. 2013). D'autres études en revanche, montrent que le taux plasmatique en IL-6 n'est pas différents entre des patientes anorexiques et des sujets sains (Dolezalova et al. 2007). Le taux en IL-6 peut également être diminué comme le TNF- α (Nova et al. 2002).

d) L'IL-1 β

L'IL-1 β est une cytokine dont l'action pro-inflammatoire est bien connue et qui a la capacité de modifier la régulation de la température via la voie hypothalamique. Bien que la température corporelle soit plus basse chez les personnes anorexiques, celle-ci augmente plus que la normale après l'ingestion d'un repas (J. Russell et al. 2001). La régulation de la température et de l'axe HPA étant altérées chez les personnes anorexiques, de nombreuses recherches ont donc porté sur la potentielle implication de l'IL-1 β . La culture de cellules mononuclées circulantes de patientes anorexiques a montré que, plus la concentration en cortisol est élevée, plus la sécrétion d'IL-1 β est importante (Limone et al. 2000). Le cortisol ayant un rôle anti-inflammatoire, les auteurs en déduisent qu'il existe une altération de la régulation entre l'axe HPA et l'IL-1 β . L'élimination des récepteurs à l'IL-1 β dans le noyau arqué hypothalamique chez le rat a pour effet de diminuer le nombre de neurones NPY+ et de réduire l'hypophagie induite par

l'injection intrapéritonéale d'IL-1 β . Cette cytokine a donc aussi un rôle anorexigène en agissant directement sur l'hypothalamus (Chaskiel et al. 2019).

e) Le stress oxydatif

En plus des différentes altérations des différentes populations de cellules immunitaires et de la sécrétion de diverses cytokines pro-inflammatoires, le métabolisme oxydatif de ces mêmes cellules est modifié dans l'anorexie mentale. Víctor *et al.* ont observé une diminution de l'activité mitochondriale dans les cellules immunitaires de patientes anorexiques (Victor et al. 2014). Les mitochondries de ces cellules immunitaires ont une diminution de la consommation en oxygène, une augmentation du glutathion et de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). L'explication pourrait venir de la modification globale de l'équilibre d'oxydo-réduction chez les patients. Une diminution de l'enzyme superoxyde dismutase associée à une diminution en vitamine E a été démontrée chez les personnes anorexiques (Moyano et al., s. d.). Cependant, les auteurs n'ont pas observé de modification quant au glutathion alors que l'activité de la catalase était augmentée. La catalase est une enzyme métabolisant le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), un ROS, en dioxygène et en eau. Or, la culture de fibroblastes avec du sérum de patients anorexiques a entraîné une hausse de 24% de la résistance de ces cellules à la présence de H₂O₂ (Omodei et al. 2015), ce qui pourrait s'expliquer par une hausse de l'activité de la catalase.

Comme pour les autres paramètres, les données sur le stress oxydatif chez les personnes souffrant d'anorexie mentale peuvent être parfois contradictoires.

f) L'adiponectine

L'adiponectine est une adipokine, c'est-à-dire une cytokine sécrétée par les adipocytes. Bien que la dénutrition sévère induite par l'anorexie mentale entraîne une diminution de la masse grasse, le taux plasmatique en adiponectine est plus élevé chez les personnes atteintes par la maladie que chez les personnes saines (Iwahashi et al. 2003). Il existe différentes formes d'adiponectine, une de poids moléculaire élevé (HMW) et une autre de poids moléculaire faible (LMW). Une étude chez 18 femmes anorexiques a montré que plus l'IMC est bas, plus la concentration en HMW est basse alors que celle de la LMW augmente (Amitani et al. 2013). Ces changements sont également liés à des troubles du comportement fréquemment retrouvés

associés à la pathologie (Amitani et al. 2013; Tyszkiewicz-Nwafor et al. 2018). L'adiponectine présente aussi différents polymorphismes dont certains sont plus souvent retrouvés que d'autres chez les personnes anorexiques, ce qui démontrerait une influence de ces variations sur la susceptibilité à développer la pathologie (Ziora-Jakutowicz et al. 2017).

Les cytokines pro-inflammatoires et l'adiponectine sont impliquées dans de nombreux processus qui pourraient favoriser l'apparition de l'anorexie mentale ou en permettre le maintien. Cependant, les études restent assez contradictoires même si certains profils semblent se dégager. L'explication de ces résultats divergents pourrait venir du fait que les deux sous-types d'anorexie mentale, restrictive et purgative, présentent des profils différents pour certains polymorphismes de gènes codant pour les cytokines décrites précédemment. Il faut ajouter à cela des troubles comportementaux spécifiques à chaque sous-type et l'existence d'isoformes pour certaines molécules telles que l'adiponectine. La distinction entre les sous-types d'anorexie mentale, les isoformes des composés étudiés et la présence de polymorphismes des gènes les codant ne sont que très rarement établis dans une même étude. Ce manque d'informations ne permettrait donc pas d'avoir des profils de patients suffisamment précis pour les paramètres étudiés, d'où les données parfois contradictoires, tout en faisant ressortir des fonctionnements globaux récurrents.

5) Altérations hépatiques

Le foie est un organe vital dont le nombre de fonctions est particulièrement élevé. Parmi ses rôles, on retrouve la détoxification du sang, la synthèse et le stockage de glucose, la synthèse de cholestérol pour la production de différentes hormones et de la vitamine D, la production d'albumine pour maintenir la pression oncotique du sang et le transport de différentes molécules comme les hormones ou encore la production de triglycérides. Le bon fonctionnement hépatique est vérifié par le dosage plasmatique de l'aspartate aminotransférase (ASAT) et de l'alanine aminotransférase (ALAT). En cas de dommages hépatiques, le taux plasmatique de ces enzymes augmente.

Dans une étude clinique faite sur 181 patients anorexiques, Rosen *et al.* ont observé que le taux des ALAT et ASAT était moyennement élevé pour 27,6% des patients et très élevé pour 35,4% d'entre eux. Les auteurs pointent le fait que plus le taux plasmatique en enzymes hépatiques est élevé, plus l'IMC est faible avec une diminution des taux de transthyrétine (Rosen et al. 2016). Ce lien entre IMC et taux plasmatique des enzymes hépatiques est également retrouvé par

Nagata *et al.* sur 356 patients, dont 89% de femmes (Nagata et al. 2015). Leur étude montre aussi que les hommes anorexiques sont plus gravement affectés par l'élévation des taux plasmatiques en ASAT et ALAT en association avec un IMC plus faible. Ces résultats sont confortés par Hanachi *et al.* avec une hypertransaminasémie, c'est-à-dire un taux en ASAT et ALAT deux fois supérieur à la normale chez 43% des 126 patients de leur étude clinique dont les observations ont conduit à définir quatre facteurs de risque : un jeune âge, un IMC faible, le sous-type restrictif et le sexe masculin (Hanachi, Melchior, et Crenn 2013). Un cas clinique d'une femme de 35 ans avec des antécédents d'anorexie mentale a été rapporté en raison d'une insuffisance hépatique aigüe (Bridet, Martin, et Nuno 2014). Le taux plasmatique en ASAT était de 3758U/L (40U/L < normalement) et le taux plasmatique en ALAT de 1955U/L (37U/L < normalement).

Patient	Serum AST level (×ULN)	Serum ALT level (×ULN)	Prothrombin index (%)	Coagulation factor V (%)	Serum bilirubin (μmol/L) (normal <17 μmol/L)	Previous episodes of increase in aminotransferase level	Hepatic imaging data
1	32	24	50	52	25	No	Moderate ascites
2	84	48	30	50	11	Yes	Moderate ascites
3	101	181	29	33	46	Yes	Normal
4	106	73	44	55	35	Yes	Normal
5	71	83	39	28	59	Yes	Normal
6	62	41	31	30	22	No	Normal
7	46	21	30	69	18	Yes	Normal
8	18	10	19	10	4	No	Moderate ascites
9	95	80	47	72	14	Yes	Moderate ascites
10	31	63	40	63	22	No	Normal
11	87	70	30	63	12	Yes	Normal
12	55	20	29	38	38	Yes	Normal

Figure 8 : Modifications des sécrétions enzymatiques hépatiques lors de l'anorexie mentale.

D'après Rautou et al. 2008 : *Acute Liver Cell Damage in Patients With Anorexia Nervosa: A Possible Role of Starvation-Induced Hepatocyte Autophagy.*

ALT : alanine aminotransférase ; AST : aspartate aminotransférase ; ULN : upper limit of normal.

Les auteurs évoquent, comme causes hypothétiques, une hypoperfusion aigüe du foie et une autophagie hépatique. L'autophagie est un mécanisme qui se met en place dans les cas d'infections intracellulaires (virus, bactéries intracellulaires) ou de restriction calorique sévère. Elle permet de recycler différents constituants cellulaires (lipides, protéines, organelles) afin d'en retirer de l'énergie ou des composants afin de synthétiser de nouvelles protéines. Il existe quinze types d'autophagie différents. Celle-ci peut être mesurée par la conversion de la protéine LC3I en LC3II (microtubule-associated light chain protein 3). La cellule produit donc un autophagosome autour de la cible qui fusionnera ensuite avec un lysosome pour former un autophagolysosome afin de dégrader son contenu. L'autophagie hépatique est parfois décrite comme protectrice pour le foie (Kheloufi et al. 2014) étant donné qu'elle permet la survie des

cellules hépatiques en leur évitant de s'engager sur la voie de l'apoptose ou de la nécrose. Cependant, d'après d'autres observations, l'apparition de l'autophagie hépatique serait un phénomène aigu témoignant d'une aggravation de l'état de santé des patients, et devrait être considérée comme un facteur de gravité (Rautou et al. 2008). La mesure des taux plasmatiques en vitamine B12 pourrait également être un indicateur intéressant pour la fonction hépatique des patients anorexiques puisque ce taux augmente en cas de dysfonction hépatique (Corbetta et al. 2015).

6) Risques cardiovasculaires et rénaux

Le système cardiovasculaire et les reins sont très fortement liés par différents mécanismes qui font que si l'un des deux systèmes est dysfonctionnel, l'autre sera affecté. Une insuffisance rénale peut ainsi induire des pathologies cardiaques en raison de modifications anormales de la pression artérielle. Avec une restriction calorique sévère, des altérations électrolytiques et hormonales, l'anorexie mentale entraîne de graves perturbations cardiaques, vasculaires et rénales (Sachs et al. 2016).

Bien que l'anorexie mentale soit principalement caractérisée par une réduction drastique de la prise alimentaire, la prise hydrique est également fortement diminuée dans le but de perdre plus de poids, entraînant ainsi une déshydratation chronique chez les patients (Lowinger et al., s. d.). Il peut toutefois être observé une prise hydrique particulièrement élevée (Bahia, Chu, et Mehler 2011) mais elle survient, le plus souvent, pour simuler une prise de poids en vue d'un examen médical (Krogulska et al. 2019). Dans leur observation de ce cas clinique, les auteurs font mention d'une hyponatrémie et de vomissements récurrents. L'hyponatrémie est communément retrouvée chez les patientes anorexiques, même déshydratées, en association avec des taux en ADH particulièrement élevés (Evrard et al. 2004). L'ADH est produite par la post-hypophyse, en réponse à une baisse de la volémie et/ou de la pression artérielle, et possède trois types de récepteurs. Les récepteurs V1a sont retrouvés sur les cellules musculaires lisses des vaisseaux sanguins. C'est par le biais de ces récepteurs que l'ADH induit la vasoconstriction de ces vaisseaux afin de rétablir la pression artérielle en cas d'hypovolémie. Les récepteurs V1b sont exprimés dans l'anté-hypophyse où ils servent à la régulation de la sécrétion d'ADH. Le troisième type de récepteur, V2, est exprimé dans les reins où il favorise la réabsorption de l'eau de l'urine primitive dans le tubule contourné distal par l'incorporation d'aquaporines produites par les cellules des canaux collecteurs. Le système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA)

participe également au maintien de la pression artérielle. La rénine est une enzyme sécrétée par les cellules musculaires lisses de l'appareil juxtaglomérulaire en cas de diminution de la pression artérielle. Elle a pour cible l'angiotensinogène, sécrété par le foie, qu'elle va cliver en angiotensine-1 (AGT1). Ensuite, l'AGT-1 est clivée en angiotensine-2 (AGT-2) par l'enzyme de conversion. L'AGT-2 possède deux récepteurs : AT-1 et AT-2. Le récepteur AT-1 induit la vasoconstriction, la sécrétion d'ADH et d'aldostérone, alors que le récepteur AT-2 entraîne la vasodilatation. L'aldostérone, quant à elle, favorise la réabsorption du sodium (Na^+) par transport actif à partir de l'urine primaire dans le canal collecteur.

L'utilisation combinée de diurétiques et de laxatifs en association avec une activité physique intense contribue à l'hyponatrémie et entraîne une forte augmentation de la sécrétion d'aldostérone dans le plasma lors d'injections d'AGT-2 à des patients anorexiques (Mizuno et al. 1992; Lai, Jiang, et Hsiao 2017). L'hyponatrémie serait également en lien avec un IMC faible et la diminution de la DMO (Lawson et al. 2012). En plus de l'hyponatrémie, les patients anorexiques souffrent également d'hypokaliémie, responsable du syndrome du QT long. L'intervalle QT d'un électrocardiogramme (ECG) correspond au temps qui s'écoule entre le début de la dépolarisation ventriculaire (onde QRS) et la fin de la repolarisation ventriculaire (onde T). La contraction ventriculaire est provoquée par la dépolarisation membranaire avec sortie de potassium (K^+) et entrée de sodium (Na^+) et de calcium (Ca^{2+}). La repolarisation complète nécessite des pompes à K^+ ATP-dépendantes pour séquestrer le potassium dans l'espace intracellulaire. Une hypokaliémie entraîne un retard de la repolarisation, c'est-à-dire un allongement du temps entre les ondes QRS et T, qui peut provoquer une arythmie voire un arrêt cardiaque. Le syndrome du QT long est fréquemment observé chez les personnes anorexiques et peut être traité par une supplémentation en potassium (Sachs et al. 2016; Krantz et al. 2012; Facchini et al. 2006; Franzoni et al. 2007). La présence d'une bradycardie a également été rapportée chez les patients anorexiques (Yahalom et al. 2013).

En plus des anomalies du rythme cardiaque, la structure du cœur est largement affectée par la pathologie. Les patients anorexiques présentent une diminution de l'activité de l'apex alors que les personnes atteintes de la forme purgative de la maladie ont également une diminution de la masse et de la fonction ventriculaire gauche en raison d'une fibrose (Morris et al. 2017). Par ailleurs, les hommes anorexiques sont plus fréquemment affectés par des pathologies cardiaques que les femmes (Kalla et al. 2017), ce qui renforce le caractère délétère de la maladie en fonction du sexe. Chez les femmes adolescentes, un IMC faible est un facteur de risque pour le développement de dysfonctions systoliques et diastoliques (Escudero et al. 2016). Dans la

majorité des cas, la fibrose du ventricule gauche est consécutive à une augmentation de la rigidité artérielle. En effet, es mesures en échographie Doppler utilisant la vitesse d'onde de pouls ont montré qu'il existait une augmentation de la rigidité de l'aorte chez les patientes anorexiques (Escudero et al. 2018).

Comme nous l'avons décrit précédemment, le rein et le cœur sont en relation très étroite. Les affections cardiaques des personnes anorexiques ont des répercussions sur la fonction rénale. Stheneur *et al.* ont observé que l'IMC et le taux de filtration glomérulaire (TFG) étaient liés et que la diminution du rythme cardiaque résultait en une baisse du TFG, menant à une dysfonction rénale (Stheneur et al. 2017). L'hypokaliémie joue également un rôle dans les anomalies de la fonction rénale en provoquant une vacuolation des tubules (Wigley 1960) ainsi qu'une acidose des tubules distaux, notamment en raison de l'utilisation abusive de laxatifs (Pines et al. 1985).

7) Atteintes de la cavité buccale et de l'œsophage

L'anorexie mentale affecte le tractus digestif dans son ensemble à commencer par la bouche. Bien que les deux sous-types d'anorexie soient responsables de l'apparition de troubles buccaux, le sous-type purgatif avec vomissements a naturellement un impact plus important. L'utilisation d'émétiques ou de substances laxatives sont des facteurs aggravants en raison de la déshydratation qu'ils provoquent (Panico et al. 2018).

Organ systems or organ	Pathological findings	Leading systems
CNS	Morphological and functional cerebral changes; volume reduction in cerebral grey and white matter	Cognitive deficits
Dental system and parotis glands	Impaired dental status, dental caries, increased serum amylase	Dental caries, enlargement of the parotid glands
Endocrine system and reproductive function	Hypothalamus-pituitary-gonadal-axis, low T ₃ syndrome, hypercortisol	Amenorrhoea in women, symptoms of hypothyroidism, depression, elevated stress levels
Cardiovascular system	Hypotension, bradycardia, arrhythmia	Syncope
Gastrointestinal tract	Impaired gastric emptying, gastric dilation, gastro-duodenal ulcers	Constipation, ileus, upper gastrointestinal bleeding
Haematological and immune system	Bone marrow hypoplasia, anaemia with reduced leucocytes and immunoglobulin	Anaemia, (bacterial) infections, compromised immune competence
Renal tract	Hypokalaemia, hypophosphataemia, hypernatraemia	Nephrolithiasis, oedema, syncope
Bone	Reduced bone density (osteopenia) or osteoporosis	Bone fractures and concomitant pain, spinal compression

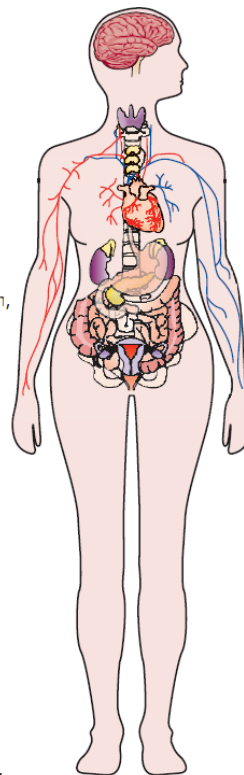


Figure 9 : Atteintes physiologiques générales retrouvées chez les personnes anorexiques.

D'après Zipfel et al. 2015 : *Anorexia nervosa: aetiology, assessment, and treatment*.

Les vomissements récurrents dans l'anorexie mentale purgative sont à l'origine d'une érosion des dents en raison de l'acide présent dans le contenu stomacal. Une mylolyse, c'est-à-dire une déminéralisation des dents, apparaît fréquemment à cause de cet acidité chronique (Hasler 1982). Le gonflement de la glande salivaire parotidienne est souvent rapporté (Hasler 1982). La production de salive est diminuée (Elżbieta Paszynska et al. 2015; Elżbieta Paszynska et al. 2017) et sa composition modifiée avec des sécrétions de cortisol et d'immunoglobulines A sécrétoires (sIgA) plus importantes alors qu'il n'y a qu'une tendance à l'augmentation pour l'alpha-amylase salivaire (AAS) (E. Paszynska et al. 2016). Il faut noter que l'augmentation de la sécrétion de l'AAS semble être spécifique de l'anorexie mentale de type purgative (Scheutzel et Gerlach 1991). L'augmentation de la sécrétion de cortisol et de sIgA est fréquemment retrouvée lors d'un comportement anxieux avec une hyper activation de l'axe HPA. Globalement, l'activité des enzymes de la salive ne semble pas altérée (Elżbieta Paszynska et al. 2015). Bien que le pH de la salive soit plus acide chez les personnes anorexiques, une étude ancienne suggère que la maladie n'a pas d'effet sur les bactéries buccales (Liew et al. 1991). En revanche, les atteintes de la muqueuse sont nombreuses avec des érythèmes labiaux, des saignements gingivaux, des gerçures sur les lèvres et une chéilite exfoliatrice (Panico et al. 2018; Liew et al. 1991).

Concernant l'œsophage, peu de complications sont à noter. Benini *et al.* ont mesuré les contractions de l'œsophage chez des patients anorexiques restrictifs et d'autres purgatifs (Benini et al. 2010). Les auteurs ont observé une augmentation de la pression dans la partie inférieure de l'œsophage chez les restrictifs par rapport aux purgatifs mais ces valeurs sont toujours situées dans un intervalle normal. L'amplitude des ondes après déglutition est, quant à elle, plus importante chez les patients anorexiques que chez les personnes saines. Par ailleurs, en raison de la persistance et de la fréquence des vomissements, le risque de cancer de l'œsophage est plus élevé chez les anorexiques de type purgatif (Brewster, Nowell, et Clark 2015).

Bien qu'il existe des atteintes de la cavité buccale et de l'œsophage chez les personnes anorexiques, elles ne sont pas spécifiques de la maladie et ne permettent pas d'identifier cette dernière de façon certaine (G. Stacher et al. 1986). Cependant, les dysfonctions gastriques sont spécifiques de la pathologie et peuvent être utilisées comme marqueurs (G. Stacher et al. 1986; Schalla et Stengel 2019).

8) Troubles fonctionnels gastro-intestinaux

L'estomac subit d'importantes altérations chez les anorexiques. La diminution de la vitesse de vidange gastrique est particulièrement bien documentée. Les personnes anorexiques se plaignent quasiment systématiquement de douleurs abdominales mais Domstad *et al.* ont observé que, parmi les patients de leur étude, seuls 50% d'entre eux avaient une diminution du temps de vidange gastrique (TVG) expliquant ces douleurs alors que le TVG était normal voire accéléré chez d'autres (Domstad et al. 1987). Le TVG a été mesuré pour des repas solides et liquides chez des personnes anorexiques (Hutson et Wald 1990; Holt et al. 1981). Il ressort de l'étude de Hutson et Wald que le TVG est de 182 minutes chez les anorexiques contre 119 min chez les contrôles pour les repas solides, et de 65 minutes chez les anorexiques contre 49 minutes pour les contrôles avec les liquides (Hutson et Wald 1990). Les auteurs notent cependant une absence de lien entre l'IMC et le TVG alors qu'une étude plus récente a montré qu'il existait bien une corrélation négative entre le temps de demi vidange gastrique (TVG₅₀) et l'IMC chez les patients anorexiques (Bluemel et al. 2017). Robinson *et al.* notent cependant que l'augmentation du TVG après ingestion de liquide n'est valable que pour des liquides contenant du glucose mais pas pour des solutés salins (Robinson, Clarke, et Barrett 1988). Ils observent également que l'allongement du TVG est provoqué par une quantité insuffisante de

nourriture arrivant dans le duodénum et entraînant une perte de poids sévère. Cette augmentation du TVG est retrouvée chez les anorexiques restrictifs et purgatifs avec 357 minutes et 360 minutes respectivement, contre 207 minutes chez des personnes saines (Benini et al. 2004).

Ce retard de vidange gastrique est la conséquence de l'augmentation de la prévalence d'épisodes de dysrythmie de l'estomac chez les personnes anorexiques par rapport à des personnes saines (9,75% contre 0,48% respectivement) (Abell et al. 1987). Plus précisément, il s'agit d'une diminution de la fréquence et de l'amplitude des contractions de l'antrum gastrique (Georg Stacher et al. 1992). Un TVG plus long entraîne une dilatation de la paroi stomacale avec de graves conséquences cliniques. Lo *et al.* ont rapporté un cas clinique de dilatation gastrique ayant provoqué une nécrose de l'estomac en raison d'une occlusion de l'artère mésentérique supérieure (Lo, Yen, et Jones 2004).

Pour essayer d'améliorer les problèmes d'allongement du TVG et ses conséquences, des traitements médicamenteux ont été testés. Stacher *et al.* (G. Stacher et al. 1987) ont donné à des patients anorexiques des repas semi-solides et ont mesuré le TVG₅₀ dont la médiane était à 121 minutes chez les patients et 47 minutes chez les contrôles. Les auteurs ont ensuite donné 8mg de cisapride à certains patients par voie intraveineuse. Le cisapride favorise la libération d'acétylcholine et augmente l'amplitude des contractions de l'antrum stomacal. Le TVG₅₀ des patients ayant reçu le médicament est tombé à une valeur médiane de 42 minutes. Dans une autre étude, de la dompéridone, un composé augmentant les contractions de l'antrum, a été administré à des personnes anorexiques avec des ballonnements sévères (D. M. Russell et al. 1983). La dompéridone a eu pour effet d'améliorer nettement le sentiment de satiété ainsi que le TVG.

L'utilisation de telles substances pourrait être intéressante mais leurs autres effets risqueraient d'être préjudiciables aux patients. La dompéridone est un antagoniste des récepteurs à la dopamine tandis que le cisapride est un agoniste des récepteurs à la sérotonine. Nous avons préalablement explicité les atteintes des systèmes sérotoninergiques et dopaminergiques chez les personnes anorexiques. L'utilisation de médicaments agissant sur ces voies pourrait avoir des effets inconnus sur d'autres paramètres notamment le contrôle de l'humeur et de la prise alimentaire. Par ailleurs, le cisapride peut provoquer un syndrome de QT long auquel sont déjà sujets les patients anorexiques avec purge.

La diminution de la motilité ne se limite pas à l'estomac chez les personnes anorexiques et affecte également le reste de l'intestin avec des constipations ou des ballonnements (Buchman et al. 1994). Ce ralentissement de la motilité intestinale n'entraîne d'ailleurs pas de troubles de l'absorption des nutriments (Martínez-Olmos et al. 2013) ce qui indique que les altérations des paramètres plasmatiques comme l'hypercholestérolémie, qui est retrouvée chez la plupart des patients, sont secondaires à d'autres perturbations. Le temps de transit complet (bouche-colon) est augmenté chez les patients anorexiques mais sans être significativement différent des personnes saines (Kamal et al. 1991). Les observations cliniques mettent en avant une prévalence élevée de la constipation chez les personnes anorexiques. La diminution de l'IMC et une phase anorexique longue sont deux paramètres qui semblent augmenter la prévalence de la constipation (Sileri et al. 2014). Au-delà des troubles de la motilité intestinale, il existe également une dysfonction de la contraction du plancher pelvien (Chiarioni et al. 2000).

Pour mieux comprendre ces mécanismes, il faut s'intéresser à la fonction sécrétoire de l'estomac et de l'intestin car, si l'absorption intestinale des nutriments n'est pas altérée, il n'en est pas de même pour les sécrétions. L'estomac, l'intestin et les organes associés à la digestion tels que le pancréas, le foie et la vésicule biliaire, produisent non seulement des enzymes facilitant la digestion, mais aussi différents peptides agissant sur les fonctions des uns et des autres ainsi que sur la régulation centrale de l'appétit.

D) Place de l'axe intestin cerveau

1) Rappels sur la structure et la fonction intestinale

L'intestin débute après l'estomac et peut être divisé en deux grandes parties : l'intestin grêle, formé par le duodénum, le jéjunum et l'iléon, et ensuite le colon. La fonction première de l'intestin grêle est l'absorption des nutriments suite à leur digestion par les enzymes pancréatiques et biliaires ainsi que les enzymes présentes à la surface des entérocytes, alors que le rôle du colon se focalise principalement sur la réabsorption de l'eau. Bien que ces fonctions soient différentes, les structures de l'intestin grêle et du colon sont très proches, et diffèrent principalement par la proportion des différents types cellulaires qui les composent (Salvo Romero et al. 2015). L'intestin dans son ensemble est constitué de cellules souches, d'entérocytes, de cellules entéroendocrines pour la synthèse et la libération des peptides intestinaux tels que la CCK et le GIP, de cellules de Paneth localisées dans les cryptes, et de

The diagram illustrates the complex immune environment of the intestinal mucosa. Key components include:

- Epithelium:** The outermost layer containing various cell types (IECs, Goblet cells, Paneth cells, IECs, EC cells) and the mucus layers (Outer and Inner).
- Lamina Propria:** The underlying connective tissue layer containing immune cells and signaling molecules.
- Immune Cells:** A variety of cells including Mast cells, Eosinophils, Macrophages, Neutrophils, DCs, T lymphocytes, B lymphocytes, M cells, and Fibroblasts.
- Signaling Molecules:** Mucins, Antimicrobial peptides, sIgA, and Antigens.
- Neurological and Systemic Interactions:** The ENS (Enteric Nervous System) and CNS-ENS (Central Nervous System-Enteric Nervous System) interact with the immune system via Neuropeptides and Cytokines/Chemokines. Immune cells also interact with the Systemic Circulation and Blood Vessels.
- Peyer's Patch:** A specialized area of the mucosa where immune cells are concentrated and interact with the environment.

D'après Salvo Romero et al. 2015 : *The intestinal barrier function and its involvement in digestive disease.*

Les cellules épithéliales intestinales forment une monocouche cellulaire composée principalement d'entérocytes, ou de colonocytes pour le colon. Ces cellules ont pour fonction l'absorption des nutriments issus de la dégradation enzymatique qui forment le chyle. Les entérocytes sont pourvus de microvillosités de 1 à 2 μm de haut qui servent à augmenter la surface d'absorption. Une fois internalisés, les différents nutriments sont transportés du pôle

apical de la cellule vers le pôle basal pour rejoindre la circulation lymphatique ou sanguine. Les cellules de la muqueuse intestinale constituent également la première ligne de défense contre les agressions extérieures, comme les bactéries, virus et champignons présents dans le tractus intestinal et possèdent des immunoglobulines A (IgA) à leur surface.

L'intégrité et l'étanchéité de cette barrière est assurée par la présence de différentes protéines qui forment les jonctions serrées. Les claudines (CLDN), notamment CLDN-1, sont les protéines situées le plus en surface, puis vient l'occludine (OCDN), ensuite les protéines des jonctions adhérentes JAM (Junctional Adhesion Molecules) et enfin les protéines des jonctions communicantes comme les connexines qui forment des hexamères appelés connexons pour permettre le passage de différents composés d'une cellule à l'autre. Les CLDN sont des protéines transmembranaires dont la partie intracellulaire comporte un domaine PDZ capable de se lier avec le domaine PDZ de la protéine Zonula Occludens-1 (ZO-1). Les protéines ZO-1, ZO-2 et ZO-3 servent d'adaptateurs entre les CLDN et le cytosquelette d'actine des cellules épithéliales. Bien que la majorité des CLDN favorise la formation des jonctions serrées, la CLDN-2 est, quant à elle, associée à une augmentation de la perméabilité intestinale. L'adhésion des cellules épithéliales entre elles via les CLDN peut être modulée en fonction des besoins via des réactions de phosphorylation ou d'ubiquitinylation qui sont assurées par différentes enzymes telles que l'AMPK ou les phosphokinasés. L'OCDN transmembranaire peut également être phosphorylée afin d'être acheminée vers les jonctions serrées et augmenter la fonction de barrière. Toutefois, la phosphorylation de l'OCDN par la casein kinase 2 (CK2) entraîne une diminution de l'intégrité des jonctions serrées. Il est donc admis que la modulation de la perméabilité de la barrière intestinale résulte d'une dynamique qui repose sur des modifications post-traductionnelles des protéines de jonction serrées impliquant différentes enzymes (Shigetomi et Ikenouchi 2018). Cette modulation passe également par la régulation du niveau de phosphorylation de la protéine myosin light chain (MLC). Lorsque celle-ci est phosphorylée par la MLC kinase (MLCK), il en résulte un relâchement de la barrière et une augmentation de la perméabilité paracellulaire. À l'inverse, la déphosphorylation de la MLC par la MLC phosphatase (MLCP) provoque une contraction des jonctions serrées, ce qui réduit la perméabilité paracellulaire. Ces modifications font intervenir les ions calcium Ca^{2+} . L'activation de la phospholipase C β (PLC β) active la phosphokinase C (PKC) qui induit une sensibilisation au calcium de la cellule avec, pour résultat, une inhibition de la MLCP. Les ions Ca^{2+} vont se fixer sur la calmoduline (CaM) et ce complexe Ca^{2+} -CaM va activer la MLCK. Les voies PKC et CaM sont donc à l'origine de l'augmentation de la perméabilité intestinale.

L'activation de la voie PI3K/Akt (phosphatidylinositol 3-kinase) est responsable de l'inhibition de la synthèse de la CLDN et participe également au relâchement de la barrière intestinale (Kim et Kim 2017).

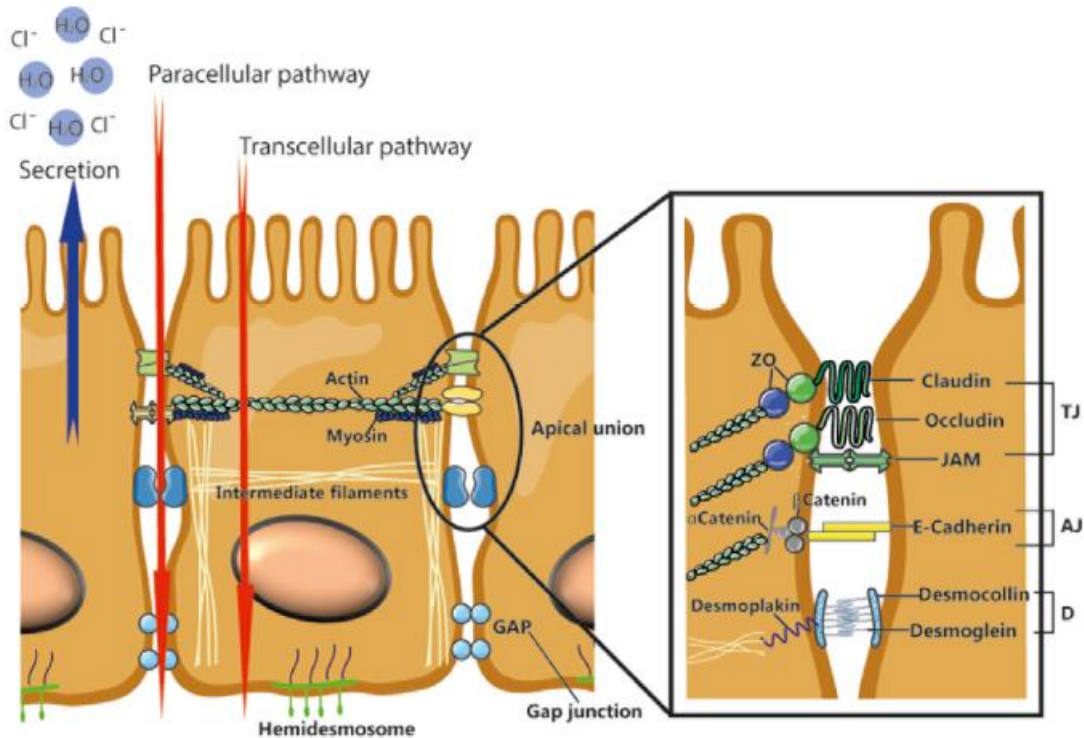


Figure 11 : Structure des jonctions serrées intestinales.

D'après Salvo Romero et al. 2015 : *The intestinal barrier function and its involvement in digestive disease*.

La perméabilité intestinale des patients anorexiques peut être évaluée par ingestion d'un mélange de lactulose et de mannitol. Une excrétion urinaire élevée de lactulose témoigne d'un passage important de ce composé dans le sang et, indirectement, d'une perméabilité paracellulaire intestinale élevée. Contrairement à ce qui pourrait être attendu, le test lactulose/mannitol a montré que l'excrétion du lactulose était moins importante chez les patientes anorexiques que chez des personnes saines (P. Monteleone et al. 2004). À l'inverse, une étude récente a mis en évidence une augmentation de la zonuline plasmatique chez 35,29% des patientes anorexiques, ce qui témoigne d'une augmentation de la perméabilité intestinale (S. Mörkl et al. 2018).

Un nouvel acteur est de plus en plus étudié ces dernières années et apporte un éclairage nouveau sur la pathologie : le microbiote intestinal. Il apparaît de plus en plus impliqué dans nombre de fonctions digestives et cognitives en conditions physiologiques ou lors de pathologies mentales

(Dinan et Cryan 2017a; 2017b; H.-X. Wang et Wang 2016), ce qui en fait une piste d'étude prometteuse pour la compréhension de l'anorexie mentale.

2) Implication du microbiote et de ses métabolites

L'intégration du microbiote intestinal dans le développement et le maintien des TCA en particulier, et des pathologies mentales en général, est encore très récent. Mais il s'avère que cette piste est prometteuse pour améliorer les thérapies pour l'anorexie mentale où le taux de rechute reste important sans que les causes ne soient encore bien comprises. Depuis plusieurs années, l'étude des populations d'entérobactéries et de leurs métabolites chez des patients anorexiques a permis d'affiner notre compréhension de la maladie.

Les bactéries Gram négatives produisent des peptides appelés lipopolysaccharides (LPS) dont la présence dans la circulation sanguine entraîne une réaction inflammatoire. Cet effet passe par les récepteurs Toll-Like (TLR), notamment le TLR-4, que ce soit dans l'intestin ou dans l'hypothalamus. Le LPS se fixe sur les récepteurs TLR-4 dans l'intestin et l'hypothalamus dont l'action inflammatoire est médiée par MyD88 et STAT-3 comme le montre une étude faite sur un modèle de souris (Yamawaki et al. 2009). En plus de son rôle pro-inflammatoire, le LPS est capable d'induire un état anorexique dans un modèle murin en agissant sur l'hypothalamus et notamment le NPY (Ilyin et al. 1998). Une diminution de l'intégrité de la barrière intestinale pourrait donc avoir un effet sur le maintien de l'anorexie via le LPS.

Mörkl *et al.* ont analysé et comparé le microbiote de personnes anorexiques, obèses et athlétiques à partir d'échantillons fécaux par l'analyse de l'abondance de la sous-unité ribosomique 16S caractéristiques des bactéries (ARN 16S) avec la base de données QIIME (Sabrina Mörkl et al. 2017). Il en ressort que chez les anorexiques, la diversité alpha, c'est-à-dire le nombre d'espèces différentes, est globalement diminuée. En parallèle, la population bactérienne de la famille des *Coriobacteriaceae* est augmentée. Or, il a été montré chez la souris qu'il y a une augmentation anormale de la prolifération de ces bactéries en réponse au stress. Il s'agit là d'une piste intéressante compte tenu de la forte prévalence des troubles anxio-dépressifs chez ces patients. Des analyses en RT-PCR ont montré que l'abondance des bactéries de la famille *Lactobacillus* est augmentée chez les patients anorexiques, de même que les bactéries du genre *Methanobrevibacter smithii* (Armougom et al. 2009). Les auteurs de ces travaux émettent l'hypothèse qu'il pourrait s'agir d'un mécanisme adaptatif à une restriction calorique sévère.

Les entérobactéries dégradent les fibres alimentaires que nous sommes incapables de digérer pour en tirer les substrats énergétiques nécessaires à leur métabolisme. Les composés synthétisés à partir de ces fibres sont appelés acides gras à chaîne courte (AGCC). La mesure de la dépense énergétique au repos (DER) ainsi que la prise de carbohydrates sont diminuées chez les personnes anorexiques comme l'ont montré Speranza *et al.* alors que la quantité de fibres est la même que chez le groupe contrôle de leur étude (Speranza *et al.* 2018). Les auteurs ont observé que les quantités de butyrate et de propionate, des AGCC, étaient plus faibles dans les échantillons fécaux du groupe anorexique. Là encore, il s'agirait, d'après les auteurs, d'un mécanisme d'adaptation à la faible prise de carbohydrates, notamment d'amidon dont l'ingestion aboutit à une augmentation de la production d'AGCC.

Morita *et al.* ont comparé, via l'analyse des ARN 16S et 23S, les microbiotes fécaux de personnes saines avec ceux de patients anorexiques, en faisant la distinction entre les patients de type purgatif et ceux de type restrictif afin de vérifier si un profil de dysbiose particulier les caractérisait (Morita *et al.* 2015). Comparés à leur groupe contrôle, les patients du groupe anorexique montrent une diminution des bactéries anaérobies strictes *Clostridium coccoïdes*, *Clostridium leptum* et *Bacteroides fragilis* ainsi que des bactéries anaérobies facultatives du genre *Lactobacillus plantarum*. La présence des bactéries de la famille des *Streptococcus* est également plus faible. La diminution de *Clostridium coccoïdes* est plutôt spécifique des anorexiques restrictifs. Les auteurs ont observé que, globalement, les quantités fécales d'acétate et de propionate sont plus faibles dans le groupe anorexique que dans le groupe contrôle, mais que la diminution de l'acétate se retrouve particulièrement chez les patients de type restrictif. Il y aurait donc un profil particulier de dysbiose en fonction du sous-type d'anorexie.

Si l'on reprend l'étude de Mörtl *et al.* sur l'étude de la zonuline, les auteurs ont remarqué qu'il y a une diminution des bactéries de la famille *Fecalibacterium* lorsque la zonuline plasmatique augmente (S. Mörtl *et al.* 2018). Or, ces bactéries sont de type Gram négatives produisant des AGCC dont l'effet est anti-inflammatoire.

Borgo *et al.* se sont intéressés au lien potentiel entre anorexie mentale, dysbiose et score psychopathologique (Borgo *et al.* 2017). Leurs résultats montrent chez leurs patients anorexiques, une augmentation des bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* et du genre *Methanobrevibacter smithii*. En parallèle, les populations des familles bactériennes *Roseburia*, *Ruminococcus* et *Clostridium* sont diminuées comme nous l'avons expliqué précédemment. Plus intéressant encore, ces bactéries sont des productrices d'AGCC et les auteurs observent une corrélation négative entre la quantité de butyrate et l'anxiété, ainsi qu'une corrélation

positive entre la quantité de propionate, témoin de l'abondance des bactéries de la famille *Roseburia* qui le produisent, et le taux d'insuline plasmatique. Ces résultats pourraient donc expliquer la persistance des profils anxio-dépressifs et de l'hypo-insulinémie chez les patients anorexiques. L'étude montre également que l'IMC corrèle négativement avec les bactéries du genre *Bacteroides uniformis*, le taux plasmatique en ALAT et les scores psychopathologiques (anxiété, dépression). L'IMC est aussi positivement corrélé au nombre de cellules immunitaires sanguines. Les auteurs proposent l'hypothèse que ces paramètres sont à prendre en compte pour les rechutes même après récupération complète.

Les bactéries potentiellement pathogènes semblent être présentes en plus grande quantité chez les patients anorexiques (Hanachi et al. 2018). Parmi ces bactéries pathogènes, les auteurs ont observé une augmentation des populations de *Klebsiella* et *Salmonella*. Comme évoqué précédemment, l'abondance des bactéries de la famille *Roseburia* est diminuée, de même que celle des *Eubacterium*. Ces deux dernières familles sont impliquées dans la balance immunitaire, ce qui montre le lien très étroit entre le microbiote et le système immunitaire. Les résultats mettent au jour l'existence d'une association entre la dysbiose et la sévérité des TFI chez les personnes anorexiques.

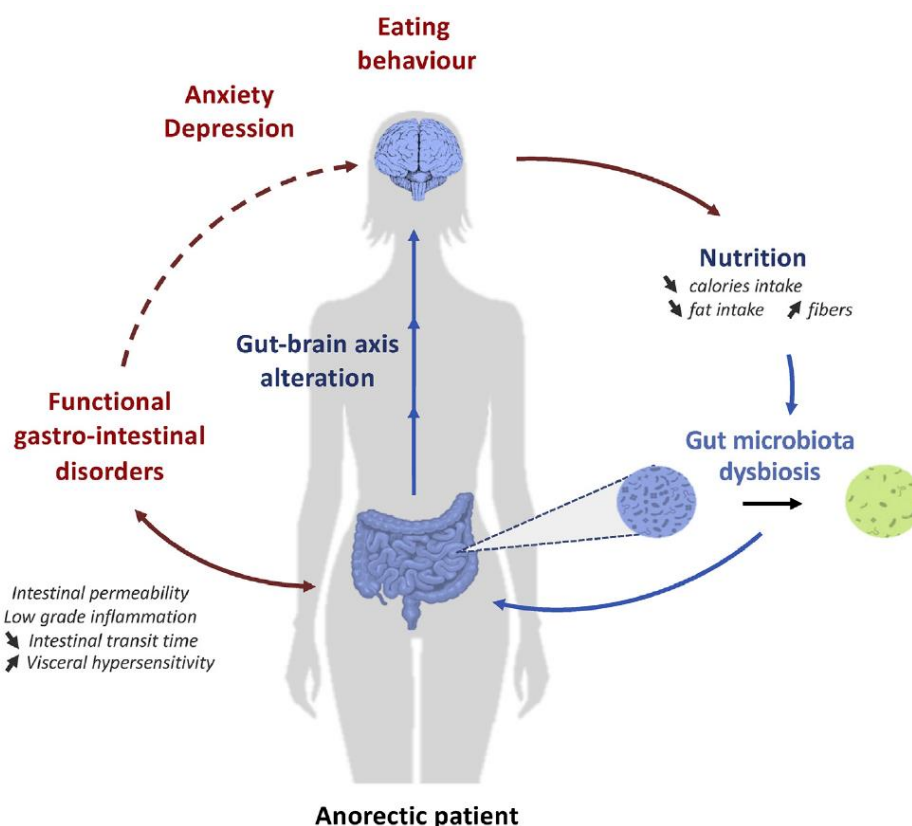


Figure 12 : Place de l'axe intestin-cerveau-microbiote dans l'anorexie mentale.

D'après Breton et al. 2019 : *Intestinal microbiota and Anorexia Nervosa*.

En analysant les différentes études sur le microbiote intestinal et l'anorexie mentale, il apparaît que bon nombre d'altérations physiologiques sont reliées à la dysbiose présente chez les patients anorexiques. D'autres études se sont intéressées à des bactéries en particulier comme cibles de potentiels traitements. C'est le cas d'*Akkermansia muciniphila*, une entrérobactérie dont l'un des rôles est de dégrader le mucus intestinal. Ce mucus a pour fonction de limiter le contact direct entre les bactéries commensales et les entérocytes ou les colonocytes afin d'éviter une réponse immunitaire trop importante. Cependant, il est nécessaire qu'un contact direct très léger soit maintenu pour établir une communication entre l'organisme et le microbiote intestinal et entretenir ainsi la prolifération des cellules épithéliales.

Au-delà de la simple compréhension des mécanismes cérébraux, intestinaux et hormonaux impliqués dans l'apparition et/ou le maintien de l'anorexie mentale, les résultats obtenus dans les études cliniques et fondamentales ont aussi pour but d'optimiser les protocoles de prise en charge. L'acceptation d'une prise en charge médicale par les personnes anorexiques, et en particulier d'une renutrition, peut s'avérer difficile en raison d'un déni de la maladie, d'une peur de la reprise de poids ou de troubles digestifs associés. C'est pourquoi les recherches doivent se concentrer sur des pistes favorisant une reprise de poids efficace en évitant les complications et en limitant les risques de rechute.

E) La prise en charge nutritionnelle

1) La renutrition

La renutrition est une étape importante dans la prise en charge des personnes anorexiques et le protocole à mettre en place dépend fortement des antécédents du patient afin d'apporter une réponse adaptée. Il est donc nécessaire de connaître les mécanismes qui entrent en jeu lors de cette phase. Le but premier de la renutrition est la reprise de poids et l'amélioration de la composition corporelle pour limiter les complications associées à cette dénutrition. Après un laps de temps relativement court, une augmentation sensible du poids est généralement observée chez les patients avec une hausse de la masse maigre et de la masse grasse. Cependant, ces deux paramètres ne sont pas affectés de la même manière en fonction de la partie du corps considérée. Après une restauration complète du poids, la région abdominale est la plus impactée par la reprise de masse grasse, alors que les extrémités, comme les bras et les jambes, sont nettement moins touchées par cette augmentation de masse grasse (M. El Ghoch et al. 2014).

Ce constat est observé à la fois pour une restauration complète du poids à court terme et à long terme. La masse grasse totale reste toutefois dans des valeurs normales selon la tranche d'âge considérée et cette adiposité abdominale tend à s'atténuer avec le temps pour aboutir à une répartition plus homogène sur l'ensemble du corps (Marwan El Ghoch et al. 2014). Il s'agit donc d'un phénomène transitoire. La valeur de l'IMC pourrait également être un marqueur important. En effet, les personnes anorexiques avec un IMC inférieur à 16,5 kg/m² ont une masse maigre plus faible dans les extrémités que les patients avec un IMC supérieur à 16,5 kg/m². Une renutrition de court terme est également suffisante pour normaliser la masse maigre. Ces observations démontrent aussi que, malgré un épisode de dénutrition extrême, les mécanismes permettant la régulation de la composition corporelle et du poids sont toujours fonctionnels (Marwan El Ghoch et al. 2014). Toutefois, bien que le poids, la masse grasse et la masse maigre puissent être normalisés rapidement, la quantité de protéines, après 7 mois de renutrition, semble ne pas être entièrement restaurée et sous-entend que certains mécanismes restent défaillants (Haas et al. 2018). Concernant la densité minérale osseuse, après trois ans de suivi et une reprise de poids significative, la DMO n'est toujours pas restaurée (Achamrah, Coëffier, et al. 2017) et la masse grasse semble avoir un lien avec l'amélioration de celle-ci. Ces différentes observations montrent donc que, malgré une restauration du poids, partielle ou totale, certains troubles de la composition corporelle persistent. Qu'en est-il des troubles gastro-intestinaux ?

Comme nous l'avons explicité précédemment, l'anorexie mentale se caractérise par de nombreuses atteintes du tractus gastro-intestinal, que ce soient des troubles fonctionnels, des altérations des fonctions endocrines intestinales ou des organes qui y sont associés comme le foie et le pancréas. Les taux de PYY et de ghréline sont particulièrement élevés chez les personnes anorexiques. Une renutrition sur une période d'une semaine améliore les taux plasmatiques de PYY₃₋₃₆ et de la ghréline mais sans que ceux-ci ne soient normalisés. En revanche, l'insulinémie et la glycémie retrouvent des valeurs normales (Nakahara et al. 2007). Toutefois, dans une autre étude, après deux semaines de renutrition, bien que le taux de PYY diminue, sans être normalisé, celui de la ghréline ne change pas (Heruc et al. 2018). La diminution du taux de ghréline ne surviendrait pas avant une restauration complète du poids (A. M. Monteleone et al. 2016). Contrairement au PYY, le taux plasmatique de la CCK n'est pas modifié chez les patients anorexiques. Cependant, lors de la phase de renutrition, ce taux augmente mais uniquement de façon transitoire avant de revenir à des valeurs normales (Cuntz et al. 2013). Il faut noter également que l'hyposensibilité des cellules L à une injection de

somatostatine chez les personnes anorexiques disparaît après renutrition. En effet, une injection de somatostatine chez des patients ayant une récupération complète entraîne à nouveau une inhibition de la sécrétion de PYY. Enfin, l'autophagie hépatique, considérée comme un facteur de gravité, est rapidement diminuée après le début du protocole de renutrition (Rautou et al. 2008).

En plus de favoriser la normalisation de la sécrétion des entéro-hormones, la renutrition a aussi des effets bénéfiques sur les TFI. Lorsque l'IMC devient supérieur à 17,5 kg/m², le temps de vidange gastrique des patients anorexiques commence à diminuer et cette observation s'accompagne d'une diminution de la sensation de ballonnement et une augmentation de la sensation de faim (Bluemel et al. 2017). Ces observations semblent contradictoires avec celles de Heruc *et al.* mais il n'est question que d'une diminution des sensations de ballonnement, pas d'une disparition complète. Enfin, les troubles des glandes salivaires disparaissent également après la normalisation du poids (Schalla et Stengel 2019). L'anorexie mentale affectant le système nerveux central, les effets de la renutrition sur ces paramètres ont aussi été étudiés.

Nous avons évoqué précédemment qu'il existait une diminution de l'épaisseur du cortex chez les patients anorexiques. Mais celle-ci est rapidement restaurée (environ 3 mois) après un regain de poids (Bernardoni et al. 2016). Cette augmentation de l'épaisseur du cortex est très probablement induite par la réhydratation et/ou un retour de la prolifération des cellules cérébrales. Toutefois, les anomalies structurelles observées chez les patients anorexiques ne dépendent pas du niveau d'hydratation. Après renutrition avec un poids normalisé, des troubles de l'apprentissage persistent chez les personnes anorexiques. Néanmoins, la conduction du signal lors d'un stimulus provoqué par un élément de nouveauté est identique entre personnes saines et anciens patients anorexiques, ce qui démontre que la persistance de ce trouble n'est pas induite par une altération structurelle. Il faut ajouter à ce constat que plus la phase anorexique est longue, plus le défaut d'apprentissage persistant est important (Foerde et Steinglass 2017). D'autres études tendent à démontrer que la persistance des différents troubles pourrait trouver son origine dans des altérations persistantes de l'hypothalamus. Bien que l'aménorrhée ne soit plus un critère diagnostique de l'anorexie mentale, elle reste un paramètre étudié et pris en compte au titre de facteur de gravité. La survenue de l'aménorrhée est un mécanisme de préservation majoritairement provoqué par un poids trop faible. Malgré une reprise de poids stable, la persistance de l'aménorrhée serait donc le signe d'une perturbation hypothalamique en dépit de sécrétions en LH et FSH normales. Les mécanismes sous-jacents ne sont pas connus mais il semble que l'IMC ne puisse pas être corrélé avec le rétablissement

des menstruations qui nécessiterait un maintien du poids sur une longue durée. En parallèle, un léger trouble de la régulation de la sécrétion en cortisol après renutrition est également présent (Andrisani et al. 2017). La persistance des troubles anxieux après la prise en charge et le rétablissement d'un poids normal est aussi un facteur de gravité. Un déficit en ocytocine pourrait être la cause de ces perturbations. L'ocytocine est une hormone sécrétée par l'hypothalamus et qui est connue pour réduire l'anxiété. Un taux plus faible que la normale est parfois observé chez des patients après renutrition. Cette faible sécrétion en ocytocine est corrélée avec la présence de troubles anxieux persistants chez des personnes anorexiques avec une récupération partielle (Afinogenova et al. 2016). Ces différentes données semblent indiquer que l'hypothalamus serait impliqué dans la présence résiduelle de troubles anxieux après la phase de renutrition. En parallèle, le recours à l'imagerie médicale a permis de mettre en évidence, lors de la phase de renutrition, une altération persistante du récepteur sérotoninergique 5-HT-1A qui n'affecte que les patientes anorexiques restrictives mais pas les purgatives. Là aussi, ces observations, en plus de confirmer l'influence importante du sous-type d'anorexie, pourraient indiquer que les voies sérotoninergiques sont impliquées dans l'étiologie précoce de la maladie (Bailer et al. 2005). La voie dopaminergique est aussi pressentie pour avoir un rôle dans la persistance des troubles anxieux en dépit de données contradictoires. L'utilisation d'un agoniste du récepteur D2 de la dopamine, l'aripiprazole, entraîne une augmentation de l'IMC (Frank et al. 2017). À l'inverse, la stimulation de la voie dopaminergique via les récepteurs D2 et D3 de la dopamine dans le noyau caudé et le striatum antéroventral, serait responsable de la persistance de troubles anxieux importants après renutrition (Bailer et al. 2017). Il est possible que ces effets contradictoires soient en réalité dépendants des zones cérébrales qu'ils activent. Un même neurotransmetteur peut en effet avoir une action activatrice ou inhibitrice en fonction du récepteur sur lequel il se fixe et de la zone cérébrale impliquée.

La piste du microbiote intestinal est aussi évoquée. Comme nous l'avons décrit, il existe une perte de diversité alpha dans le microbiote des patients anorexiques, qui est corrélée à la présence et à la gravité des troubles anxieux. Or, cette altération de la diversité est encore présente après renutrition ce qui pourrait expliquer la persistance d'un caractère anxieux ou dépressif chez les anciens patients anorexiques (Kleiman et al. 2015). Une augmentation de la richesse du microbiote peut aussi être observée après la renutrition. L'un des rôles du microbiote est de dégrader des carbohydrates insolubles ou des fibres afin de produire différents métabolites dont les acides gras à chaîne courte. L'altération du microbiote intestinal chez les

patients anorexiques conduit à une baisse de la production des AGCC et plus particulièrement du butyrate qui sert de substrat énergétique pour les colonocytes. Cette faible production en AGCC n'est pas restaurée après renutrition et un basculement vers une fermentation protéique produisant des acides gras à chaîne ramifiée (BCFA). Il faut également prendre en compte que le sous-type d'anorexie est important dans ces observations puisque les altérations du microbiote ne sont pas les mêmes entre anorexie mentale restrictive et purgative (Mack et al. 2016).

À la lumière de ces observations, il est évident que, même si de grandes lignes se dessinent, une renutrition optimale ne peut se faire que via une bonne connaissance du profil du patient avec la mise en place d'un protocole personnalisé.

Hypophosphatemia	Hypokalemia	Hypomagnesemia	Vitamin/Thiamine Deficiency	Sodium Retention
Impaired oxygen transport and delivery, hypoxia Impaired cardiac function Impaired diaphragm contractility Respiratory failure Paresthesias Weakness Lethargy Somnolence Confusion Disorientation Restlessness Encephalopathy Areflexic paralysis Seizures Coma Death	Nausea Vomiting Constipation Weakness Paralysis Respiratory compromise Rhabdomyolysis Muscle necrosis Alterations in myocardial contraction Electrocardiograph changes ST-segment depression T-wave flattening T-wave inversion Presence of U-waves Cardiac arrhythmias Atrial tachycardia Bradycardia Atrioventricular block Premature ventricular contractions Ventricular tachycardia Ventricular fibrillation Sudden death	Weakness Muscle twitching Tremor Altered mental status Anorexia Nausea Vomiting Diarrhea Refractory hypokalemia and hypocalcemia Electrocardiograph changes Prolonged PR Widened QRS Prolonged QT ST depression Peaked T-wave T-wave flattening Cardiac arrhythmias Atrial fibrillation Torsade de pointes Ventricular arrhythmias Ventricular tachycardia Tetany Convulsions Seizures Coma Death	Encephalopathy (eg, Wernicke-Korsakoff encephalopathy) Lactic acidosis Death	Fluid overload Pulmonary edema Cardiac decompensation

Figure 13 : Conséquences du syndrome de renutrition inappropriée.

D'après Kraft et al. 2005 : *Review of the Refeeding Syndrome*

La renutrition chez les personnes anorexiques est une étape cruciale. La persistance des troubles anxieux et des TFI, en plus d'une restauration incomplète de la masse protéique et de la composition corporelle, bien que transitoire et en dépit du maintien à long terme d'un poids normal, incite à concevoir l'optimisation des produits de renutrition via l'ajout de nutriments spécifiques qui pourraient améliorer ces troubles persistants. Ces optimisations pourraient être mises en place après l'élimination du risque du syndrome de renutrition inappropriée (SRI) (Boateng et al. 2010; Kraft, Btaiche, et Sacks 2005), Afin d'éviter le SRI, une renutrition progressive avec une sonde nasogastrique (SNG) est la méthode préconisée (Rizzo, Douglas,

et Lawrence 2019; Gentile et al. 2010). Dans ce travail de thèse, les pistes d'optimisation concernent les apports azotés et en particulier certains acides aminés spécifiques.

La glutamine (Gln) est connue pour avoir des effets bénéfiques dans différentes pathologies intestinales, ou non, et les acides aminés branchés (BCAA) sont souvent utilisés par certains sportifs en raison de leurs effets anabolisants sur les muscles squelettiques. Ces acides aminés sont donc de bons candidats pour tenter d'améliorer les produits utilisés en renutrition clinique chez les personnes anorexiques afin de restaurer plus efficacement la composition corporelle et les fonctions intestinales.

2) Place des acides aminés : la glutamine

En raison de leur renouvellement rapide et de leur fonction, les entérocytes ont des besoins énergétiques très importants. Le principal substrat énergétique des entérocytes est la Gln, et il en va de même pour les autres cellules à division rapide comme les cellules immunitaires. Les atteintes intestinales et immunitaires induites par l'anorexie mentale laissent donc supposer que la Gln pourrait être efficace pour rétablir ces différentes fonctions.

a) Rôle de la glutamine dans la prolifération des cellules intestinales

Le métabolisme de la Gln permet de fournir en azote et en carbone les cellules qui l'utilisent. Elle est à la base de la formation, dans les cellules intestinales, des bases puriques et pyrimidiques utilisées pour la synthèse de l'ADN lors de la division cellulaire (G. Wu 1998). Chez des souris âgées de trois semaines, la supplémentation en Gln par l'eau de boisson à la dose de 10mg/mL (1%) pendant deux semaines induit une augmentation de la prolifération des cellules souches des cryptes dans l'iléon (S. Chen et al. 2018). Les auteurs ont observé que chez les souris supplémentées en Gln, l'expression de Lgr5 (Leucine-rich repeat-containing g-protein coupled Receptor 5), un marqueur des cellules souches chez l'adulte, et celle de Ki67, un marqueur de la prolifération cellulaire, étaient augmentées. Les cellules pluripotentes humaines ne peuvent pas survivre en l'absence de Gln. En effet, en l'absence de glucose, l'oxydation de la Gln augmente dans les cellules pluripotentes afin de fournir suffisamment d'ATP. Dans les mitochondries, la Gln est désaminée par la glutaminase (GLS) pour donner du glutamate (Glu). Cette transformation est réversible grâce à la glutamine synthétase (GS) qui

permet de produire de la Gln à partir de Glu. Un fois le Glu produit, il est transformé par la glutamate déshydrogénase (GDH) et donne de l' α -céto-glutarate (α -KG) qui entrera dans le cycle de Krebs (ou cycle de l'acide citrique) pour réagir avec le pyruvate afin de produire de l'énergie (Xiao et al. 2016). Cependant, en absence de glucose, l' α -KG issu de la transformation successive de la Gln est capable de fournir à la cellule l'énergie nécessaire à la synthèse d'ATP alors que le pyruvate seul n'y parvient pas (Tohyama et al. 2016) ce qui montre bien le caractère indispensable de la Gln en cas de restriction calorique pour le maintien de la prolifération cellulaire. En plus de favoriser la prolifération cellulaire, la Gln améliore la survie des cellules en étant l'un des substrats nécessaires à la synthèse de glutathione (GSH). Le Glu, obtenu par l'action de la GLS sur la Gln, est couplé à de la cystéine par la Glutamate-Cystéine Ligase (GCL) pour donner du γ -glutamyl-cystéine. Ce dernier est ensuite combiné avec de la glycine par la glutathione synthétase pour produire du GSH. La quantité de GSH est plus importante dans les cryptes par rapport aux autres zones des villosités intestinales. Chez des rats Wistar supplémentés avec 4% de Gln dans l'alimentation, le taux de GSH augmente dans les cryptes, la zone intermédiaire et l'apex des villosités par rapport à des animaux contrôles. Cette augmentation est accompagnée par celle de la GCLM (Glutamate-Cystéine Ligase regulatory Modifier subunit), responsable de la synthèse de GSH, et du facteur de transcription Nrf-2 (Venoji et al. 2015).

La prolifération des cellules épithéliales intestinales est nécessaire pour le maintien de la fonction de barrière intestinale mais celle-ci repose également sur la synthèse des protéines des jonctions serrées.

b) Glutamine et barrière intestinale

Sur des cultures de cellules intestinales humaines issues de biopsies, la présence d'acétaldéhyde a pour effet de détruire les jonctions serrées. Cependant, lorsque l'on ajoute de la Gln à ces cultures, la synthèse d'OCDN, de ZO-1, des E-cadhérines et de la β -caténine sont restaurées (Basuroy et al. 2005). L'absence de Gln dans des cultures de cellules intestinales Caco-2 a pour effet d'activer la voie PI3K/Akt ce qui entraîne une diminution de l'expression de la CLDN-1 et de la résistance électrique transépithéliale (TER), signe d'une augmentation de la perméabilité paracellulaire. Cependant, l'ajout d'un inhibiteur de PI3K permet de restaurer la TER.

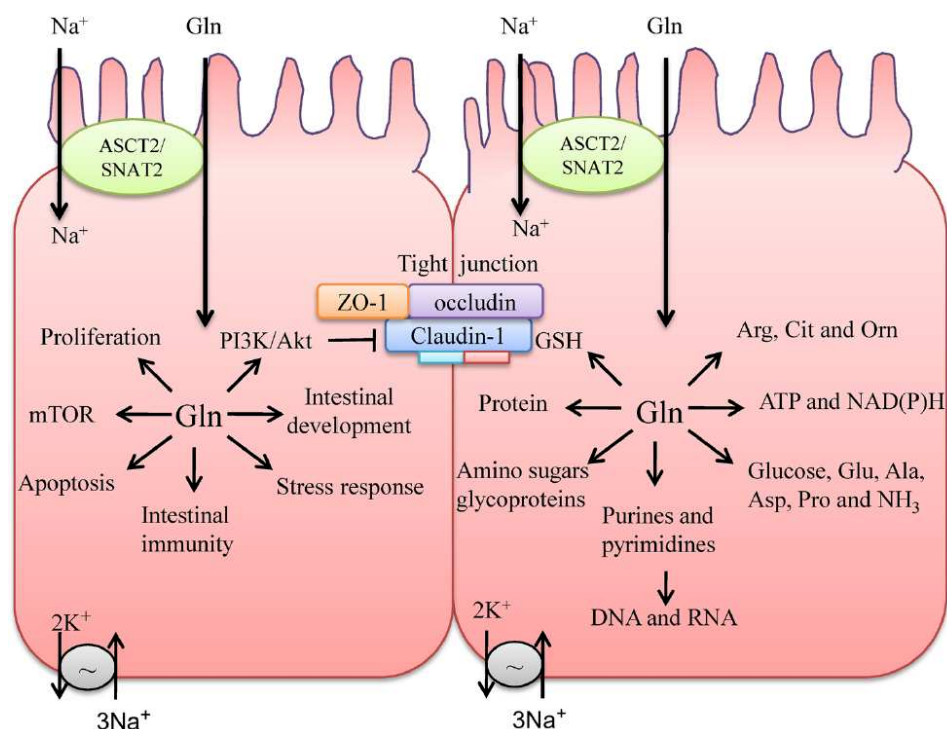


Figure 14 : Rôle de la glutamine dans le métabolisme des cellules épithéliales intestinales.

D'après Wang et al. 2015 : *Glutamine and intestinal barrier function*.

La Gln favorise donc la synthèse des protéines de jonctions serrées en inhibant la voie PI3K/Akt (Kim et Kim 2017). La transplantation de cellules souches hématopoïétiques a pour effet d'induire une inflammation qui affecte l'intégrité de la barrière intestinale. Chez la souris, après transplantation, la supplémentation en Gln améliore nettement la fonction de barrière de l'intestin en augmentant la synthèse de l'OCDN et en diminuant l'apoptose des cellules souches des cryptes (Noth et al. 2013). Mais les auteurs notent également que le taux de TNF- α est diminué, ce qui sous-entend que la Gln a un effet anti-inflammatoire.

c) Inflammation

Tout comme les entérocytes, la Gln constitue le principal substrat énergétique des cellules immunitaires. La mise en place d'une nutrition parentérale induit une diminution de la sécrétion de la mucine-2 (MUC-2), le composant principal de la couche de mucus intestinal, ainsi que du lysozyme, une enzyme spécialisée dans la dégradation des bactéries Gram positives. La supplémentation en Gln a pour effet d'augmenter la synthèse de MUC-2 et du lysozyme tout en augmentant la sécrétion des IL-4, IL-10 et IL-13 (X. Wang et al. 2015). L'IL-4 et l'IL-13 sont des interleukines favorisant la réponse humorale Th2, c'est-à-dire une augmentation de l'activité immunitaire innée. De plus, l'IL-10 est connue pour son action anti-inflammatoire.

La supplémentation en Gln augmente l'expression de la GCLM. Or, une étude a montré que la perte de synthèse *de novo* de la GCLM était associée à une diminution des LTh17 et des lymphocytes T régulateurs (LTreg). Cependant, le glutamate (Glu) issu du catabolisme de la Gln restaure en partie la différenciation LTh17 et LTreg (Lian et al. 2018) ainsi que la synthèse de GSH via la GCLM. Ces résultats confortent le fait que la Gln possède un effet anti-inflammatoire et anti-oxydant. Comme nous l'avons indiqué précédemment, la barrière intestinale comporte des IgA qui servent à la neutralisation des pathogènes. Une étude chez des souris a montré qu'une supplémentation en Gln via la nourriture induisait une augmentation de la forme sécrétoire de ces IgA (sIgA) dans l'intestin (M. Wu et al. 2016). Les auteurs observent également une augmentation de l'IL-5, IL-6 et IL-13 ainsi que du taux en ARNm codant pour les protéines de la famille du TGF- β , un facteur de croissance. L'injection d'anticorps anti-IL-13 ou l'utilisation d'antibiotiques annulent ces résultats. Ces observations font échos aux résultats trouvés au sein du laboratoire qui mettent en avant l'importance du signal TLR-4, notamment dans le cadre du syndrome de l'intestin irritable (SII). Les patients atteints de cette pathologie ont une augmentation de l'expression des TLR-2 et TLR-4 dans les colonocytes provoquant une augmentation de la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires IL-1 β et IL-8 (Belmonte et al. 2012). Le complexe protéique NF- κ B (nuclear factor-kappa B) est connu pour son rôle pro-inflammatoire. Son inhibiteur, I κ B (Inhibitor of κ B), est stabilisé par la Gln ce qui favorise la diminution de l'action de NF- κ B qui se traduit par une baisse de l'inflammation (Kim et Kim 2017). Cet effet de la Gln confirme donc son rôle anti-inflammatoire. Chez des porcs sevrés, la supplémentation en Gln montre aussi une amélioration de la réponse immunitaire avec une augmentation de la sécrétion d'IgG et d'IgM. De plus, chez ces animaux supplémentés l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) est diminuée, témoignant d'un stress oxydant plus faible (Lv et al. 2018).

Il est intéressant de noter que l'effet anti-inflammatoire et anti-oxydant de la Gln semble s'effectuer, en partie, par le biais de voies impliquant le microbiote intestinal.

d) Influence de la glutamine sur le microbiote intestinal

Bien que les cellules intestinales et immunitaires soient capables de métaboliser la Gln, cette dernière semble également avoir un effet sur le métabolisme du microbiote. Dai *et al.* ont cultivé des bactéries issues de l'intestin de porcs, *Streptococcus*, *Escherichia coli* et *Klebsiella*. L'ajout de Gln dans le milieu de culture a diminué nettement le métabolisme de l'asparagine, de la

lysine, de la valine, de la leucine, de l'ornithine et de la sérine des bactéries issues du jéjunum et de l'iléon (Dai et al. 2013). Cette modulation du catabolisme des bactéries du microbiote intestinal par la Gln pourrait expliquer l'inhibition de la translocation bactérienne observée par Wang *et al.* (X. Wang et al. 2015). L'inhibition de la translocation bactérienne dans un modèle de pancréatite associée à l'augmentation de la TER avec réduction du passage du mannitol lors d'une supplémentation en Gln dans un modèle murin a aussi été observée (Foitzik et al. 1999). En revanche, une autre étude a montré que la supplémentation en Gln, dans un modèle d'obstruction intestinale, diminuait le développement des bactéries *Escherichia coli* mais qu'elle n'avait pas d'effet sur leur translocation (Salvalaggio et al. 2002).

Les dernières années ont vu l'émergence de la communication de l'axe intestin-cerveau dans différentes pathologies, notamment les TCA. Si l'on considère les effets bénéfiques de la supplémentation en Gln sur l'intestin, il pourrait en être de même pour le système nerveux central.

e) Implication dans le système nerveux central

La Gln est le précurseur de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA). Le GABA est un neurotransmetteur particulièrement important. Une fois excrété dans la fente synaptique, le GABA est recapturé par les astrocytes, transformé en succinyl-CoA avant d'être intégré dans le cycle de Krebs pour resynthétiser de la Gln. Cette dernière sera excrétée par l'astrocyte et recapturée par le neurone pré-synaptique avant d'être convertie en Glu qui donnera ensuite du GABA à nouveau. Ce recyclage peut également faire intervenir l'enzyme ALAT (Bak, Schousboe, et Waagepetersen 2006). La perte de l'activité de la glutamine synthétase a été observée dans le cadre de maladies neurodégénératives. La perte neuronale dans ces maladies semble être liée proportionnellement à l'intensité de la baisse de l'activité de la GS dans les astrocytes (Papageorgiou et al. 2018). De plus, dans la maladie d'Alzheimer, les taux de Gln et Glu sont diminués simultanément, ce qui se traduit par une diminution de la synthèse de GABA perturbant ainsi les signaux inhibiteurs et excitateurs (Huang et al. 2017). Le GABA est un inhibiteur des émotions négatives et la diminution de l'activité des neurones GABAérgiques favorise l'apparition de troubles anxio-dépressifs (Kalueff et Nutt 2007), ce qui est particulièrement intéressant pour l'étude de l'anorexie mentale.

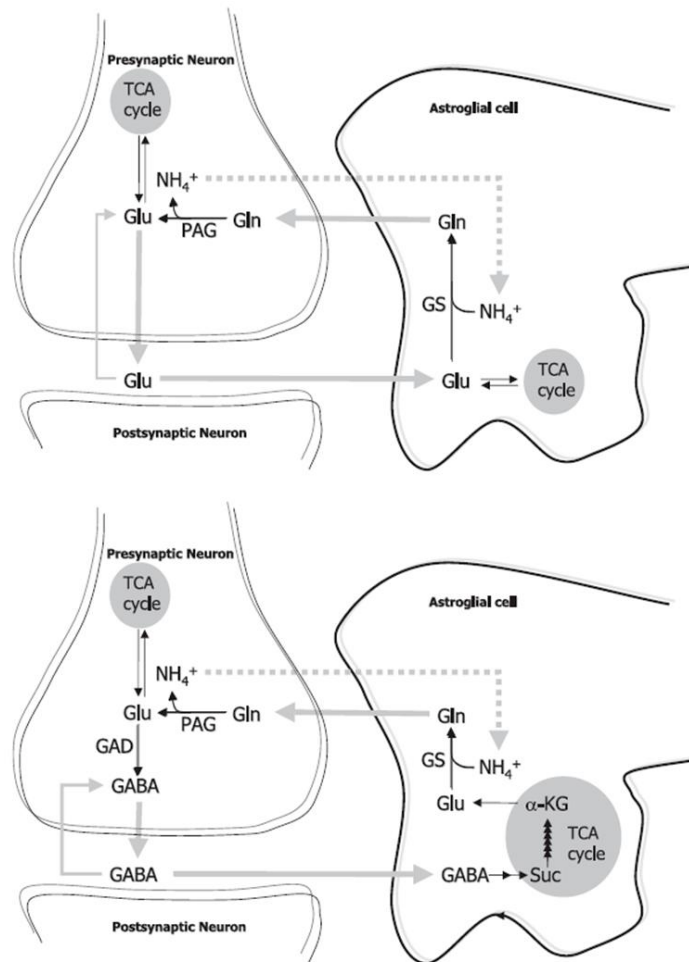


Figure 15 : Métabolisme de la Gln, du Glu et du GABA dans le système nerveux central.

D'après Bak et al. 2006 : *The glutamate/GABA-glutamine cycle: aspects of transport, neurotransmitter homeostasis and ammonia transfer.*

Un autre point d'intérêt est la BHE. En effet, cette barrière possède les mêmes protéines de jonctions serrées que l'intestin. Il a été montré que l'augmentation de la perméabilité de la BHE favorise l'apparition de dysfonctions dans la prise de décision concernant la prise alimentaire (Matsumoto et al. 2017). Là encore, ce dernier point est particulièrement intéressant pour la compréhension de la pathologie. Une supplémentation en Gln pourrait donc tout à fait améliorer la fonction de barrière de la BHE, si cette dernière est dysfonctionnelle, au même titre que celle de l'intestin.

Dans la plupart des études, la supplémentation en Gln d'un groupe n'étant pas atteint d'une pathologie particulière, en clinique comme en recherche fondamentale, ne semble pas bénéficier des effets observés dans les groupes malades. Cet état de fait tend à faire penser que la Gln n'est bénéfique que lors de la survenue de pathologies, ce qui en ferait un acide aminé conditionnellement essentiel.

f) La glutamine : un acide aminé conditionnellement essentiel

La Gln est l'acide aminé le plus présent dans le plasma comme dans les tissus et plus particulièrement les muscles squelettiques. Van Zanten *et al.* ont fourni une revue compilant les résultats d'études cliniques ayant utilisé la supplémentation en Gln chez des patients atteints de pathologies sévères comme des grands brûlés, des infections ou les séjours en soins intensifs. Après analyses des différents résultats, les auteurs concluent que la Gln n'a pas d'effet sur la mortalité, sauf une légère amélioration chez les grands brûlés, mais tend à réduire la durée des séjours à l'hôpital (van Zanten et al. 2015). À l'inverse, la Gln pourrait avoir des effets délétères sur le taux de mortalité dans les cas de défaillances multiples d'organes (Heyland et al. 2013). L'effet bénéfique de la Gln sur la durée des séjours hospitaliers a été retrouvé dans une autre méta-analyse. Les auteurs constatent que dans la majorité des études cliniques, l'impact réel de la supplémentation en Gln reste assez flou, ce qui les pousse à émettre l'hypothèse que des biais méthodologiques sont à l'origine de ces résultats mitigés. La mortalité lors de pathologies sévères pourrait cependant être prédite en analysant les taux plasmatiques en Gln. En effet, un taux en dessous de 400nmol/mL ou au-dessus de 700nmol/mL semble lié à l'augmentation de la mortalité d'après une étude récente (Tsujimoto et al. 2017).

Si la Gln a été considérée comme conditionnellement essentielle, c'est en partie en raison de la non couverture des besoins de l'organisme malgré l'augmentation de sa synthèse par les muscles dans les cas de pathologies sévères. Malheureusement, les données concernant les concentrations plasmatiques en Gln dans le cadre de l'anorexie mentale restent contradictoires. Une augmentation significative de 20% de la Gln circulante a été observée chez des patientes anorexiques (1310,2μM) par rapport à des personnes saines (1102,9μM) (Nakazato et al. 2010). Or, d'autres travaux n'ont mis en évidence aucune différence des taux plasmatiques en Gln entre patients anorexiques (287,27μM) et patients contrôles (263,17μM) (Palova et al. 2007). Les concentrations plasmatiques en Gln observées entre les deux études sont d'ailleurs très différentes. Il existe des mécanismes de conversion réciproque entre les BCAA et la Gln afin de subvenir à des besoins en Gln exceptionnellement élevés. Le lien entre la Gln et les BCAA pourrait faire de ces derniers des candidats intéressants pour une supplémentation dans le cadre de l'anorexie mentale.

g) Effets de la glutamine dans les autres pathologies intestinales

Si l'effet d'une supplémentation en Gln chez les personnes anorexiques reste peu étudié, cette supplémentation est bien documentée dans d'autres pathologies. Chez les rats Wistar, l'induction d'une colite par des instillations rectales de TNBS entraîne une inflammation avec une augmentation de l'expression d'ATF-4 et ATF-6 et des marqueurs apoptotiques comme la caspase 12. Ces effets sont diminués avec une administration intra-rectale d'une solution de Gln à la dose de 25mg/dL. Ces résultats ont aussi été observés avec l'ajout de Gln dans une culture de cellules Caco-2 (Crespo et al. 2012). Les traitements anti-cancéreux ont souvent des effets secondaires qui peuvent induire des réponses inflammatoires de l'intestin en raison de la vitesse de division élevée des cellules épithéliales intestinales. C'est le cas du méthotrexate (MTX) qui est utilisé pour induire une inflammation de la muqueuse intestinale dans les modèles cellulaires. L'ajout de MTX dans le milieu de culture de cellules Caco-2 entraîne une diminution de la TER qui est restaurée par une supplémentation en Gln ou en arginine (Arg) ainsi qu'avec une combinaison des deux, ce qui a pour effet de limiter la diminution de l'expression de ZO-1 et de l'OCDN (Beutheu et al. 2013). Cependant, dans beaucoup d'études sur des modèles cellulaires, les doses de Gln sont souvent très supérieures à ce qui est retrouvé en conditions physiologiques. Il est donc intéressant d'avoir une confirmation des résultats avec des modèles animaux.

Le MTX est aussi utilisé dans des modèles murins d'inflammation intestinale. L'augmentation de perméabilité paracellulaire jéjunale induite par le MTX chez le rat est améliorée par une supplémentation en Gln avec pour effet une restauration de l'expression de la CLDN-1 et de l'OCDN (Beutheu et al. 2014). Des rats mâles Sprague-Dawley ont reçu de la 5-fluorouracile (5-FU), un autre agent anti-cancéreux, avec ou sans Gln (1000mg/kg/jour). La supplémentation en Gln améliore la perte de poids, la prise alimentaire, la taille des villosités du jéjunum et favorise la production de sIgA (Takechi et al. 2014). Dans un modèle de colite chez des souris C57Bl/6, la Gln, administrée par gavage (0,75g/kg/jour) inhibe les effets inflammatoires induits par l'ajout de DSS dans l'eau de boisson à la dose de 3%. Cet effet est médié par l'inhibition de la phospholipase A2 (PLA2) par l'induction de la MAPK phosphatase-1 (MKP-1) (Jeong et al. 2018). Chez des rats avec une colite induite par du TNBS, l'instillation intra-rectale de Gln diminue l'ubiquitinylation de protéines mitochondriales, ce qui favorise leur survie et semble promouvoir globalement le métabolisme des cellules épithéliales (Bertrand et al. 2015). Chez la souris, l'utilisation de TNBS ou d'un protocole de stress par évitement de l'eau (water avoidance stress ou WAS) provoque une diminution de la fonction de barrière intestinale. Dans

ces deux modèles, la supplémentation en Gln permet de diminuer la perméabilité intestinale (Ghouzali et al. 2017).

La supplémentation en Gln a également été testée en clinique. Une étude américaine en double aveugle chez des personnes atteintes du syndrome de l'intestin irritable (SII) a évalué l'effet d'une supplémentation en Gln par voie orale à raison de 15g/jour en trois prises de 5g à la fois sur une durée d'une semaine. Les auteurs ont mesuré la perméabilité intestinale via le test au lactulose/mannitol. Il en résulte que le groupe ayant reçu la supplémentation en Gln a une perméabilité intestinale restaurée. De plus, les douleurs abdominales sont aussi diminuées (Zhou et al. 2018). Des biopsies coliques de patients souffrant du SII avec diarrhée ont été cultivées avec différentes doses de Gln. Il apparaît que, non seulement la Gln augmente l'expression de la CLDN-1, mais cet effet est d'autant plus important que l'expression basale de la CLDN-1 est faible (Bertrand et al. 2016). La Gln semble donc avoir un rôle bénéfique dans diverses pathologies intestinales mais aussi chez des personnes saines avec parfois des actions contraires en fonction des voies impliquées, notamment sur les protéines de la famille heat shock protein (hsp) dont le rôle est, entre autres, d'assurer la bonne conformation des protéines nouvellement synthétisées lors d'un stress cellulaire. En effet, chez des volontaires sains, l'instillation entérale d'une solution de Gln aboutit à la diminution de l'ubiquitylation de Grp75 alors qu'elle l'augmente pour Agp-2 (Bertrand et al. 2013).

3) Place des acides aminés : les acides aminés branchés

a) Implication des acides aminés branchés dans la synthèse protéique

Les BCAA sont des acides aminés essentiels et sont au nombre de trois : leucine (Leu), Isoleucine (Ile) et valine (Val). Contrairement aux autres acides aminés, les BCAA ne sont pas métabolisés dans le foie mais dans les muscles squelettiques pour la synthèse protéique. Les BCAA sont transformés en céto-acides (BCKA) par l'enzyme BCAA aminotransférase (BCAT) et peuvent ensuite être convertis, de façon irréversible, en branched-chain acyl-CoA par décarboxylation via l'action de la branched-chain α -ketoacid dehydrogenase complex (BCKD) afin de produire des substrats utilisés dans le cycle de Krebs au même titre que la Gln (Holeček 2018). Une grande partie des études qui portent sur la supplémentation en BCAA n'utilise que la Leu. Mais cela peut introduire un biais puisque la supplémentation en Leu seule tend à faire chuter les concentrations plasmatiques en Val et Ile en raison du fonctionnement des transporteurs de ces acides aminés (Shimomura et al. 2004).

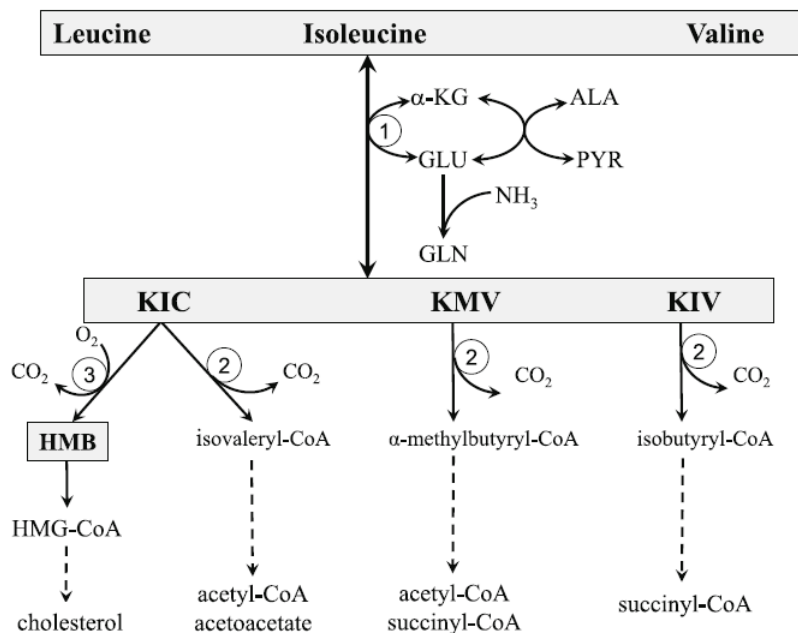


Figure 16 : Métabolisme des acides aminés branchés.

D'après Holeček et al. 2018 : *Branched-chain amino acids in health and disease: metabolism, alterations in blood plasma, and as supplements.*

1 : BCAT ; 2 : BCKD ; 3 : KIC dioxygénase.

La supplémentation en Leu d'une alimentation pauvre en protéines chez des rats Spargue-Dawley induit une augmentation de la Leu dans le plasma mais diminue la concentration plasmatique en Ile. Chez ces animaux, la supplémentation en Leu seule augmente le poids du muscle gastronecemicus et de son taux de synthèse protéique, ce qui peut être expliqué par l'activation par phosphorylation de p70S6K (p70S6kinase) et 4EBP-1 (eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein-1), deux marqueurs de la synthèse protéique (Zhang et al. 2017). Ces résultats sont intéressants puisque p70S6K et 4EBP-1 sont phosphorylés par mTOR. La phosphorylation de 4EBP-1 par mTOR conduit à la libération de eiF4E dont le rôle est de favoriser la traduction des ARNm et, de ce fait, la synthèse protéique. Quant à p70S6K, son activation résulte de sa phosphorylation par mTOR (mammalian Target of Rapamycin), ce qui conduit à une augmentation de la synthèse protéique. En plus de favoriser la synthèse protéique, l'activation de mTOR diminue également l'autophagie en inhibant GCN-2 dont le rôle est d'activer ATF-4, un facteur de transcription pour les gènes impliqués dans l'autophagie, qui est un facteur aggravant dans l'anorexie mentale. Perry *et al.* ont injecté de la bupivacaïne dans le tibialis antérieur de souris C57Bl/6 jeunes ou âgées afin d'induire une lésion musculaire. Après trois jours de supplémentation en Leu dans l'eau de boisson, les muscles tibialis antérieurs ont été récupérés. Chez les individus jeunes, seule l'activation de p70S6K est augmentée alors que dans le groupe des souris âgées, il y a une augmentation de l'activation de p70S6K, mTOR et

4EBP-1, ce qui traduit une augmentation globale de la synthèse protéique dans les muscles squelettiques qui semble plus efficace chez le sujet âgé (Perry et al. 2016). Cette augmentation de l'activation de la voie mTOR/p70S6K est également retrouvée dans le muscle soleus chez des rats nourris avec une alimentation pauvre en protéines et souffrants de défaillance rénale chronique, et qui reçoivent une supplémentation en BCAA (Yoshida et al. 2017). Dans le cas de la cirrhose, la combinaison entre la marche et la supplémentation en BCAA est suffisante pour améliorer la force musculaire globale et plus particulièrement dans les jambes en seulement trois mois (Hiraoka et al. 2017). La supplémentation possède donc des effets bénéfiques lorsqu'elle est administrée avant ou après un effort afin de prévenir la fatigue musculaire ou des lésions des muscles (Shimomura et al. 2004). L'idée d'utiliser les acides aminés lors de maladies critiques, comme la défaillance hépatique ou rénale, provient de l'observation d'une augmentation des BCAA plasmatiques lors de la survenue de ces maladies, ce qui pourrait signifier que cette augmentation est un mécanisme de préservation (Gamrin et al. 1997). L'anorexie étant par essence une maladie sévère et chronique avec une perte de masse musculaire importante et des patients ayant fréquemment une hyperactivité physique, l'étude des BCAA dans le cadre de l'anorexie mentale représente un intérêt certain.

Les BCAA, et particulièrement la Leu, améliorent nettement la synthèse protéique musculaire. Mais pour que cette synthèse se fasse, il faut un soutien de la production énergétique par les mitochondries, ce qui peut entraîner une hausse du stress oxydant.

b) Inflammation et stress oxydant

Dans les macrophages, BCAT-1 est l'isoforme principale pour le catabolisme des BCAA. L'utilisation d'un analogue de la leptine entraîne une inhibition de BCAT-1, de la consommation d'oxygène ainsi que de la voie IRG-1/itaconate. La diminution du stress oxydant dans les macrophages par l'inhibition de BCAT-1 montre que les BCAA sont impliqués dans l'inflammation (Papathanassiou et al. 2017). La supplémentation en BCAA entraîne une augmentation de la biogenèse mitochondriale et une augmentation de l'expression de la sirtuine-1 (SIRT-1) dans les cardiomyocytes et les cellules musculaires squelettiques (D'Antona et al. 2010). Les auteurs de ces travaux ont également remarqué que la supplémentation en BCAA augmentait l'activité des systèmes enzymatiques de lutte contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS) tout en diminuant la présence de ceux-ci. La culture de cellules C2C12 en présence de leucine ou de HMB (β -hydroxy- β -methylbutyrate), un dérivé métabolique de la Leu, provoque une augmentation de la masse, de la biogénèse et de l'activité

de la chaîne respiratoire des mitochondries. L'ajout d'antagonistes de PPAR et de CDK4 entraîne une disparition de ces effets, ce qui indique que l'augmentation de l'activité mitochondriale des cellules musculaires en présence de Leu passe par ces deux protéines (Zhong et al. 2019).

Toutefois, l'augmentation de l'activité mitochondriale et de la synthèse protéique sous-entendent que l'apport en substrat énergétique, notamment le glucose, doit être conséquent avec une réserve suffisante dans les cellules musculaires.

c) Effet des acides aminés branchés sur les paramètres intestinaux

La culture de colonocytes LS174T en présence de Leu induit une augmentation de la phosphorylation, et donc de l'activation, de mTOR et Akt. Le complexe mTOR, lorsqu'il est phosphorylé, permet d'activer la synthèse protéique. Dans les cultures des cellules LS174T, l'activation de mTOR est suivie par une augmentation de la synthèse de MUC-2 indispensable à la protection des cellules épithéliales intestinales (Mao et al. 2016). La supplémentation en Leu a donc un effet bénéfique sur le maintien des fonctions métaboliques des cellules intestinales.

Cependant, la combinaison des trois BCAA serait probablement plus efficace que la leucine seule. Mais il faut également déterminer le ratio entre les trois BCAA pour une efficacité maximale. Duan *et al.* ont testé deux ratio Leu : Ile : Val différents chez des porcs en croissance : 1 : 0,75 : 0,75 et 1 : 0,25 : 0,25. Le premier ratio a montré une augmentation de la hauteur des villosités dans le jéjunum, une augmentation des marqueurs de prolifération et une diminution de la profondeur des cryptes dans l'iléon. Le deuxième ratio a, quant à lui, induit une augmentation des ARNm des transporteurs des acides aminés, du turn-over protéique intestinal et de la prolifération cellulaire intestinale (Duan, Tan, et al. 2018). Il serait intéressant de tester un ratio intermédiaire, c'est pourquoi dans les travaux de cette thèse sur la partie supplémentation en BCAA dans le modèle ABA nous utiliserons un ratio 1 : 0,5 : 0,5. Ce ratio correspond à celui retrouvé dans un organisme animal et ne présente donc aucun danger de toxicité (Shimomura et al. 2004).

Une autre étude sur des porcs en sevrage a montré des effets intéressants d'une supplémentation en Ile seule ou en Leu seule. L'Ile permet d'augmenter l'expression des transporteurs du glucose GLUT-1 et GLUT-4 dans les muscles ainsi que de GLUT-2 dans l'intestin. De plus, la

supplémentation de cellules musculaires C2C12 avec de l'Ile induit une absorption de glucose plus importante que la Leu seule avec une augmentation de l'expression de GLUT-1 et de GLUT-4 (Zhang et al. 2016).

Ces résultats confortent l'idée qu'une supplémentation avec un mélange des trois BCAA reste plus efficace que chaque BCAA séparé. L'amélioration de l'expression des transporteurs du glucose et des acides aminés dans l'intestin et/ou dans les muscles est particulièrement intéressante pour envisager la supplémentation en BCAA dans le modèle ABA puisque cette supplémentation optimiserait théoriquement l'absorption calorique. Bien que l'amélioration de l'absorption du glucose soit augmentée par les BCAA, il faut que le métabolisme énergétique de l'organisme soit opérationnel.

d) Métabolisme lipidique et composition corporelle

De nombreuses études ont été menées sur les effets des BCAA dans le métabolisme énergétique et il apparaît qu'ils peuvent agir à la fois sur le métabolisme du glucose et celui des lipides. Chez le rat, la supplémentation en Ile augmente l'absorption du glucose par les cellules musculaires squelettiques. Cet effet n'est pas retrouvé avec la Leu mais celle-ci augmente également l'incorporation du glucose dans les molécules de glycogène des muscles squelettiques. Ceci a pour conséquence d'augmenter la disponibilité en ATP malgré une absence d'effet sur l'AMPK (Doi et al. 2005). Les effets de la Leu et de l'Ile sont donc différents mais leurs actions sont complémentaires et permettent de diminuer la glycémie. Par ailleurs, l'ajout de Leu dans des cultures de cellules C2C12 entraîne une augmentation de la biogénèse mitochondriale dans celles-ci après 24 heures. La Leu augmente également l'activité de PPAR γ , favorisant le stockage des lipides et la synthèse protéique. Il est à noter que l'expression de GLUT-4 et l'absorption du glucose sont également plus élevées (Schnuck, Sunderland, et al. 2016). La supplémentation en Leu de cultures cellulaires d'adipocytes favorise le stockage des lipides dans ces derniers mais active aussi le métabolisme oxydatif des cellules musculaires squelettiques (Sun et Zemel 2007).

Alors que la Leu seule favorise le stockage des lipides, la supplémentation en BCAA induit une diminution de 7% de la prise de masse grasse avec une prolifération du tissu adipeux blanc plus faible, une baisse des triglycérides (TG) hépatiques et une augmentation de UCP-2, UCP-3 et PPAR α (Arakawa et al. 2011). Des résultats similaires ont été obtenus après 17 semaines de supplémentation en Leu chez des souris C57Bl/6 HFD (high fat diet), avec une baisse de poids

et de la masse grasse, une augmentation de la dépense énergétique, d'UCP-3, de la sensibilité à l'insuline et de la néoglucogenèse dans l'intestin. Toutefois, ces effets ne sont pas retrouvés si les souris sont déjà obèses et il faut impérativement associer régime HFD et Leu (Binder et al. 2013).

De façon surprenante, des résultats similaires sont retrouvés avec des souris mâles C57Bl/6 soumises à une déplétion de Leu dans l'alimentation pendant 7 jours. Ces animaux présentent une hausse de la dépense énergétique, de la lipolyse, de l'expression des gènes impliqués dans la β -oxydation des lipides, de l'expression d'UCP-1 dans le tissu adipeux blanc et de la thermogénèse. En parallèle, l'expression des gènes de la lipogenèse est diminuée (Y. Cheng et al. 2010). Une diminution de la β -oxydation des lipides est aussi observée dans la muqueuse jéjunale chez l'humain lors d'une administration entérale de Leu (Goichon et al. 2013). En plus des effets périphériques, la Leu a également des effets sur le système nerveux central. L'injection en intra-cérébroventriculaire (ICV) de Leu induit une augmentation du tissu adipeux blanc, et contrebalance donc les résultats obtenus précédemment. Au contraire, la déplétion de la Leu entraîne une hausse de la CRH dans le SNC, ce qui provoque une perte de tissu adipeux blanc, impliquant donc le SNC dans la régulation de l'homéostasie énergétique (Y. Cheng et al. 2011).

À la lumière de ces données, le rôle des BCAA dans le métabolisme énergétique et le développement du tissu adipeux reste incertain. Bien que les BCAA semblent favoriser une baisse de la glycémie et une activation du métabolisme cellulaire, notamment dans les muscles squelettiques, d'autres travaux mettent en avant le lien entre insulino-résistance, diabète de type 2 et taux plasmatique élevé en BCAA (Yoon 2016). Toutefois, le caractère délétère de l'élévation du taux de BCAA circulants paraît être une conséquence de l'obésité et non une cause. De plus, d'autres observations montrent que les effets des BCAA pourraient dépendre de la présence d'une activité physique.

En effet, chez la souris, la supplémentation en BCAA seule n'a aucun effet sur la masse grasse ou la masse maigre alors que la combinaison BCAA et activité physique permet de réduire la masse grasse et d'augmenter la masse maigre avec une amélioration de la tolérance au glucose (Platt et al. 2016). Par ailleurs, la supplémentation en Leu chez le rat permet de meilleures performances physiques lors d'un exercice par rapport à la supplémentation en BCAA. Cet effet peut s'expliquer par le fait que l'activité de la BCAT est diminuée par les BCAA, ce qui réduit leur catabolisme contrairement à la Leu (Campos-Ferraz et al. 2013). Le métabolisme des BCAA semble pouvoir être activé par des acides gras à chaîne longue via PPAR γ et la

promotion de l'oxydation des lipides dans les cellules musculaires afin de pourvoir aux besoins énergétiques de celles-ci durant l'effort une fois le glucose utilisé (Shimomura et al. 2004; Gualano et al. 2011), ce qui serait en accord avec les observations citées précédemment.

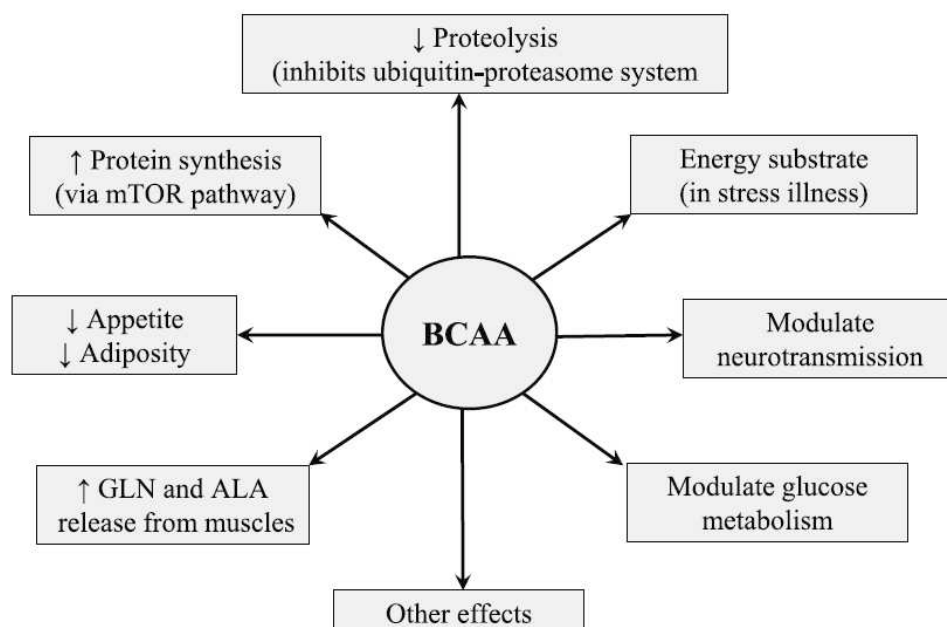


Figure 17 : Schéma général des effets des BCAA sur différentes voies métaboliques.

D'après Holeček et al. 2018 : *Branched-chain amino acids in health and disease: metabolism, alterations in blood plasma, and as supplements.*

Les effets des BCAA sur la masse maigre, la masse grasse et le système nerveux central, potentiellement en combinaison avec l'activité physique, en fait un candidat intéressant pour une supplémentation chez des patients anorexiques. Une supplémentation en BCAA pourrait être utile pour améliorer la reprise de poids par l'amélioration de l'absorption du glucose tout en évitant une augmentation trop importante de la masse grasse abdominale.

Si la recherche fondamentale est importante pour comprendre les pathologies étudiées en clinique, l'inverse est également vrai. Les données cliniques des patients anorexiques servent de base afin de mettre au point des modèles animaux. L'anorexie mentale, comme nous l'avons vu, est une maladie très complexe à la fois dans ses conséquences comme dans les mécanismes qui permettent sa survenue. Il n'existe pas de modèle parfait pour l'étude de cette pathologie, mais il existe une multitude de modèles mimant un ou plusieurs aspects de la maladie. Il est donc nécessaire de bien choisir le modèle en fonction des caractéristiques que l'on souhaite étudier.

F) Les modèles animaux d'anorexie

1) Les modèles génétiques

a) Modification artificielle de l'expression génétique

Dans leur revue, Méquinion *et al.* présentent bon nombre de modèles animaux génétiquement modifiés pour l'étude de l'anorexie mentale (Méquinion, Chauveau, et Viltart 2015). Comme nous l'avons détaillé en amont, il existe un large panel d'acteurs potentiellement impliqués dans le développement et/ou le maintien de l'anorexie mentale, qu'ils soient centraux (NPY, POMC, AgRP, sérotonine, dopamine, MC4R) ou périphériques (ghréline, VIP, GIP, leptine, somatostatine, CCK). Des modèles animaux, le plus souvent murins, mutés pour les gènes codant les protéines précitées, ont été créés pour comprendre le rôle potentiel de chacun d'eux dans la maladie.

Les auteurs citent tout d'abord différents modèles de délétion ou de surexpression des gènes codant pour les peptides gastro-intestinaux altérés durant l'anorexie mentale. La surexpression du gène de la ghréline chez les souris n'a pas d'influence hormis une légère augmentation de la prise alimentaire mais pas de modification du poids. La surexpression de PYY chez la souris ne montre pas de modification de poids, de prise alimentaire ou de métabolisme énergétique comme l'on pourrait s'y attendre. Le constat est le même avec la surexpression de la CCK. Seule la surexpression du peptide pancréatique a donné un très léger effet sur la prise alimentaire et le poids. Finalement, aucun de ces modèles n'a pu prouver son utilité dans l'étude de la pathologie, ne serait-ce que sur une seule voie de signalisation. Concernant les modifications génétiques de protéines du système nerveux comme NPY, AgRP ou CART, la revue nous explique que les effets obtenus ne sont pas en accord avec ce qui est observé chez les patients anorexiques. En revanche, il existe un modèle génétique spontané intéressant : le modèle *anx/anx*.

b) Le modèle *anx/anx*

Contrairement aux modèles génétiques décrits précédemment, le modèle *anx/anx* a été engendré par une mutation spontanée chez des souris. Les caractéristiques de ces dernières ont été listées par Maltais *et al.* (Maltais, Lane, et Beamer 1984). Il s'agit de souris qui ne se nourrissent pas suffisamment avec un profil émacié et un retard de croissance longitudinal. Le retard de croissance est visible à partir de 9 jours après la naissance (P9) comparé au groupe contrôle, et

la mort des animaux survient de manière précoce vers P22. Les auteurs notent que les dosages plasmatiques des souris *anx/anx* est normal sauf pour le HDL-cholestérol, qui est plus élevé que la normale. Ces souris présentent également des problèmes d'hyperactivité et de coordination qui seraient provoqués par une suractivation du système sérotoninergique.

Une intolérance au glucose a été démontrée chez les souris *anx/anx* par Lindfors *et al.* (Lindfors et al. 2015). Dans le groupe *anx/anx*, les auteurs ont remarqué que l'insulinémie était aussi plus faible. La culture des îlots de Langerhans montre un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale avec des altérations du complexe C1, la NADH déshydrogénase. En effet, les données obtenues par l'équipe de Lindfors montre qu'il y a une inhibition de la transcription des gènes codant pour C1 et la NADH deshydrogenase 1 α assembly factor-1 (Ndufaf-1) ainsi qu'une diminution de l'activité de C1. Les auteurs ont également observé une augmentation des acides gras libres (AGL) plasmatiques qui semblent favoriser l'inflammation dans les îlots par infiltration des macrophages puisque la culture de ces îlots en absence d'AGL ne montre aucune infiltration.

Le métabolisme glucidique des souris *anx/anx* est donc fortement altéré en raison d'un dysfonctionnement pancréatique. Cette dysfonction est également présente dans l'hypothalamus de ces animaux et a été proposée comme explication pour leur difficulté à adapter leur prise alimentaire en fonction de leur statut métabolique. Comme nous l'avons décrit précédemment, l'hypothalamus contrôle la prise alimentaire en intégrant différents paramètres, notamment la glycémie via les transporteurs de glucose GLUT1, GLUT3 et GLUT4. Le transport de glucose est diminué d'environ 50% dans l'hypothalamus des souris *anx/anx* alors que le taux de GLUT4 est plus élevé de 60% (Bergström et al. 2017). Les auteurs de ces travaux supposent que GLUT4 n'est plus transloqué correctement vers la membrane des cellules hypothalamiques concernées en raison d'un stress tel que l'hyperactivité physique, comme cela a déjà été démontré dans les cellules des muscles squelettiques. Dans cette même étude, il est rapporté que le ratio p-AMPK/AMPK total est nettement diminué. La forme phosphorylée de l'AMPK correspond à sa forme active, donc une diminution du ratio p-AMPK/AMPK total traduit une diminution de son activité. Or, l'AMPK est activée en cas de déficit énergétique, et sa baisse d'activation chez les souris *anx/anx* montre que la perception hypothalamique du statut énergétique est perturbée en particulier pour les carbohydrates.

En parallèle, les souris *anx/anx* ont une dysfonction du système POMC/NPY (Broberger et al. 1999). Dans le noyau arqué, la synthèse des ARNm codant pour POMC est diminuée dans les neurones qui le produisent avec également une diminution des récepteurs du NPY, Y1 et Y5,

sur ces mêmes neurones. Le taux des récepteurs Y2, des autorécepteurs du NPY, est aussi plus faible. Le système CART est lui aussi affecté dans le modèle *anx/anx* avec une diminution de la synthèse des ARNm le codant dans le noyau arqué (Johansen et al. 2000). En outre, le nombre de cellules exprimant CART est aussi plus faible dans les parties dorsomédiale et latérale de l'hypothalamus. Les auteurs constatent, comme précédemment, que la leptinémie est plus faible, et se demandent s'il ne s'agirait pas d'un éventuel phénomène de compensation se traduisant par la baisse de la production de leptine et de CART, ou si la diminution de CART serait le fruit d'un déficit global de la synthèse protéique. Il existe des micro-ARN (miARN) dont le rôle est de réguler la synthèse protéique en favorisant la dégradation des ARNm de protéines cibles via le complexe miRISC. Il a été montré qu'il existe chez les souris *anx/anx* une augmentation hypothalamique de l'expression d'ARNm de gènes codant pour des protéines qui constituent le complexe miRISC comme Dgcr-8, Fmr-1 et Ago-2 (Mercader et al. 2012). Cette même étude montre que l'expression des ARNm cibles des miARN est augmentée, ce qui témoigne d'un problème de régulation de la synthèse protéique dans l'hypothalamus.

De façon générale, le modèle *anx/anx* semble bien adapté à l'étude de l'anorexie mentale mais la faible espérance de vie de ces animaux est un frein majeur à leur utilisation. De plus, les problèmes de coordination motrice chez ces animaux est une limite pour le développement d'une hyperactivité physique. Mais d'autres modèles peuvent être utilisés.

2) Les modèles de restriction calorique et de stress

L'anorexie mentale se caractérise principalement par une diminution drastique de l'apport calorique. De façon logique, de nombreux modèles d'études sont basés sur ce paramètre pour en observer les effets sur différents systèmes. Chez des rats Spargue-Dawley, la diminution de 30% de l'apport calorique normal entraîne une perte de poids de 18% avec également une baisse de la leptinémie (S. Bi, Robinson, et Moran 2003). Dans l'hypothalamus de ces animaux, l'expression de POMC est diminuée alors que celle de NPY est augmentée mais uniquement dans le cas où la restriction calorique est chronique. Aucune variation de NPY n'est observée lorsque cette restriction est aiguë. La chronicité de la restriction calorique semble donc avoir un effet sur la régulation des neurones à NPY. Chez des souris C57Bl/6J âgées de trois semaines, cette même restriction calorique de 30% entraîne une baisse de la leptinémie et d'IGF-1 qui s'amplifie avec la durée de la restriction (6 ou 12 semaines) (M. J. Devlin et al. 2010). Ces souris ont également une baisse de la minéralisation osseuse associée à une diminution des

marqueurs de l'ostéogénèse et une augmentation des marqueurs de la résorption osseuse, ce qui correspond bien aux observations faites en clinique sur des patients anorexiques. La sévérité de la restriction calorique a aussi une influence. Lorsque l'on injecte du LPS à des souris C57Bl/6J soumises à une restriction de 25% ou de 50%, les souris à 25% de restriction ont une hausse de la température corporelle mais pas les souris à 50% (MacDonald et al. 2011). La restriction calorique de 50% augmente également le taux hypothalamique en ARNm de NPY. Il faut également noter que la restriction calorique chez la souris entraîne des défauts de mémorisation lors des tests de labyrinthe en Y qui semblent similaires aux troubles de l'apprentissage observés chez les patients (Fu et al. 2017). Bien que ces modèles de restriction caloriques montrent des résultats similaires aux observations cliniques, ils ne prennent pas en compte l'anxiété.

Il existe plusieurs protocoles pour induire un stress physique ou psychologique dans des modèles murins pour observer certains mécanismes de l'anorexie mentale. Wang *et al.* ont développé un modèle de stress aigu et un modèle de stress chronique chez des rats Wistar pour étudier le système sérotoninergique (S. W. J. Wang 2002). Les animaux ont été placés en contention durant 2 heures une seule fois (aigu) ou 2 heures par jour pendant cinq jours (chronique). Les résultats ont montré que la prise de carbohydrates et la prise de graisses sont supprimées à la fois dans le modèle aigu et le modèle chronique, ce qui correspond bien à ce qui est observé chez les personnes anorexiques qui évitent au maximum d'ingérer des carbohydrates et des graisses. Les auteurs ont fait la même expérience avec, cette fois-ci, une injection intrapéritonéale de DPAT, un agoniste des récepteurs à la sérotonine 5-HT-1A, avant l'induction du stress. Il en résulte que celui-ci n'a pas d'effet sur le comportement alimentaire, ce qui pointe le fait que le récepteur 5-HT-1A n'est pas impliqué. Cependant, comme nous l'avons expliqué précédemment, ce récepteur est particulièrement étudié dans l'anorexie mentale en raison de ses anomalies chez les personnes anorexiques (D. J. Haleem 2012).

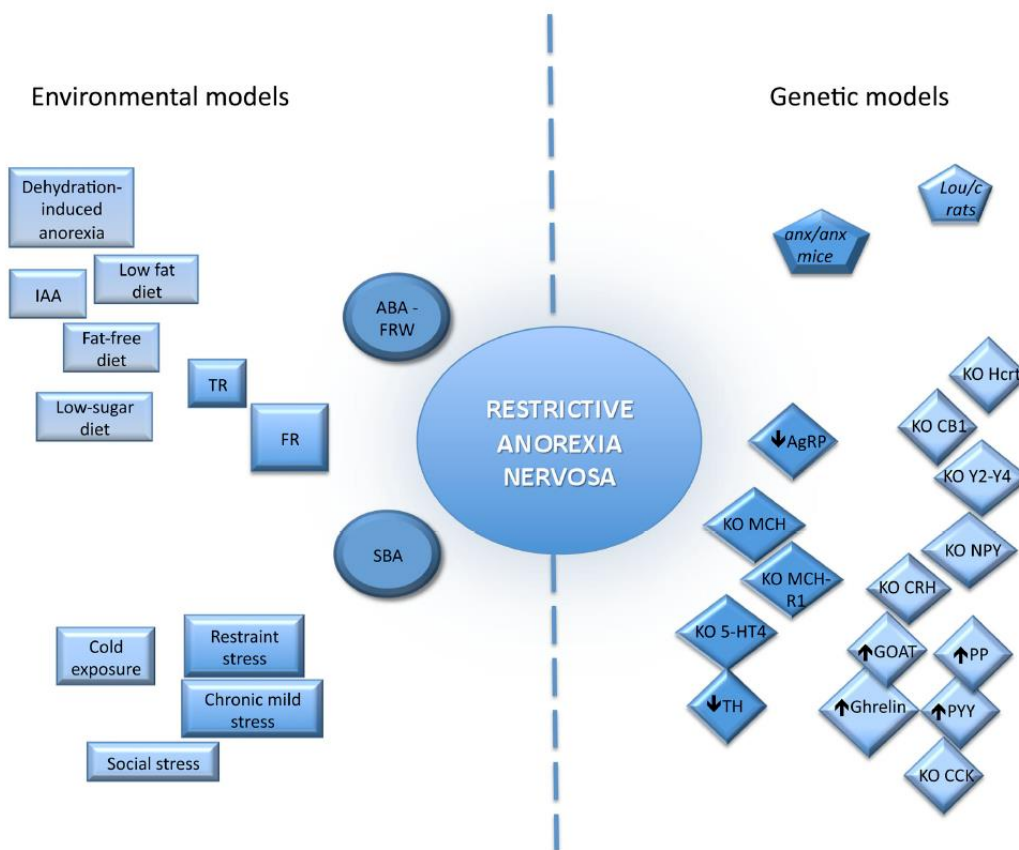


Figure 18 : Modèles animaux environnementaux et génétiques pour l'étude de l'anorexie mentale.

D'après Méquignon et al. 2015 : *The Use of Animal Models to Decipher Physiological and Neurobiological Alterations of Anorexia Nervosa Patients.*

FR : food restriction ; IAA : indispensable amino acid deficient diet ; SBA : separation-based anorexia ; TR : time-restricted feeding.

L'anxiété est une caractéristique majeure de l'anorexie mentale qui participe au maintien de la pathologie et survient la plupart du temps après des perturbations d'ordre psychosociales. Les souris étant des animaux sociaux qui vivent en groupe, il est reconnu que la séparation des individus induit chez eux un stress. Zgheib *et al.* ont placé des souris pendant 10 semaines dans des cages transparentes séparées où elles pouvaient se voir et se sentir mais pas entrer en contact physique, et ont mesuré différents paramètres impliqués dans l'anorexie mentale (Zgheib et al. 2014). Il s'agit d'un modèle de privation de contact social à long terme qui provoque une diminution du poids, de la prise alimentaire cumulée, de la masse maigre, de la masse grasse, de la minéralisation osseuse et de la leptinémie conformément à ce qui est observé chez des patients anorexiques. Les expérimentateurs ont aussi noté une intolérance au glucose, ce qui correspond à ce que nous avons décrit antérieurement dans le modèle *anx/anx*. Toutefois, comme pour le modèle de stress par contention, le paramètre de l'activité physique n'est pas pris en compte et forme une limite sérieuse à ce modèle d'étude.

3) Le modèle activity-based anorexia

a) Protocole et caractéristiques du modèle

Routtenberg et Kuznesof ont développé en 1967 un modèle de restriction alimentaire chez des rats avec une heure d'accès à la nourriture par jour. Les animaux étaient placés dans des cages individuelles avec un accès libre à une roue d'activité pour mesurer l'activité physique volontaire (Routtenberg et Kuznesof 1967). Ce modèle a été nommé par la suite activity-based anorexia (ABA). Le protocole a été amélioré pour favoriser la survie des animaux avec une période d'adaptation à la séparation et à la roue d'activité de quatre jours avant de diminuer l'accès à la nourriture à deux heures par jours pendant une durée de 7 à 14 jours (Carrera et al. 2014). Dans leur revue, Ross *et al.* ont comparé différentes données concernant les patients anorexiques et le modèle ABA. Les auteurs ont noté de nombreux points communs. En effet, ils notent que, en clinique comme dans le modèle ABA, la ghréline, le cortisol (ou corticostérone pour les souris ou les rats), le NPY, l'AgRP, les β -endorphines, l'orexine sont augmentés, alors que la leptine, POMC et CART sont diminués (Ross, Mandelblat-Cerf, et Verstegen 2016). L'augmentation de la CRH est également présente dans le modèle ABA mais seulement lorsque les animaux atteignent 75% de leurs poids d'origine alors qu'elle est déjà présente dès l'apparition de la pathologie chez les humains. Dans les deux cas, il y a présence d'une addiction à l'activité physique en raison d'une altération du circuit de la récompense, et un événement traumatisant dans l'enfance favorise l'apparition de la maladie chez l'humain et augmente la sensibilité des animaux au protocole ABA.

En clinique, l'anorexie mentale est plus fréquente chez les femmes que chez les hommes, mais chez ces derniers, le pronostic est beaucoup plus défavorable. Il est intéressant de noter que dans le modèle ABA, les souris femelles C57Bl/6 sont plus résistantes que les mâles. Une étude faite au sein de notre laboratoire avait déjà mis en évidence ce point. Comparés aux femelles, les mâles ont une prise alimentaire et une activité physique plus faible avec une perte de poids plus importante (Achamrah, Nobis, et al. 2017). L'explication pourrait venir en partie du fait que, dans le modèle ABA, les femelles C57Bl/6 ont une augmentation de la présence du récepteur au GABA $\alpha 4\beta\delta$ -GABA_AR à la surface des cellules de l'hippocampe et que la suppression de ce récepteur entraîne un profil similaire à celui des mâles avec une baisse de la prise alimentaire et une augmentation de l'activité physique (Y.-W. Chen, Actor-Engel, et Aoki 2018). Ces données montrent qu'il peut être préférable, dans certains cas, d'utiliser des souris mâles plutôt que des femelles. Au sein du laboratoire, plusieurs études ont été faites sur le modèle ABA afin de le caractériser au mieux pour pouvoir juger de son adéquation avec les

données cliniques, et plus précisément concernant l'hypothalamus, la prise alimentaire et différents paramètres intestinaux comme l'inflammation et la perméabilité paracellulaire.

b) Données obtenues au sein de l'unité

Afin d'améliorer la survie des animaux, nous avons apporté quelques modifications au protocole ABA décrit dans la partie précédente. Pour chaque étude, des souris C57Bl/6 mâles ou femelles sont placées dans des cages individuelles avec (ABA) ou sans (CTRL) roue d'activité. Après cinq jours d'acclimatation, l'accès à la nourriture pour le groupe ABA est progressivement diminué, passant de 6 heures d'accès au jour 6, à 3 heures d'accès au jour 9 jusqu'à la fin du protocole au jour 17. L'accès à l'eau n'est jamais limité.

Le métabolisme hypothalamique est modifié chez les souris ABA femelles avec une augmentation de la fission mitochondriale et de l'autophagie, mesurée par le ratio LC3II/LC3I en association avec une augmentation de la synthèse protéique (Nobis, Goichon, et al. 2018).

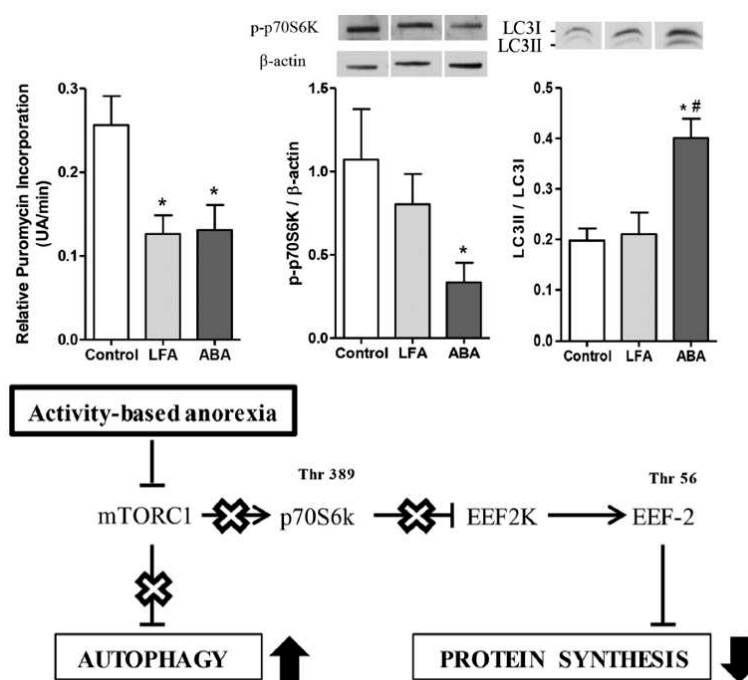


Figure 19 : Altération colique de la synthèse protéique et de l'autophagie dans le modèle ABA.

D'après Nobis et al. 2018 : *Colonic Mucosal Proteome Signature Reveals Reduced Energy Metabolism and Protein Synthesis but Activated Autophagy during Anorexia-Induced Malnutrition in Mice*.

Nous avons précédemment évoqué le fait que les patients anorexiques souffraient d'un ralentissement de la vidange gastrique. Cette caractéristique est retrouvée chez les souris ABA avec une diminution de l'expression des protéines de type Heat Shock Protein (HSP) et de

protéines impliquées dans l'organisation des fibres musculaires de l'estomac avec en parallèle une augmentation du stress oxydant (Nobis, Morin, et al. 2018).

L'anorexie mentale affecte également l'intestin. Dans une étude récente faite au laboratoire, il a été démontré, par l'utilisation de la puromycine, que le modèle ABA entraîne une diminution de la synthèse protéique totale dans le colon chez les femelles. Cette diminution de la synthèse protéique est confirmée par la diminution de la phosphorylation de mTOR ainsi que de p70S6K qui est directement placée sous son contrôle. De plus, l'inactivation de mTOR entraîne une augmentation de l'activité autophagique dans le colon mesurée par l'augmentation du ratio LC3II/LC3I (Nobis, Achamrah, et al. 2018).

Toujours chez les femelles, le protocole ABA provoque, dans le colon, une augmentation de l'expression des récepteurs Toll Like Receptor-4 (TLR4) dont le rôle est d'induire une réponse inflammatoire après fixation de LPS. Cependant, l'expression de TLR-4 et des protéines de signalisation intracellulaire qu'il contrôle, comme MyD88, ne sont pas affectées dans l'hypothalamus. L'absence d'expression de TLR-4 entraîne une vulnérabilité accrue au modèle ABA qui se traduit par une mortalité très élevée des animaux, ce qui implique que le récepteur TLR-4 joue un rôle dans la résistance au protocole malgré son action pro-inflammatoire (Belmonte et al. 2016). En parallèle, le modèle ABA induit une diminution de l'expression de la CLDN-1 dans le colon mais pas dans le jéjunum, se traduisant par une diminution de l'efficacité de la barrière intestinale, ce qui pourrait expliquer l'augmentation de l'expression de TLR-4 précédemment décrite en raison d'une exposition plus importante au LPS (Jésus et al. 2014).

Toutes ces données sur le modèle ABA montrent qu'il est parfaitement adapté à l'étude des atteintes gastro-intestinales et hypothalamiques qui surviennent chez les patients anorexiques. Le lien entre l'intestin et le cerveau, notamment l'hypothalamus, est très étroit avec des influences réciproques. Le modèle ABA mime de façon proche les complications gastro-intestinales présentes chez les patients anorexiques, comme la diminution de la vidange gastrique.

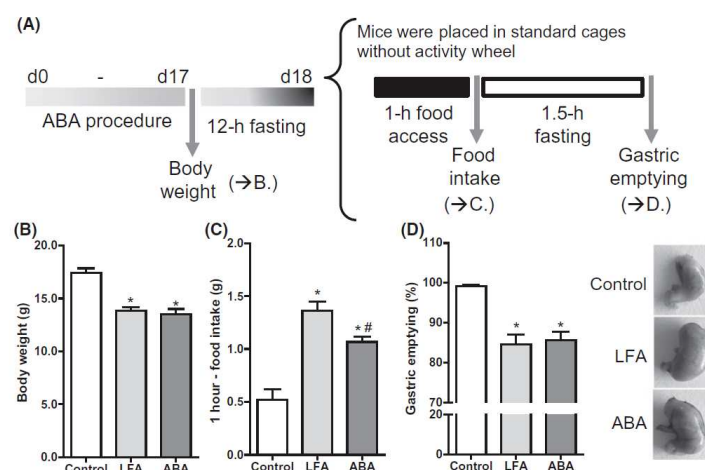


Figure 20 : Augmentation du temps de vidange gastrique dans le modèle ABA.

D'après Nobis et al. 2018 : *Delayed gastric emptying and altered antrum protein metabolism during activity-based anorexia.*

En conclusion de cette partie introductive, nous pouvons affirmer que les mécanismes responsables de l'apparition et du maintien de l'anorexie mentale restent encore mal compris, en dépit de nombreuses avancées. Il est cependant clair que des altérations du système nerveux central, du tractus gastro-intestinal ainsi que du microbiote sont impliquées. La persistance de certains troubles intestinaux ou anxieux après renutrition à court terme et/ou à long terme laisse supposer qu'ils pourraient être à l'origine de la pathologie. L'amélioration des protocoles de prise en charge est donc un enjeu majeur pour favoriser les chances de réussite de rémission totale ou, du moins, pour limiter les effets de la dénutrition extrême. Étant donné leurs mécanismes d'action et les effets démontrés en clinique, la Gln et les BCAA sont d'excellents candidats pour l'amélioration des paramètres intestinaux et de la composition corporelle, respectivement. Afin de fournir une base expérimentale solide, le modèle ABA a été choisi pour effectuer les différents travaux qui composent cette thèse en raison des nombreux points commun qu'il possède avec les observations cliniques.

OBJECTIFS DU PROJET DE THÈSE

Pour ce travail de thèse, nous avons choisi d'étudier, dans le modèle ABA, des supplémentations en nutriments spécifiques et leurs effets sur les paramètres centraux et intestinaux. Les nutriments testés sont la glutamine (Gln) et les acides aminés branchés (BCAA). De plus, nous avons également testé la supplémentation en Gln ou en BCAA en combinaison avec une renutrition progressive, ou non, dans le modèle ABA afin de vérifier si ces deux nutriments peuvent améliorer la reprise de poids ou la normalisation de différents paramètres.

ARTICLE 1

RÉSUMÉ

Le modèle activity-based anorexia (ABA), chez la souris, provoque une perte sévère de masse maigre et de masse grasse avec un ralentissement de la vidange gastrique et présente une diminution de la fonction de barrière intestinale et de la synthèse protéique colique totale ainsi que des perturbations métaboliques hypothalamiques. Ce modèle s'inscrit dans l'étude des dysfonctions de l'axe intestin-cerveau retrouvées chez les patients anorexiques et pour lesquelles il n'existe aucun traitement spécifique. Nous avons évalué les effets d'une supplémentation orale en glutamine (Gln) ou en acides aminés branchés (BCAA) sur la composition corporelle, les fonctions intestinales et le comportement alimentaire. Des souris mâles C57Bl/6 âgées de 8 semaines ont été randomisées en un groupe contrôle (CTRL) et un groupe ABA. Une fois l'anorexie induite, les souris ABA ont reçu, ou non, une supplémentation de 1% en Gln ou de 2,5% en BCAA (Leu, Ile, Val) pendant une semaine via l'eau de boisson.

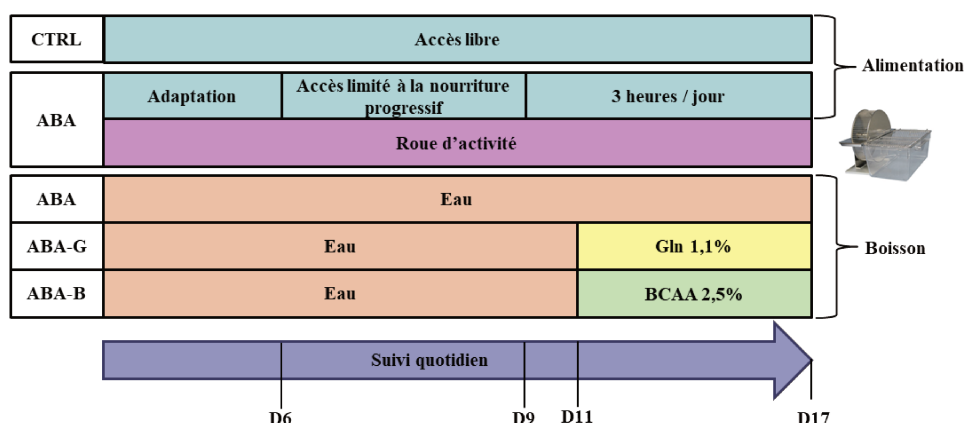


Figure 21 : Schéma du protocole ABA avec supplémentation en Gln ou BCAA.

Aucun effet de la Gln ou des BCAA n'a été constaté sur le poids ou la composition corporelle mais la Gln semblait augmenter légèrement la prise alimentaire. Les animaux ABA présentaient une augmentation de la perméabilité paracellulaire et une diminution de la synthèse protéique dans la muqueuse colique. Ces paramètres étaient restaurés par la supplémentation en Gln avec également une augmentation du taux en ARNm codant pour la mucine-2 alors qu'aucune amélioration n'a été constatée pour la supplémentation en BCAA. Nous en avons conclu que la Gln améliorait de façon spécifique les paramètres coliques dans le modèle ABA. Ceci ouvre de nouvelles perspectives pour la prise en charge des personnes anorexiques et qui devront faire l'objet d'études cliniques.

Article

Glutamine, but not Branched-Chain Amino Acids, Restores Intestinal Barrier Function during Activity-Based Anorexia

Clément L'Huillier ^{1,2}, Marine Jarbeau ^{1,2}, Najate Achamrah ^{1,2,3}, Liliana Belmonte ^{1,2,3}, Asma Amamou ^{1,2}, Séverine Nobis ^{1,2}, Alexis Goichon ^{1,2}, Emmeline Salameh ^{1,2}, Wafa Bahlouli ^{1,2}, Jean-Luc do Rego ^{2,4}, Pierre Déchelotte ^{1,2,3} and Moïse Coëffier ^{1,2,3,*}

¹ UNIROUEN, INSERM UMR 1073 "Nutrition, Inflammation and Gut-Brain Axis", Normandie University, 76183 Rouen, France; cle.lhuillier@gmail.com (C.L.); marine.jarbeau@univ-rouen.fr (M.J.); najate.achamrah@chu-rouen.fr (N.A.); liliana.belmonte@chu-rouen.fr (L.B.); asma.amamou@etu.univ-rouen.fr (A.A.); severine.nobis@univ-rouen.fr (S.N.); alexis.goichon@univ-rouen.fr (A.G.); emmeline.salameh@etu.univ-rouen.fr (E.S.); wafa.bahlouli@etu.univ-rouen.fr (W.B.); pierre.dechelotte@chu-rouen.fr (P.D.)

² Institute of Research and Innovation in Biomedicine (IRIB), UNIROUEN, Normandie University, 76183 Rouen, France; jean-luc.do-rego@univ-rouen.fr

³ Department of Nutrition, Rouen University Hospital, 76183 Rouen, France

⁴ Animal Behavior Facility, SCAC, UNIROUEN, 76183 Rouen, France

* Correspondence: moise.coeffier@univ-rouen.fr; Tel.: +33-235148240

Received: 16 May 2019; Accepted: 13 June 2019; Published: 15 June 2019



Abstract: Background: During activity-based anorexia (ABA) in mice, enhanced paracellular permeability and reduced protein synthesis have been shown in the colon while the gut–brain axis has received increasing attention in the regulation of intestinal and mood disorders that frequently occur during anorexia nervosa, a severe eating disorder for which there is no specific treatment. In the present study, we assessed the effects of oral glutamine (Gln) or branched-chain amino acids (BCAA) supplementation during ABA to target intestinal functions, body composition and feeding behavior. Methods: C57BL/6 male mice were randomized in Control (CTRL) and ABA groups. After ABA induction, mice received, or not, either 1% Gln or 2.5% BCAA (Leu, Ile, Val) for one week in drinking water. Results: Neither Gln nor BCAA supplementation affected body weight and body composition, while only Gln supplementation slightly increased food intake. ABA mice exhibited increased paracellular permeability and reduced protein synthesis in the colonic mucosa. Oral Gln restored colonic paracellular permeability and protein synthesis and increased the mucin-2 mRNA level, whereas BCAA did not affect colonic parameters. Conclusion: In conclusion, oral Gln specifically improves colonic response during ABA. These data should be further confirmed in AN patients.

Keywords: glutamine; Branched-chain amino acids; Activity-Based Anorexia; Intestinal permeability

1. Introduction

Anorexia nervosa (AN) belongs to eating disorders (ED), as described in the fifth edition of *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM-V) [1]. AN is a multifactorial disease in which young women are predominantly represented, as shown in a recent study [2]. Considering DSM-V, AN is mainly characterized by severe weight loss ($\text{BMI} < 18.5 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$), persistence of the inability to change behaviors in a way that resolves the weight loss and the lack of recognition of the seriousness of body weight. Mortality in AN is around 1–4% [3] due to its comorbidity with other

mental disorders such as anxiety and depression [4]. In addition, physical hyperactivity frequently occurs in anorectic patients [5] and strongly contributes to the energy imbalance affecting all organs such as the heart [6], kidneys [7] and/or bones [8]. Functional digestive disorders also frequently occur in AN patients with delayed gastric emptying, altered motility and increased transit time, abdominal pain, and modification of gut microbiota [9,10], while the role of the microbiota–gut–brain axis in the regulation of feeding and mood disorders has been underlined. Gut microbiota dysbiosis has been reported in AN patients [11] but intestinal permeability remains poorly documented. Monteleone et al. showed reduced small intestinal permeability [12] and Mörkl et al. recently reported that 35.29% of AN patients had increased serum zonulin, a marker of intestinal permeability [13]. In mice, colonic permeability was increased but not jejunal permeability [14].

Refeeding of AN patients that is usually performed through the enteral route via a nasogastric tube [15] only partially restores those parameters. Indeed, studies evaluating body composition changes after refeeding underlined increased truncal fat mass [16] and some studies have shown that intestinal disorders are still present after body weight gain [17], as well as mood disorders [18]. Consequently, innovative nutritional interventions could be of interest to improve refeeding by targeting specific metabolic pathways [19].

In the activity-based anorexia model (ABA) in mice, we previously reported in the colon an altered barrier function [14], a TLR-4 activation [20] and a reduced protein synthesis associated with specific modifications of proteome [21]. Glutamine is a conditionally essential amino acid and the main energy substrate for rapidly dividing cells [22,23]. Many studies report an improvement of intestinal barrier function [24], a reduced intestinal inflammatory response [25,26] and a stimulation of protein synthesis [27] after glutamine supplementation. Glutamine also improves the immune system and prevents bacterial translocation from intestinal lumen to inner layers when administered in patients under parenteral nutrition [28]. Interestingly, intestinal permeability and abdominal pain were improved by oral glutamine supplementation in a randomized double-blind clinical trial in patients with irritable bowel syndrome (IBS) [29]. Intestinal paracellular permeability is mainly regulated by tight junctions involving claudin proteins (CLDN), occludin (OCDN) or zonula occludens-1 (ZO-1).

Branched chain amino acids (BCAA; Leucine, Isoleucine and Valine) have been proposed to maintain muscle mass or function in different conditions such as intensive physical activity [30,31] or in elderly patients [32]. BCAA are preferentially metabolized in skeletal muscle rather than in liver [33] and are involved in muscle mass development in mice [34]. As physical hyperactivity frequently occurs in AN patients, who exhibit severe loss of both fat and lean mass, the potential of BCAA to prevent muscle waste or to enhance muscle gain appears to have a high relevance.

Thus, we aimed to evaluate the effects of glutamine and branched chain amino acids supplementation on food intake, body weight and composition and on intestinal functions in the rodent ABA model.

2. Material and Methods

2.1. Experimental Procedure

Protocol was approved by the regional ethical committee named CENOXEMA (authorization on N/05-11-12/28/11-15). To evaluate the potential benefits of Gln or BCAA in AN, we separately performed distinct experiments following ABA protocol with Gln or BCAA supplementation. For this, 8-week-old C57BL/6 male mice (Janvier Labs, Le Genest-Saint-Isle, France) were placed in individual cages and fed with a standard diet. Mice were acclimatized during 5 days at 23 °C with a reversed 12 h light–dark cycle (dark phase: 10:00 to 22:00) and then randomized in two groups: ad libitum (CTRL) and activity-based anorexia (ABA). The ABA experimental procedure was the same as described in our previous studies [14]. Briefly, ABA mice were placed in cages equipped with an activity wheel connected to Running Wheel® software (Intellibio, Seichamps, France) while CTRL were placed in standard cages. After the acclimatization period, food access was progressively reduced for ABA mice

from 6 h at day 6 to 3 h at day 9 and until the end of the experiment at day 17. Food was given when the dark phase started at 10:00. All mice had free access to water. In accordance with the ethical procedure, if the weight loss exceeded 20% within 3 consecutive days, animals were euthanized. Body weight, physical activity and food intake were monitored each day before the beginning of the dark phase.

At day 11, ABA mice were randomized and divided into two sub-groups with or without supplementation. Gln was distributed in water at the dose of 2 g/kg/day, as previously described [35]. Like Gln, BCAA were diluted in water, but consisted of a combination of three amino acids with a ratio of 2:1:1 (Leu, Ile, Val) to reach 25 g/L (2.5%) [36]. At last, concentrations for each BCAA were: 1.25% (Leu), 0.625% (Ile) and 0.625% (Val). Both Gln and BCAA beverages were renewed each day. Fluid intake was monitored each day by weighting drinking bottles. At day 17, mice received an intraperitoneal injection of 100 μ L PBS containing puromycin (Sigma Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) at a dose of 0.040 μ mol/g 20 min before euthanasia with a ketamine/xylazine solution, as previously described [21]. Blood was collected and stored in heparin-coated collecting tubes. All collected samples (jejunum, colon, hypothalamus), except blood, were immediately dropped in liquid nitrogen and the time spent since puromycin injection was recorded for protein synthesis rate calculation. To collect plasma, blood samples were centrifuged at 3000 g at 4 °C for 20 min. Then, plasma was removed and stored at −80 °C.

2.2. Body Composition

Whole body composition was assessed on vigil animals at day 17 using Minispec LF110 (Brucker, Wissembourg, France), a fast nuclear magnetic resonance method.

2.3. Evaluation of Intestinal Permeability

Colonic paracellular permeability was assessed by measuring fluxes of FITC-Dextran (4 kDa) in Ussing chambers (Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA), as previously described [35]. Briefly, a physiological solution (HBSS) was placed in mucosal and serosal sides. After equilibration, FITC-Dextran (5 mg/mL) was added in the mucosal side. After 3 h at 37 °C, solution in the serosal side was collected and stored at −80 °C. Then, 100 μ L of each sample was dropped in a black 96-well plate and the fluorescence level of FITC-dextran was measured with a spectrometer (excitation: 485 nm; emission: 535 nm) Chameleon V (Hidex, Turku, Finland). Values were converted into concentration (mg/mL) using a standard curve.

2.4. Protein Extraction and Western Blotting

Tissues were homogenized in 400 μ L of ice-cold lysis buffer (200 μ L A2X buffer, 2 μ L dithiothreitol 100 mM, 50 μ L NP40 1%, 1 μ L protease inhibitors P8340, 2 μ L phosphatase inhibitors P2850, for H₂O 400 μ L) using TissueLyser LT (Qiagen, Courtabœuf, France). Then, samples were placed on ice for 20 min and centrifuged for 15 min at 12,000 g at 4 °C. Supernatants were collected and protein concentrations were assessed using the Bradford method (excitation: 485 nm; emission: 595 nm) [37]. Total protein samples (25 μ g) were separated by electrophoresis on 4–20 % gradient polyacrylamide gels (Biorad, Marnes-la-Coquette, France) for 30 min at 200 V and then transferred to a nitrocellulose membrane. The membranes were blocked for 2 h at room temperature with 5% BSA in Tris-buffered saline (10 mmol/L Tris, pH 8; 150 mmol/L NaCl) plus 0.2% Tween 20 (TBST). Then, membranes were incubated overnight at 4 °C with primary antibody and washed three times for 5 min in TBST followed by incubation with appropriate horseradish peroxidase (HRP) conjugated secondary antibody (1:5000 dilution, Dako, Santa Clara, CA, USA) for 1 h at room temperature. Afterwards, blots were washed three times for 5 min in TBST and immunocomplexes were revealed by using the enhanced chemiluminescence (ECL) detection system (GE Healthcare, Orsay, France). Protein bands were scanned (ImageScanner III; GE Healthcare) and quantified using Image-Quant TL software (GE Healthcare). Protein levels were normalized with β -actin (1:5000 dilution, A5441, mouse monoclonal antibody, Merck, Darmstadt, Germany).

2.5. Protein Synthesis Analysis by the SUnSET Method

Surface sensing of translation (SUnSET) is a non-radioactive method used for *in vivo* assessment of total protein synthesis [38]. Puromycin was integrated in peptide chain and formed puromycin-conjugated peptides, which were revealed by Western blotting as described above by using a specific mouse monoclonal anti-puromycin antibody (MABE343, clone 12D10, 1:5000; Merck Millipore, Darmstadt, Germany). To determine the total protein synthesis rate, the densitometry of each whole lane was assessed. Results were expressed as the ratio puromycin expression/min, as previously described.

2.6. RT-qPCR

Extraction of colonic and hypothalamic total RNAs, quantification and reverse transcription were performed, as previously described [39]. Then, qPCR was completed by SYBR Green technology on Bio-Rad CFX96 real-time PCR system (Bio-Rad Laboratories, Marnes la Coquette, France) for the following genes: *MUC-2*, *CLDN-1*, *CLDN-2*, *ZO-1*, *OCLDN*, *NPY*, *POMC*, *IL-10*, *TNF- α* , *IL-1 β* , *GAPDH*, β 2M, *18S* (Table S1). The mean of *GAPDH*, β 2M and *18S*, used as housekeeping genes, was calculated and used as reference. To convert cycle threshold values into concentration values, we used the mRNA absolute quantification based on standard curves.

2.7. Adiponectin and Leptin Plasma Concentrations

Adiponectin and leptin plasma levels were assessed by using Milliplex 96-well plate multiplex assay MADCYMAG-72K (Merck Millipore, Darmstadt, Germany) following supplier instructions and using a laser-based detection instrument, the Bioplex 2200 (BioRad Laboratories, Hercules, CA, USA).

2.8. Colonic Intracellular Signaling Pathways

RayBio® C-series Human and Mouse MAPK Pathway Phosphorylation Array C1 kits (RayBiotech, Tebu-bio, Le Perray en Yvelines, France) were used to measure the level of 17 proteins implicated in intracellular signaling. Briefly, nitrocellulose membranes were incubated for 2 h at room temperature in blocking buffer. Total colonic proteins (250 μ g) were diluted in 5 mL of blocking buffer (50 μ g/mL). Membranes were incubated for 4 h in diluted samples at room temperature. After washes, membranes were incubated overnight at 4 °C with detection antibody cocktail. After additional washes, HRP-Anti-Rabbit IgG (1:1000) was added for 2 h at room temperature. Chemiluminescence was detected on Amersham Hyperfilm ECL (GE Healthcare, Orsay, France). Spots were scanned (ImageScanner III; GE Healthcare) and quantified using Image-Quant TL software (GE Healthcare). Protein levels were normalized with the mean of positive control spots.

2.9. Statistical Analysis

Data were analyzed with GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) and expressed as mean $\pm$ standard error mean (SEM). Comparisons between two groups were performed using the unpaired two-tailed Student's *t*-test or non-parametric Mann-Whitney test, as appropriate. Concerning comparisons between three groups, differences were assessed using one-way ANOVA followed by Dunnet's multiple comparisons as a post hoc test; or two-way ANOVA followed by Bonferroni as a post hoc test. A value of $p < 0.05$ was considered as significant.

3. Results

3.1. Body Weight and Body Composition

As observed in our previous studies [14,20], there was no significant difference between all groups from day 1 to day 6 (Figure 1A,B). However, once the food access was reduced, body weight significantly decreased in all ABA groups from day 8. At day 17, body weight loss was about 19–22%

in ABA-C groups compared to day 6 ($p < 0.05$). Gln and BCAA supplementation did not affect body weight. ABA groups exhibited altered body composition with a decrease of both lean and fat mass (Figure 1C–F) without Gln and BCAA effects. ABA-C mice exhibited altered physical activity pattern. However, neither Gln nor BCAA supplementation affected physical activity.

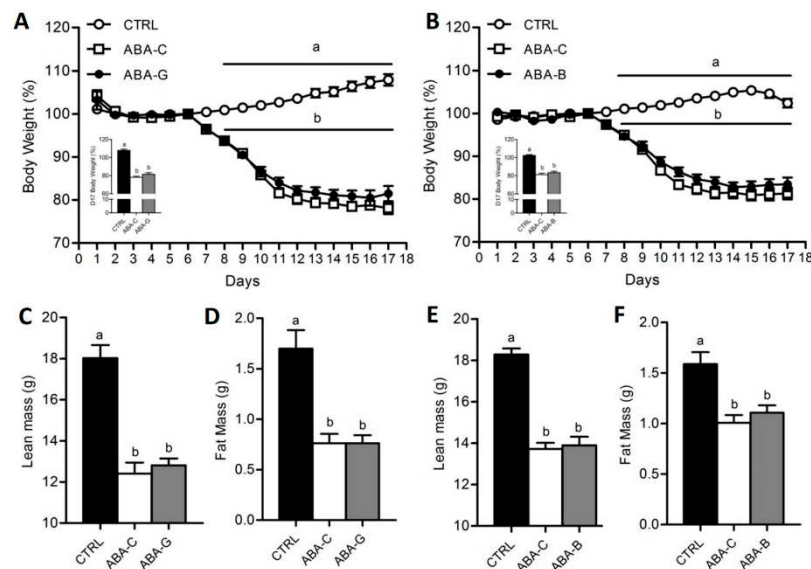


Figure 1. Body weight, lean mass and fat mass. Body weight was monitored each day, expressed in percentage compared to day 6, for both Gln (A) and BCAA (B) series with control mice (CTRL; open circles), non-supplemented activity-based anorexia mice (ABA-C; open squares, $n = 16$) and supplemented activity-based anorexia mice (ABA-G or ABA-B; closed squares). Body change at day 17 was measured, expressed in percentage compared to day 6, for both Gln and BCAA. Lean and fat mass, expressed in grams, were measured by using Minispec for both Gln (C,D) and BCAA (E,F) series. Column bar graphs showed control mice (CTRL; black bars), non-supplemented activity-based anorexia mice (ABA-C; open bars) and supplemented activity-based anorexia mice (ABA-G or ABA-B; grey bars). Values without a common letter significantly differ ($p < 0.05$). The number of mice was $n = 16$ for CTRL, $n = 16$ for ABA-C and $n = 12$ for ABA-G (A,C,D) and $n = 16$ for CTRL, $n = 16$ for ABA-C and $n = 14$ for ABA-B (B,E,F).

3.2. Food Intake and Hypothalamic Neuropeptides

Food intake was daily monitored for both Gln and BCAA series (Figure 2A,B). From day 1 to day 6, food consumption was similar in all groups. Since day 6, food intake was progressively decreased in ABA groups until day 9 when the food intake of mice was reduced by nearly 2 times compared to the control groups ($p < 0.05$). Then, neither Gln nor BCAA supplementation significantly affected daily food intake until day 16. Cumulative food intake during food limitation until the beginning of supplementation (from day 6 to day 11) was reduced in ABA groups (Figure 2C,E) in the same way as described above. However, during the supplementation period (from day 12 to day 16), we observed a trend for an increase of cumulative food intake in the ABA-G group compared with the ABA-C group ($p < 0.1$) that was not observed for the ABA-B group (Figure 2D,F). We thus analyzed the hypothalamic mRNA levels of orexigenic neuropeptide Y (NPY) and anorexigenic pro-opiomelanocortin (POMC) neuropeptides. The NPY mRNA level, in both series, was similarly increased in supplemented and

non-supplemented ABA groups compared with controls ($p < 0.05$). The mRNA level for POMC was only significantly decreased in ABA groups in the BCAA experiment. However, neither Gln nor BCAA affected POMC mRNA expression.

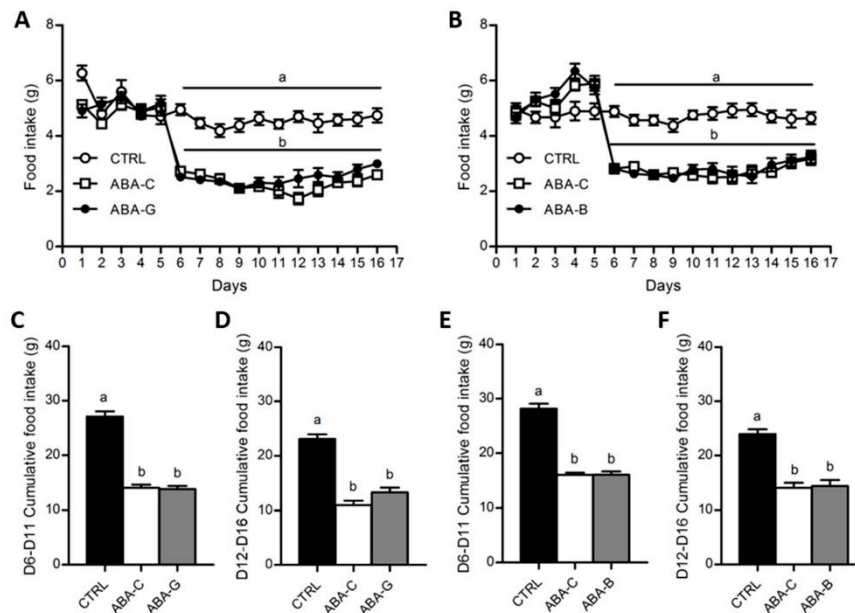


Figure 2. Food intake and cumulative food intake. Food intake was monitored each day, expressed in grams, for both Gln (A) and BCAA (B) series with control mice (CTRL; open circles), non-supplemented activity-based anorexia mice (ABA-C; open squares) and supplemented activity-based anorexia mice (ABA-G or ABA-B; closed squares). Cumulative food intake, expressed in grams, was calculated from day 6 to day 11 and from day 12 to day 16 (supplementation period) for both Gln (C,D) and BCAA (E,F) series. Column bar graphs showed control mice (CTRL; black bars), non-supplemented activity-based anorexia mice (ABA-C; open bars) and supplemented activity-based anorexia mice (ABA-G or ABA-B; grey bars). Values without a common letter significantly differ ($p < 0.05$). The number of mice was $n = 16$ for CTRL, $n = 16$ for ABA-C and $n = 12$ for ABA-G (A,C,D) and $n = 16$ for CTRL, $n = 16$ for ABA-C and $n = 14$ for ABA-B (B,E,F).

3.3. Colonic Permeability and Tight Junction mRNA

Here, we used FITC-Dextran to assess the paracellular permeability in colonic segment. In both Gln (Figure 3A) and BCAA (Figure 3B) experiments, colonic permeability was higher in ABA-C groups compared with control groups ($p < 0.05$). Interestingly, the ABA-G group exhibited a restoration of colonic permeability to control level (Figure 3A) that was not observed in the ABA-B group (Figure 3B), suggesting a specific beneficial effect of oral Gln supplementation on colonic permeability in the ABA model.

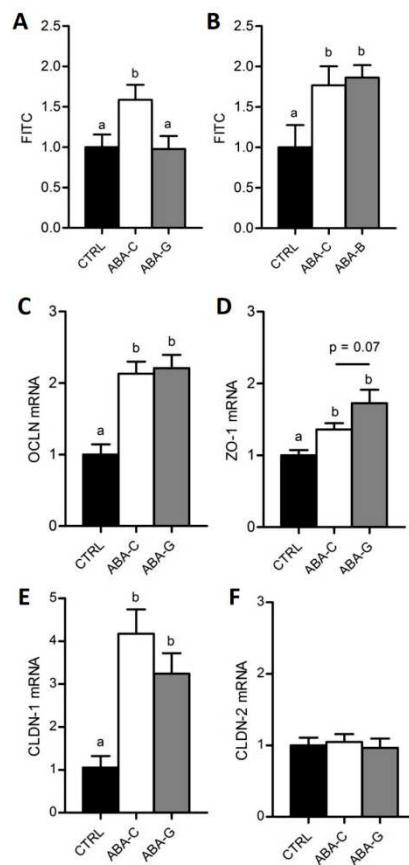


Figure 3. Colonic permeability and tight junction protein mRNA. Colonic paracellular permeability was evaluated in Ussing chambers with FITC-Dextran (4 kDa) in both Gln (A) and BCAA (B) series. Colonic tight junction protein mRNA levels were only assessed for Gln by using RT-qPCR: OCLN (C), ZO-1 (D), CLDN-1 (E) and CLDN-2 (F). Column bar graphs showed control mice (CTRL; black bars), non-supplemented activity-based anorexia mice (ABA-C; open bars) and supplemented activity-based anorexia mice (ABA-G or ABA-B; grey bars). Values without a common letter significantly differ ($p < 0.05$). The number of mice was $n = 15$ for CTRL, $n = 15$ for ABA-C and $n = 12$ for ABA-G (A), $n = 8$ for CTRL, $n = 8$ for ABA-C and $n = 7$ for ABA-B (B) and $n = 16$ for CTRL, $n = 16$ for ABA-C and $n = 12$ for ABA-G (C–F).

As Gln was able to limit colonic hyperpermeability in ABA mice, we assessed the level of mRNA coding for tight junction proteins in the Gln experiment. Concerning occludin (OCLN), claudin-1 (CLDN-1) and zonula occludens-1 (ZO-1), mRNA levels were increased in the ABA groups compared to the control group ($p < 0.05$) but there was no significant difference between Gln-supplemented and non-supplemented mice (Figure 3C–E). We observed a trend for an increase in the ZO-1 mRNA level in the ABA-G group compared with the ABA-C group, but the difference did not reach significance ($p = 0.07$). No difference occurred in any groups for claudin-2 (CLDN-2) mRNA (Figure 3F).

3.4. Mucin-2 mRNA and Colonic Protein Synthesis

The mucus layer plays a key role in the regulation of gut barrier function. We thus analyzed the mucin-2 (MUC-2) mRNA level, a major secretory mucin released by goblet cells. Control and ABA-C groups exhibited a similar level for MUC-2 mRNA (Figure 4A,B). Gln-supplemented mice showed a higher mRNA level for MUC-2 than ABA-C and Control mice ($p < 0.05$) (Figure 4A), whereas we did not observe any modification in BCAA-supplemented mice (Figure 4B), suggesting that only Gln was able to increase MUC-2 release.

We previously reported that the colonic protein synthesis rate was reduced in ABA mice compared with controls [21] by using the SuNSET method. In the present study, total colonic protein synthesis (Figure 4C) was reduced in ABA-C mice compared to controls in Gln and BCAA experiments ($p < 0.05$) but was increased in Gln-supplemented mice ($p < 0.05$). Total protein synthesis was restored in the colon of ABA-G mice to control the level. BCAA did not reproduce the Gln effect. In addition, protein synthesis remains similar between all groups in the jejunum. These results suggest that only Gln supplementation was able to restore the protein synthesis rate in the colon of ABA mice.

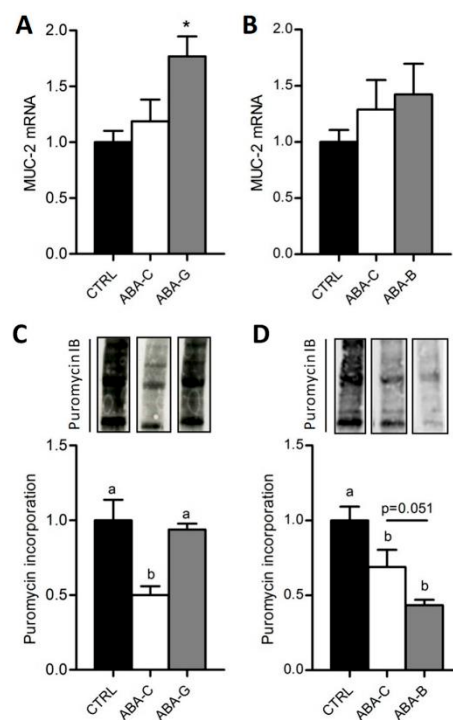


Figure 4. Colonic MUC-2 mRNA levels and total colonic protein synthesis. Colonic MUC-2 mRNA levels were evaluated by RT-qPCR in both Gln (A) and BCAA (B) series. The total colonic protein synthesis rate was measured with the SuNSET method in Gln (C) and BCAA (D) series with puromycin incorporation. Column bar graphs show control mice (CTRL; black bars), non-supplemented activity-based anorexia mice (ABA-C; open bars) and supplemented activity-based anorexia mice (ABA-G or ABA-B; grey bars). Values without a common letter significantly differ ($p < 0.05$); *, $p < 0.05$ vs. ABA-C using *t*-test. The number of mice was $n = 8$ for CTRL, $n = 5$ for ABA-C and $n = 5$ for ABA-G (A,C) and $n = 7$ for CTRL, $n = 16$ for ABA-C and $n = 14$ for ABA-B (B,D).

3.5. Colonic Inflammation and Plasmatic Adipose Tissue Markers

As Gln was able to specifically restore protein synthesis and paracellular permeability in the colon of ABA mice and as Gln was previously reported to regulate intestinal inflammatory response [40,41], we assessed in the Gln experiment the mRNA levels for pro- and anti-inflammatory cytokines in colonic samples. The ABA-C group exhibited a decrease in TNF α and IL-1 β mRNA levels (Figure 5A,B). Gln supplementation did not affect the TNF α mRNA level but partially restored IL-1 β mRNA expression. For MCP-1, we observed a trend for a decrease in mRNA levels in the ABA-C group that reached significance in the ABA-G group (Figure 5C). For IL-10, we observed a trend for a decrease of mRNA levels both in ABA-C and ABA-G groups (Figure 5D). ABA groups also exhibited a marked decrease in plasma leptin with no modification of plasma adiponectin (Figure 6A,B). However, Gln and BCAA supplementation did not affect plasma adipokine concentration.

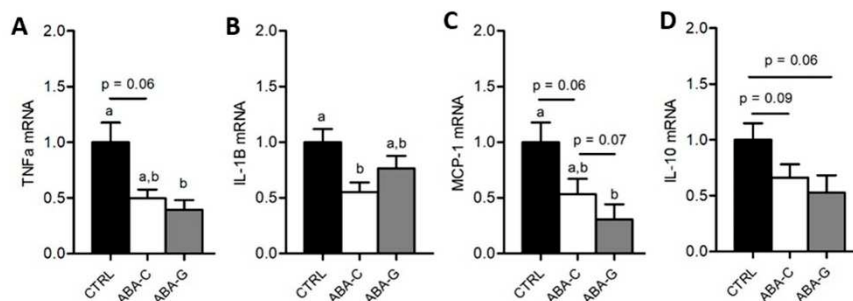


Figure 5. mRNA levels of colonic cytokines. The mRNA levels of colonic pro- and anti-inflammatory cytokines were evaluated by RT-qPCR for Gln experimentation: TNF- α (A), IL-1 β (B), MCP-1 (C) and IL-10 (D). Column bar graphs showed control mice (CTRL; black bars, $n = 16$), non-supplemented activity-based anorexia mice (ABA-C; open bars, $n = 16$) and supplemented activity-based anorexia mice (ABA-G; grey bars, $n = 12$). Values without a common letter significantly differ ($p < 0.05$).

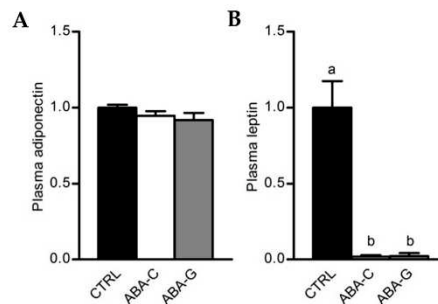


Figure 6. Plasmatic levels of adiponectin and leptin. Adiponectin (A) and leptin (B) plasmatic levels were measured for Gln supplementation test by multiplex assay. Column bar graphs show control mice (CTRL; black bars, $n = 8$), non-supplemented activity-based anorexia mice (ABA-C; open bars, $n = 8$) and supplemented activity-based anorexia mice (ABA-G; grey bars, $n = 7$). Values without a common letter significantly differ ($p < 0.05$).

3.6. Signaling Pathways

To better understand the mechanisms involved in the effects of Gln on protein synthesis and colonic permeability, we assessed the phosphorylation state of signaling proteins by using a macro-array kit.

As shown in Figure 7, the level of phosphorylated mTOR was decreased in both ABA-C and ABA-G groups compared to control mice. However, phosphorylated GSK3b was increased in the ABA-G group but not in the ABA-C group. All other markers remained unaffected by Gln supplementation.

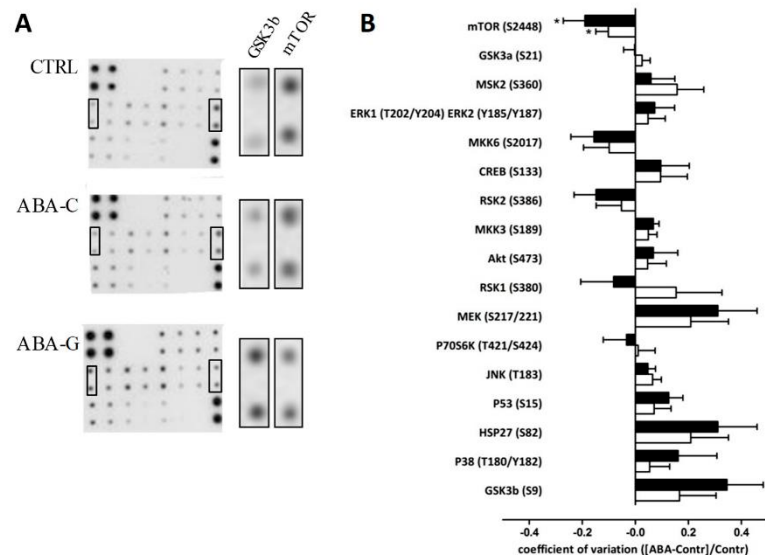


Figure 7. Colonic phosphorylation levels of proteins involved in signaling pathways. Phosphorylation levels of 17 proteins involved in the signaling pathway were evaluated by the MAPK array kit. Representative membranes are shown (A) for each group: CTRL, ABA-C and ABA-G, ($n = 8$ /group). Horizontal graph bar columns (B) show differential ratio levels in ABA-C (open bars) and ABA-G (black bars) compared to control mice. *: $p < 0.05$ vs. CTRL.

4. Discussion

Although AN is an eating disorder associated with severe body weight loss and frequent functional intestinal complaints that are only partially improved by refeeding, there is no specific treatment for AN. In addition, 9 to 52% of patients relapse after body weight restoration [42]. Over the last decade, the contribution of the gut–brain axis in the regulation of feeding and mood behaviors has emerged. We have thus evaluated the effects of specific amino acids: glutamine and brain chain amino acids in a mouse model of anorexia, the ABA model. Here, we demonstrate that oral Gln supplementation is able to specifically improve colonic parameters in ABA mice since BCAA supplementation remains inefficient. However, neither Gln nor BCAA affect body weight and composition.

In the present study, ABA mice exhibited severe body weight loss associated with a decrease in both lean and fat mass. Amino acids supplementation was not able to modify body weight and composition in our model. During other conditions such as ageing, BCAA and particularly leucine have been efficient in promoting muscle growth [34,43,44], even if other studies failed to demonstrate improved muscle mass after long-term BCAA supplementation [45]. Gln also failed to improve body weight and composition. In muscle, Gln represents nearly 50 to 60% of the total amino acid pool [46]. Under acute injury, muscle proteins are degraded, leading to Gln production. In anorectic patients, increased serum Gln has been reported, suggesting muscle protein degradation [47]. In our study, mice were not refed; this could explain the lack of BCAA and Gln effects by unmet energy needs. Regarding feeding behavior, we observed that only Gln was able to slightly increase cumulative food intake during the period of amino acids supplementation. ABA mice exhibited hypothalamic

adaptive response with increased NPY and reduced POMC mRNA levels but neither Gln nor BCAA affected them. As the role of the gut–brain axis has been underlined in the control of feeding behavior, we focused on the colonic effects of amino acids.

As we previously reported [14,48], ABA mice showed an increase of approximately 50% in colonic permeability compared to control mice, which could be partially explained by undernutrition that is known to enhance intestinal hyperpermeability [49,50]. However, intestinal permeability in AN patients is poorly documented. Surprisingly, Monteleone et al. showed a reduction in intestinal permeability in moderately undernourished AN patients [12]. In the ABA model combining physical hyperactivity, severe body weight loss and low food intake, colonic permeability was enhanced while jejunal permeability remained unaffected [14]. Interestingly, in the present study, oral Gln supplementation was able to restore colonic paracellular permeability to the control level; this was not observed for BCAA supplementation. In addition, a trend for an increase in ZO-1 mRNA was observed in the Gln-supplemented group compared with the not supplemented group ($p = 0.07$). Our data are in accordance with previous studies showing an improvement of gut barrier function by Gln in other pathophysiological conditions [24]. For instance, oral Gln supplementation restored jejunal permeability during mucositis in rats [51] and partially limited colonic hyperpermeability in stressed mice [35]. Randomized clinical trials evaluating the effects of oral Gln supplementation also showed reduced intestinal permeability in patients with irritable bowel syndrome [29] or in chemotherapy-treated patients [52,53]. In Zhou's study, whey proteins were used as a control underlying the specificity of Gln effects as in the present study. Then, to better understand the mechanisms by which Gln regulates colonic permeability, we evaluated other parameters such as MUC-2 mRNA or colonic protein synthesis.

MUC-2 is a major secretory mucin contributing to the mucus layer. In ABA supplemented with Gln, MUC-2 mRNA was increased compared with controls while BCAA did not reproduce these results. During parenteral nutrition, Gln enhanced the production of MUC-2 mRNA in the intestinal tract [28]. In burned rats, intragastric Gln infusion restored MUC-2 to control levels while MUC-2 was reduced in burned rats receiving intragastric alanine [54]. In the present study, BCAA did not affect MUC-2 whereas Mao et al. showed that leucine was able to improve MUC-2 synthesis in human colonic epithelial cell LS174T via the PI3K–Akt–mTOR pathway [55].

Finally, we evaluated total protein synthesis because ABA mice had a reduced protein synthesis in the colonic mucosa in a previous study [21] and both Gln and BCAA stimulated protein synthesis in intestinal tissues in different conditions [27]. In the present study, colonic protein synthesis was reduced in ABA mice, probably through a decrease in p70S6 kinase phosphorylation, as previously reported [21]. Oral Gln supplementation restored protein synthesis to control levels but did not affect p70S6 kinase. However, Gln-supplemented animals exhibited an increase in phosphorylated GSK3b, suggesting an inactivation of GSK3b that has been recently shown to favor glutaminolysis and thus glutamine utilization as a carbon source in lung cancer cells [56]. On the contrary, BCAA supplementation did not affect colonic protein synthesis in the present study, showing a specific effect of Gln. In Caco-2 cells, leucine supplementation increased protein synthesis through the mTOR pathway [57] that was not observed in the duodenal mucosa of healthy volunteers [58]. All these data underline that oral Gln improves colonic metabolism and colonic barrier function. It should be thus of interest to further evaluate putative intestinal disorders (motility, visceral sensitivity) that are frequent in AN patients [9,59] but that remains poorly documented in an animal model of AN. As observed in AN patients, gastric emptying was delayed in the ABA mice [60] but colonic functions should be further investigated.

Our study has some limitations. First, we used a middle-term ABA model, as previously described [14,20,21,48,60,61]. Initially, the ABA model was developed according to a short-term protocol [62,63]. More recently, a modified ABA protocol has been reported, leading to long-term starvation [64,65]. It should thus be interesting to evaluate nutritional interventions in those models that mimic metabolic disturbances observed in AN patients. Second, we did not include, in our

study, food restricted and active control groups because we mainly aimed to evaluate the effects of amino acids in ABA mice but also because of ethical considerations. Finally, we were not able to describe the detailed mechanisms of action of glutamine on colonic barrier function. Recently, AMPK activation has been reported to enhance enterocytes polarization and ameliorate the assembly of tight junction proteins, leading to an improvement of intestinal barrier function [66], probably through the AMPK–CDX2 pathway [67]. The role of AMPK in the regulation of gut barrier function in ABA mice and its modulation by glutamine requires further investigation.

In conclusion, in a mouse model mimicking AN, oral glutamine supplementation ameliorates barrier function and protein synthesis in the colon without affecting body weight and composition. Those effects were not reproduced by branched-chain amino acids. Further studies should be conducted to evaluate the impact of Gln on intestinal disorders and to confirm these data in AN patients.

Supplementary Materials: The following are available online at <http://www.mdpi.com/2072-6643/11/6/1348/s1>, Table S1: Primers sequences used for qPCR.

Author Contributions: The authors contributed to this work as follow: “conceptualization, M.C. and P.D.; formal analysis, C.L. and M.C.; investigation, C.L., M.J., N.A., L.B., A.A., S.N., A.G., E.S. and W.B.; resources, J.-L.d.R.; writing—original draft preparation, C.L. and M.C.; writing—review and editing, A.G., S.N. and P.D.; visualization, C.L. and M.C.; supervision, M.C.; project administration, C.L. and M.C.; funding acquisition, M.C. and P.D.”

Funding: This research was funded by the Charles Nicolle Foundation. The APC was funded by Charles Nicolle Foundation’s grant.

Acknowledgments: We want to address our special thanks to the Charles Nicolle Foundation and the Nutriset Company for their support. The study was also supported by European Union and Normandie Regional Council. Europe gets involved in Normandie with European Regional Development Fund (ERDF).

Conflicts of Interest: Pierre Déchelotte is the co-founder of the TargEDys Company. All others authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

1. American Psychiatric Association (APA). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 5th ed.; American Psychiatric Publishing: Arlington, VA, USA, 2013; ISBN 978-0-89042-554-1.
2. Andreeva, V.A.; Tavoracci, M.-P.; Galan, P.; Ladner, J.; Buscail, C.; Péneau, S.; Galmiche, M.; Hercberg, S.; Déchelotte, P.; Julia, C. Sociodemographic correlates of eating disorder subtypes among men and women in France, with a focus on age. *J. Epidemiol. Community Health* **2019**, *73*, 56–64. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Rigaud, D.; Pennacchio, H.; Bizeul, C.; Reveillard, V.; Vergès, B. Outcome in AN adult patients: A 13-year follow-up in 484 patients. *Diabetes Metab.* **2011**, *37*, 305–311. [[CrossRef](#)]
4. Lulé, D.; Schulze, U.M.E.; Bauer, K.; Schöll, F.; Müller, S.; Fladung, A.-K.; Uttner, I. Anorexia nervosa and its relation to depression, anxiety, alexithymia and emotional processing deficits. *Eat. Weight Disord. Stud. Anorex. Bulim. Obes.* **2014**, *19*, 209–216. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Achamrah, N.; Coëffier, M.; Déchelotte, P. Physical activity in patients with anorexia nervosa. *Nutr. Rev.* **2016**, *74*, 301–311. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Meczekalski, B.; Podfigurna-Stopa, A.; Katulski, K. Long-term consequences of anorexia nervosa. *Maturitas* **2013**, *75*, 215–220. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Stheneur, C.; Bergeron, S.J.; Frappier, J.-Y.; Jamoulle, O.; Taddeo, D.; Sznajder, M.; Lapeyraque, A.-L. Renal injury in pediatric anorexia nervosa: A retrospective study. *Eat. Weight Disord. Stud. Anorex. Bulim. Obes.* **2019**, *24*, 323–327. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Legroux-Gerot, I.; Vignau, J.; Collier, F.; Cortet, B. Bone loss associated with anorexia nervosa. *Jt. Bone Spine* **2005**, *72*, 489–495. [[CrossRef](#)]
9. Norris, M.L.; Harrison, M.E.; Isserlin, L.; Robinson, A.; Feder, S.; Sampson, M. Gastrointestinal complications associated with anorexia nervosa: A systematic review: GASTROINTESTINAL COMPLICATIONS IN ANOREXIA NERVOSA. *Int. J. Eat. Disord.* **2016**, *49*, 216–237. [[CrossRef](#)]
10. Schwensen, H.F.; Kan, C.; Treasure, J.; Høiby, N.; Sjögren, M. A systematic review of studies on the faecal microbiota in anorexia nervosa: Future research may need to include microbiota from the small intestine. *Eat. Weight Disord. Stud. Anorex. Bulim. Obes.* **2018**, *23*, 399–418. [[CrossRef](#)]

11. Breton, J.; Déchelotte, P.; Ribet, D. Intestinal microbiota and Anorexia Nervosa. *Clin. Nutr. Exp.* **2019**. [\[CrossRef\]](#)
12. Monteleone, P.; Carratù, R.; Carteni, M.; Generoso, M.; Lamberti, M.; Magistris, L.D.; Brambilla, F.; Colurcio, B.; Secondulfo, M.; Maj, M. Intestinal permeability is decreased in anorexia nervosa. *Mol. Psychiatry* **2004**, *9*, 76–80. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Mörk, S.; Lackner, S.; Meinitzer, A.; Mangge, H.; Lehofer, M.; Halwachs, B.; Gorkiewicz, G.; Kashofer, K.; Painold, A.; Holl, A.K.; et al. Gut microbiota, dietary intakes and intestinal permeability reflected by serum zonulin in women. *Eur. J. Nutr.* **2018**, *57*, 2985–2997. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Jésus, P.; Ouelaa, W.; François, M.; Riachy, L.; Guérin, C.; Aziz, M.; Do Rego, J.-C.; Déchelotte, P.; Fetissov, S.O.; Coëffier, M. Alteration of intestinal barrier function during activity-based anorexia in mice. *Clin. Nutr.* **2014**, *33*, 1046–1053. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Bargiacchi, A.; Clarke, J.; Paulsen, A.; Leger, J. Refeeding in anorexia nervosa. *Eur. J. Pediatrics* **2019**, *178*, 413–422. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
16. Misra, M.; Soyka, L.A.; Miller, K.K.; Grinspoon, S.; Levitsky, L.L.; Klibanski, A. Regional body composition in adolescents with anorexia nervosa and changes with weight recovery. *Am. J. Clin. Nutr.* **2003**, *77*, 1361–1367. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
17. Mack, I.; Cuntz, U.; Grämer, C.; Niedermaier, S.; Pohl, C.; Schwiertz, A.; Zimmermann, K.; Zipfel, S.; Enck, P.; Penders, J. Weight gain in anorexia nervosa does not ameliorate the faecal microbiota, branched chain fatty acid profiles, and gastrointestinal complaints. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 26752. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
18. Kaye, W.H.; Bailer, U.F.; Frank, G.K.; Wagner, A.; Henry, S.E. Brain imaging of serotonin after recovery from anorexia and bulimia nervosa. *Physiol. Behav.* **2005**, *86*, 15–17. [\[CrossRef\]](#)
19. Achamrah, N.; Déchelotte, P.; Coëffier, M. New therapeutic approaches to target gut-brain axis dysfunction during anorexia nervosa. *Clin. Nutr. Exp.* **2019**. [\[CrossRef\]](#)
20. Belmonte, L.; Achamrah, N.; Nobis, S.; Guérin, C.; Riou, G.; Bôle-Feysot, C.; Boyer, O.; Richard, V.; Rego, J.C.D.; Déchelotte, P.; et al. A role for intestinal TLR4-driven inflammatory response during activity-based anorexia. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 35813. [\[CrossRef\]](#)
21. Nobis, S.; Achamrah, N.; Goichon, A.; L'Huillier, C.; Morin, A.; Guérin, C.; Chan, P.; Rego, J.L.; Rego, J.C.; Vaudry, D.; et al. Colonic Mucosal Proteome Signature Reveals Reduced Energy Metabolism and Protein Synthesis but Activated Autophagy during Anorexia-Induced Malnutrition in Mice. *Proteomics* **2018**, *18*, 1700395. [\[CrossRef\]](#)
22. Lacey, J.M.; Wilmore, D.W. Is Glutamine a Conditionally Essential Amino Acid? *Nutr. Rev.* **2009**, *48*, 297–309. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Wang, B.; Wu, G.; Zhou, Z.; Dai, Z.; Sun, Y.; Ji, Y.; Li, W.; Wang, W.; Liu, C.; Han, F.; et al. Glutamine and intestinal barrier function. *Amino Acids* **2015**, *47*, 2143–2154. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Achamrah, N.; Déchelotte, P.; Coëffier, M. Glutamine and the regulation of intestinal permeability: From bench to bedside. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2017**, *20*, 86–91. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Coëffier, M. Modulating effect of glutamine on IL-1 β -induced cytokine production by human gut. *Clin. Nutr.* **2003**, *22*, 407–413. [\[CrossRef\]](#)
26. Bertrand, J.; Marion-Letellier, R.; Azhar, S.; Chan, P.; Legrand, R.; Goichon, A.; Ghouzali, I.; Aziz, M.; Vaudry, D.; Savoye, G.; et al. Glutamine enema regulates colonic ubiquitinated proteins but not proteasome activities during TNBS-induced colitis leading to increased mitochondrial activity. *Proteomics* **2015**, *15*, 2198–2210. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
27. Bertrand, J.; Goichon, A.; Déchelotte, P.; Coëffier, M. Regulation of intestinal protein metabolism by amino acids. *Amino Acids* **2013**, *45*, 443–450. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
28. Wang, X.; Pierre, J.F.; Heneghan, A.F.; Busch, R.; Kudsk, K.A. Glutamine improves innate immunity and prevents bacterial enteroinvasion during parenteral nutrition. *J. Parenter. Enter. Nutr.* **2015**, *39*, 688–697. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
29. Zhou, Q.; Verne, M.L.; Fields, J.Z.; Lefante, J.J.; Basra, S.; Salameh, H.; Verne, G.N. Randomised placebo-controlled trial of dietary glutamine supplements for postinfectious irritable bowel syndrome. *Gut* **2019**, *68*, 996–1002.
30. Kim, D.-H.; Kim, S.-H.; Jeong, W.-S.; Lee, H.-Y. Effect of BCAA intake during endurance exercises on fatigue substances, muscle damage substances, and energy metabolism substances. *J. Exerc. Nutr. Biochem.* **2013**, *17*, 169–180. [\[CrossRef\]](#)

31. Rahimi, M.H.; Shab-Bidar, S.; Mollahosseini, M.; Djafarian, K. Branched-chain amino acid supplementation and exercise-induced muscle damage in exercise recovery: A meta-analysis of randomized clinical trials. *Nutrition* **2017**, *42*, 30–36. [CrossRef]
32. Fujita, S.; Volpi, E. Amino Acids and Muscle Loss with Aging. *J. Nutr.* **2006**, *136*, 277S–280S. [CrossRef] [PubMed]
33. Fouré, A.; Bendahan, D. Is Branched-Chain Amino Acids Supplementation an Efficient Nutritional Strategy to Alleviate Skeletal Muscle Damage? A Systematic Review. *Nutrients* **2017**, *9*, 1047. [CrossRef] [PubMed]
34. Platt, K.M.; Charnigo, R.J.; Shertzer, H.G.; Pearson, K.J. Branched-Chain Amino Acid Supplementation in Combination with Voluntary Running Improves Body Composition in Female C57BL/6 Mice. *J. Diet. Suppl.* **2016**, *13*, 473–486. [CrossRef] [PubMed]
35. Ghouzali, I.; Lemaitre, C.; Bahloul, W.; Azhar, S.; Bôle-Feysot, C.; Meleine, M.; Ducrotté, P.; Déchelotte, P.; Coëffier, M. Targeting immunoproteasome and glutamine supplementation prevent intestinal hyperpermeability. *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* **2017**, *1861*, 3278–3288. [CrossRef] [PubMed]
36. Ohashi, H.; Sukegawa, E.; Takami, T.; Yoshida, T.; Muto, Y. Effects of Supplementation with Branched-Chain Amino Acids on Protein-Nutritional Status in Rats Treated by Carbon Tetrachloride. Available online: <https://europepmc.org/abstract/med/2585790> (accessed on 18 April 2019).
37. Bradford, M.M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem.* **1976**, *72*, 248–254. [CrossRef]
38. Schmidt, E.K.; Clavarino, G.; Ceppi, M.; Pierre, P. SUNSET, a nonradioactive method to monitor protein synthesis. *Nat. Methods* **2009**, *6*, 275–277. [CrossRef] [PubMed]
39. Coëffier, M.; Miralles-Barrachina, O.; Le Pessot, F.; Lalaude, O.; Daveau, M.; Lavoinne, A.; Lerebours, E.; Déchelotte, P. Influence of Glutamine on Cytokine Production by Human Gut in vitro. *Cytokine* **2001**, *13*, 148–154. [CrossRef] [PubMed]
40. Hubert-Buron, A.; Leblond, J.; Jacquot, A.; Ducrotté, P.; Déchelotte, P.; Coëffier, M. Glutamine Pretreatment Reduces IL-8 Production in Human Intestinal Epithelial Cells by Limiting I κ B α Ubiquitination. *J. Nutr.* **2006**, *136*, 1461–1465. [CrossRef]
41. Kretzmann, N.A.; Fillmann, H.; Mauriz, J.L.; Marroni, C.A.; Marroni, N.; González-Gallego, J.; Tuñón, M.J. Effects of glutamine on proinflammatory gene expression and activation of nuclear factor kappa B and signal transducers and activators of transcription in TNBS-induced colitis. *Inflamm. Bowel Dis.* **2008**, *14*, 1504–1513. [CrossRef] [PubMed]
42. Khalsa, S.S.; Portnoff, L.C.; McCurdy-McKinnon, D.; Feusner, J.D. What happens after treatment? A systematic review of relapse, remission, and recovery in anorexia nervosa. *J. Eat. Disord.* **2017**, *5*, 20. [CrossRef]
43. Pereira, M.G.; Silva, M.T.; da Cunha, F.M.; Moriscot, A.S.; Aoki, M.S.; Miyabara, E.H. Leucine supplementation improves regeneration of skeletal muscles from old rats. *Exp. Gerontol.* **2015**, *72*, 269–277. [CrossRef] [PubMed]
44. Rieu, I.; Balage, M.; Sornet, C.; Giraudet, C.; Pujos, E.; Grizard, J.; Mosoni, L.; Dardevet, D. Leucine supplementation improves muscle protein synthesis in elderly men independently of hyperaminoacidaemia. *J. Physiol.* **2006**, *575*, 305–315. [CrossRef] [PubMed]
45. Verhoeven, S.; Vanschoonbeek, K.; Verdijk, L.B.; Koopman, R.; Wodzig, W.K.; Dendale, P.; Loon, V.; Jc, L. Long-term leucine supplementation does not increase muscle mass or strength in healthy elderly men. *Am. J. Clin. Nutr.* **2009**, *89*, 1468–1475. [CrossRef] [PubMed]
46. Cruzat, V.; Macedo Rogero, M.; Noel Keane, K.; Curi, R.; Newsholme, P. Glutamine: Metabolism and Immune Function, Supplementation and Clinical Translation. *Nutrients* **2018**, *10*, 1564. [CrossRef] [PubMed]
47. Nakazato, M.; Hashimoto, K.; Schmidt, U.; Tchanturia, K.; Campbell, I.C.; Collier, D.A.; Iyo, M.; Treasure, J. Serum glutamine, set-shifting ability and anorexia nervosa. *Ann. Gen. Psychiatry* **2010**, *9*, 29. [CrossRef] [PubMed]
48. Achamrah, N.; Nobis, S.; Breton, J.; Jésus, P.; Belmonte, L.; Maurer, B.; Legrand, R.; Bôle-Feysot, C.; Rego, J.L.; Goichon, A.; et al. Maintaining physical activity during refeeding improves body composition, intestinal hyperpermeability and behavior in anorectic mice. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 21887. [CrossRef] [PubMed]
49. Attia, S.; Feenstra, M.; Swain, N.; Cuesta, M.; Bandsma, R. Starved Guts. *J. Pediatric Gastroenterol. Nutr.* **2017**, *65*, 491–495. [CrossRef] [PubMed]
50. Genton, L.; Cani, P.D.; Schrenzel, J. Alterations of gut barrier and gut microbiota in food restriction, food deprivation and protein-energy wasting. *Clin. Nutr.* **2015**, *34*, 341–349. [CrossRef] [PubMed]

51. Beutheu, S.; Ouelaa, W.; Guérin, C.; Belmonte, L.; Aziz, M.; Tennoune, N.; Bôle-Feysot, C.; Galas, L.; Déchelotte, P.; Coëffier, M. Glutamine supplementation, but not combined glutamine and arginine supplementation, improves gut barrier function during chemotherapy-induced intestinal mucositis in rats. *Clin. Nutr.* **2014**, *33*, 694–701. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Li, Y.; Yu, Z.; Liu, F.; Tan, L.; Wu, B.; Li, J. Oral Glutamine Ameliorates Chemotherapy-induced Changes of Intestinal Permeability and Does not Interfere with the Antitumor Effect of Chemotherapy in Patients with Breast Cancer: A Prospective Randomized Trial. *Tumori J.* **2006**, *92*, 396–401. [[CrossRef](#)]
53. Choi, K.; Lee, S.S.; Oh, S.J.; Lim, S.Y.; Lim, S.Y.; Jeon, W.K.; Oh, T.Y.; Kim, J.W. The effect of oral glutamine on 5-fluorouracil/leucovorin-induced mucositis/stomatitis assessed by intestinal permeability test. *Clin. Nutr.* **2007**, *26*, 57–62. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Wang, Z.-E.; Wu, D.; Zheng, L.-W.; Shi, Y.; Wang, C.; Chen, Z.-H.; Peng, X. Effects of glutamine on intestinal mucus barrier after burn injury. *Am. J. Transl. Res.* **2018**, *10*, 3833–3846. [[PubMed](#)]
55. Mao, X.; Hu, H.; Tang, J.; Chen, D.; Yu, B. Leucine increases mucin 2 and occludin production in LS174T cells partially via PI3K-Akt-mTOR pathway. *Anim. Nutr.* **2016**, *2*, 218–224. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Momcilovic, M.; Bailey, S.T.; Lee, J.T.; Fishbein, M.C.; Braas, D.; Go, J.; Graeber, T.G.; Parlati, F.; Demo, S.; Li, R.; et al. The GSK3 Signaling Axis Regulates Adaptive Glutamine Metabolism in Lung Squamous Cell Carcinoma. *Cancer Cell* **2018**, *33*, 905–921. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Ban, H.; Shigemitsu, K.; Yamatsuji, T.; Haisa, M.; Nakajo, T.; Takaoka, M.; Nobuhisa, T.; Gunduz, M.; Tanaka, N.; Naomoto, Y. Arginine and Leucine regulate p70 S6 kinase and 4E-BP1 in intestinal epithelial cells. *Int. J. Mol. Med.* **2004**, *13*, 537–543. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Coëffier, M.; Claeysens, S.; Bensifi, M.; Lecleire, S.; Boukhettala, N.; Maurer, B.; Donnadieu, N.; Lavoine, A.; Caillex, A.-F.; Déchelotte, P. Influence of leucine on protein metabolism, phosphokinase expression, and cell proliferation in human duodenum. *Am. J. Clin. Nutr.* **2011**, *93*, 1255–1262. [[CrossRef](#)]
59. Kamal, N.; Chami, T.; Andersen, A.; Rosell, F.A.; Schuster, M.M.; Whitehead, W.E. Delayed gastrointestinal transit times in anorexia nervosa and bulimia nervosa. *Gastroenterology* **1991**, *101*, 1320–1324. [[CrossRef](#)]
60. Nobis, S.; Morin, A.; Achamrah, N.; Belmonte, L.; Legrand, R.; Chan, P.; Rego, J.-L.; Vaudry, D.; Gourcerol, G.; Déchelotte, P.; et al. Delayed gastric emptying and altered antrum protein metabolism during activity-based anorexia. *Neurogastroenterol. Motil.* **2018**, *30*, e13305. [[CrossRef](#)]
61. Nobis, S.; Goichon, A.; Achamrah, N.; Guérin, C.; Azhar, S.; Chan, P.; Morin, A.; Bôle-Feysot, C.; do Rego, J.C.; Vaudry, D.; et al. Alterations of proteome, mitochondrial dynamic and autophagy in the hypothalamus during activity-based anorexia. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 7233. [[CrossRef](#)]
62. Routtenberg, A.; Kuznesof, A.W. Self-starvation of rats living in activity wheels on a restricted feeding schedule. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **1967**, *64*, 414–421. [[CrossRef](#)]
63. Hillebrand, J.J.G.; Kas, M.J.H.; Adan, R.A.H. a-MSH enhances activity-based anorexia. *Peptides* **2005**, *26*, 1690–1696. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Méquinion, M.; Le Thuc, O.; Zgheib, S.; Alexandre, D.; Chartrel, N.; Rovère, C.; Hardouin, P.; Viltart, O.; Chauveau, C. Long-Term Energy Deficit in Mice Causes Long-Lasting Hypothalamic Alterations after Recovery. *Neuroendocrinology* **2017**, *105*, 372–383. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Frintrop, L.; Trinh, S.; Liesbrock, J.; Paulukat, L.; Kas, M.J.; Tolba, R.; Konrad, K.; Herpertz-Dahlmann, B.; Beyer, C.; Seitz, J. Establishment of a chronic activity-based anorexia rat model. *J. Neurosci. Methods* **2018**, *293*, 191–198. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Zhu, M.-J.; Sun, X.; Du, M. AMPK in regulation of apical junctions and barrier function of intestinal epithelium. *Tissue Barriers* **2018**, *6*, 1–13. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Sun, X.; Yang, Q.; Rogers, C.J.; Du, M.; Zhu, M.-J. AMPK improves gut epithelial differentiation and barrier function via regulating Cdx2 expression. *Cell Death Differ.* **2017**, *24*, 819–831. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



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

ARTICLE 2

RÉSUMÉ

Notre première étude a montré que la Gln restaurait la synthèse protéique et la perméabilité paracellulaire dans le colon tout en augmentant légèrement la prise alimentaire cumulée. Ces effets n'ont pas été retrouvés avec les BCAA. Ni la Gln, ni les BCAA n'ont amélioré la composition corporelle, peut-être en raison d'un apport calorique insuffisant. C'est pourquoi nous avons choisi d'évaluer, dans le modèle ABA, les effets d'une supplémentation orale en Gln ou en BCAA combinée à une renutrition progressive. Des souris mâles C57Bl/6 âgées de 8 semaines ont été randomisées en un groupe contrôle (CTRL) et un groupe ABA. Après induction de l'anorexie, les souris ABA ont été randomisées au jour 14 en quatre sous-groupes : sans renutrition ni supplémentation (ABA-C), renourries non supplémentées (ABA-Rf), renourries et supplémentées en Gln (ABA-Rf-G) ou en BCAA (ABA-Rf-B).

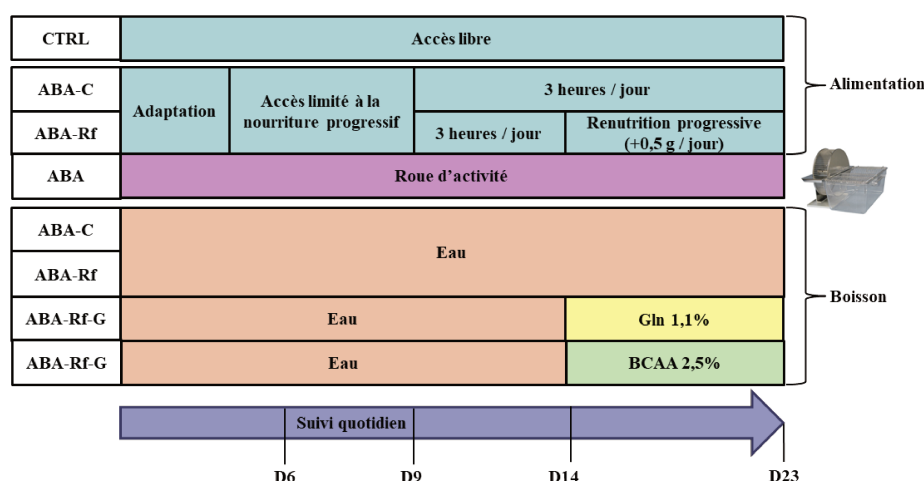


Figure 22 : Schéma du protocole ABA avec renutrition et supplémentation en Gln ou BCAA.

La renutrition a permis une restauration partielle de la masse maigre. Un rebond de masse grasse était présent chez tous les groupes renourris mais celui-ci tendait à être plus important avec la supplémentation en BCAA. La reprise de masse grasse des groupes renourris est associée à une restauration de la leptinémie. Aucun effet des acides aminés n'a été observé sur la synthèse protéique musculaire. En revanche, dans le colon, la Gln a permis une restauration de la synthèse protéique totale via l'augmentation de la phosphorylation de la p70S6kinase se traduisant par une augmentation de l'expression des protéines de jonctions serrées claudine-1 et occludine. Bien que ces paramètres étaient partiellement restaurés, la Gln a amplifié cet effet alors que les BCAA semblaient les atténuer. Les mécanismes de cet effet inhibiteur des BCAA

devront faire l'objet de recherches ultérieures. Cependant, cette étude a confirmé les effets bénéfiques sur le colon de la Gln observés précédemment et en fait un bon candidat pour une optimisation des produits de renutrition destinés aux personnes anorexiques.

Influence of glutamine and branched-chain amino acids supplementation during refeeding in activity-based anorectic mice.

Clément L'Huillier 1,2, Marine Jarbeau 1,2, Floriane Pigeon 1,2, Wafa Bahlouli 1,2, Asma Amamou 1,2, Alexis Goichon 1,2, Pauline Tirelle 1,2, Jean-Luc do Rego 2,3, Pierre Déchelotte 1,2,4, Moïse Coëffier 1,2,4.

1 Normandie University, UNIROUEN, INSERM UMR 1073 “Nutrition, inflammation and gut-brain axis”, Rouen, France

2 Institute of Research and Innovation in Biomedicine (IRIB), UNIROUEN, Rouen, France

3 Animal Behavior Facility, SCAC, UNIROUEN, France

4 Department of Nutrition, Rouen University Hospital, Rouen, France

*Corresponding author: Moïse Coëffier - INSERM U1073, UFR Santé, 22 boulevard Gambetta, 76183 ROUEN cedex France – tel +33235148240; moise.coeffier@univ-rouen.fr

ABSTRACT

Background: Optimizing refeeding of patients with anorexia nervosa remains an important issue to limit somatic complications of malnutrition but also to avoid disease relapses by targeting for instance persistent mood and intestinal disorders. We thus aimed to evaluate the effects of glutamine (Gln) and branched chain amino acids (BCAA) supplementation during refeeding in activity-based anorectic (ABA) mice.

Method: Male C57Bl/6 mice were randomized in control and ABA groups. Once ABA-induced malnutrition was observed, mice were progressively refeed or not. Refed mice had free access to drinking water supplemented or not with 1% Gln or 2.5% BCAA for 10 days.

Results: Progressive refeeding was associated with a partial restoration of body weight and lean mass while a fat mass rebound was observed. In addition, refeeding restored glucose and leptin. Gln did not affect these parameters while BCAA tended to increase body weight, fat mass and glycaemia. However, all refeeding groups failed to completely restore body weight compared to control group. In the colon, refeeding improved total protein synthesis and restored LC3II/LC3I ratio, a marker of autophagy. Gln supplementation enhanced colonic protein synthesis that was associated with an increased p-p70S6kinase/p70S6kinase ratio whereas BCAA supplementation blunted the effects of refeeding on these colonic parameters.

Conclusion: In ABA mice, Gln and BCAA supplementation during a progressive refeeding fail to restore body weight and lean mass. However, Gln supplementation improves total colonic protein synthesis that is not observed with BCAA. Further studies are needed to decipher underlying mechanisms involved in these opposite results.

INTRODUCTION

Anorexia nervosa (AN), an eating disorder (ED) mainly characterized by a severe weight loss ($\text{BMI} < 18.5 \text{ kg.m}^{-2}$), an intense fear of weight gain or persistent behavior impairing weight restoration, and alteration of body shape perception [1], predominantly affects young women with more than 75% of diagnoses set before 22 years [2]. Its mean lifetime prevalence is of 1.4% in women versus 0.2% in men [3]. AN is a multifactorial disease involving social, genetic and psychological [4] factors but its etiology remains relatively poorly-understood. Due to its comorbidities, as anxiety and depression [5,6], mortality reaches 1-4% [7]. Even if early medical care is reported to improve probabilities of complete recovery [8], relapse occurs in 31% of patients after discharge [9]. In addition, gastrointestinal tract is deeply affected in AN patients who exhibit delayed gastric emptying, intestinal motility disorders, bloating, abdominal pain and gut dysbiosis [10,11]. Clinical guidelines recommend to refeed AN patients through enteral route [12] via a nasogastric probe. Despite the safety and efficiency of this refeeding protocol, recovery remains uncomplete. Indeed, after 7 months, Haas et al reported that protein mass is still lower than standard baseline [13] while body weight recovery is associated with an increased truncal fat mass [14]. Moreover, intestinal complaints and mood disorders are still present after weight restoration [15,16]. For instance, in the activity-based anorexia (ABA) murine model that shares some common features with AN patients as physical hyperactivity [17], altered fat and lean mass, reduced gastric emptying [18], refeeding failed to restore intestinal permeability and was associated with a marked increase of fat mass [19]. These data highlight the need for new refeeding strategies to improve recovery and limit associated comorbidities.

For this purpose, supplementation with some specific amino acids could be of interest. In one hand, it has been demonstrated that branched-chain amino acids (BCAA) were preferentially metabolized in skeletal muscle [20], leading to an increase of lean mass during intense physical activity both in mice [21] and humans [22,23] or maintain it in older subjects [24], suggesting that BCAA could be useful to improve body composition in AN patients during refeeding. In the other hand, beneficial effects of glutamine (Gln) on intestinal barrier function [25,26], protein synthesis [27] and intestinal inflammatory response [28] have been reported. Interestingly, in a recent randomized double-blind clinical trial, Zhou et al showed that Gln improves intestinal disorders and reduces intestinal permeability in patients with irritable bowel syndrome [29]. In a recent study, we showed that Gln, but not BCAA, was able to restore paracellular permeability and protein synthesis in the colon of ABA mice. By contrast, both

BCAA and Gln failed to improve body weight and body composition [30]. However, these data were obtained in restricted mice. We thus hypothesized that insufficient macronutrients and energy intake blunted putative beneficial effects of BCAA and Gln.

Here, we aimed to evaluate, in ABA mice, BCAA or Gln supplementation on weight gain, body composition and intestinal functions during a progressive refeeding procedure, to be close of patients' nutritional care.

MATERIAL AND METHODS

Animal procedure

Protocol was approved by the regional ethical committee named CENOXEMA (authorization on N/05-11-12/28/11-15). Eight weeks-old male C57Bl/6 mice (Janvier Labs, Le Genest-Saint-Isle, France) were placed in individual cages and fed with ad libitum standard diet and water. After an acclimatizing period of 5 days at 23°C with a reversed 12h dark-light cycle (dark phase: 10:00 a.m. to 10:00 p.m.), mice were randomized and separated in two groups: control (CTRL) and activity-based anorexia (ABA). Only ABA cages were equipped with an activity wheel and connected with Running Wheel® software (Intellibio, Seichamps, France) while CTRL were placed in standard cages. ABA procedure was performed as previously described [31]. Briefly, after 5 days of acclimatization with the activity wheel, food access was progressively limited from 6h at day 6 to 3h hours at day 9 and until day 13. According to ethical procedure, animals with a weight loss exceeding 20% in three consecutive days were euthanized. Body weight, food intake and wheel activity were daily monitored before dark phase.

At day 14, ABA mice were split into four sub-groups: 1/ no refeeding (ABA-C); 2/ progressive refeeding (ABA-Rf); 3/ progressive refeeding with Gln supplementation (ABA-Rf-G) and 4/ progressive refeeding with BCAA supplementation (ABA-Rf-B). Progressive refeeding started at day 14 and consisted in an increase of food amount of 0.5g/day from 2.5g at day 14 to 5g at day 19 and until the end of the protocol at day 23. Gln and BCAA supplementation, assessed in two distinct experiments, were given in drinking water as previously described [30]. Briefly, the dose of Gln was calculated to reach 2g/kg/day. BCAA beverage consisted in a combination of Leucine (Leu), Isoleucine (Ile) and Valine (Val) with a ratio of 2:1:1 (Leu, Ile, Val) and a final concentration of 2.5%. Gln and BCAA solutions were renewed each day and daily fluid intake was measured by weighting drinking bottles.

At day 23, 20 minutes before euthanasia with ketamine/xylazine solution, mice were intraperitoneally injected with 100 µL of PBS containing puromycin (Sigma Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) at the dose of 0.040 µmol/g to evaluate tissue protein synthesis. Blood samples were collected in heparine-coated collecting tubes which were centrifuged for 20 minutes at 3000 rpm at 4°C. Then, plasma was removed and stored at -80°C. All collected samples (colon, hypothalamus, muscles) were immediately dropped in liquid nitrogen.

Body composition

Whole body composition was evaluated at day 23 on vigil animals using Minispec LF110 (Brucker, Wissembourg, France) as previously described [30].

Intestinal permeability

Colonic paracellular permeability was assessed by measuring fluxes of FITC-Dextran (4 kDa) in Ussing chambers (Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA), as previously described [32]. Solution in serosal side was collected after 3 hours at 37°C and FITC-Dextran fluorescence was measured.

Protein extraction and western-blotting

Protein extraction and western-blotting were performed as previously described [30]. In brief, proteins were extracted by using 400 µL of ice-cold buffer and homogenization with TissueLyser LT (Qiagen, Courtaboeuf, France) followed by 20 minutes incubation on ice and centrifugation for 15 minutes at 12,000 rpm at 4°C. Total protein extracts (25µg) were loaded on 4-20% gradient polyacrylamide gels for 1h30 at 100 V and then transferred on nitrocellulose membrane. Protein levels were normalized with β-actin or with GAPDH for muscles. Antibodies data are listed in **Supplemental Table 1**.

Protein Synthesis Analysis by the SUnSET Method

Surface sensing of translation (SUnSET) is a non-radioactive method used to evaluate in vivo protein synthesis rate based on puromycin incorporation level as we previously described [30]. Briefly, puromycin incorporation was assessed by western-blotting by using a specific mouse monoclonal anti-puromycin antibody (**Supplemental Table 1**). Then, lanes were analyzed by densitometry and results were expressed as the ratio puromycin expression/min.

RT-qPCR

Extraction, quantification and reverse transcription were performed on colonic and hypothalamic sample as previously described [33]. qPCR was realized by using SYBR Green technology on Bio-Rad CFX96 real-time PCR system (Bio-Rad Laboratories, Marnes la Coquette, France) for the following targets: MUC-2, CLDN-1, CLDN-2, ZO-1, OCLDN, NPY, POMC, IL-10, TNF- α , MCP-1, CRH, IL-1 β , GAPDH, β 2M, 18S (**Supplemental Table 2**). Values were obtained from cycle threshold using the mRNA quantification based on standard curves. The mean of housekeeping genes GAPDH, β 2M, 18S was calculated and used as reference.

Plasma Adiponectin and Leptin

Quantification of plasma adiponectin (KMP0041) and leptin (KMC2281) were performed with ELISA kits (Invitrogen, Carlsbad, CA, United States) following supplier instructions.

Plasma biochemical dosages

Albumin, glucose, total cholesterol and triglycerides quantification from plasma samples were completed on Catalyst One device (IDEXX Laboratories, Westbrook, Maine, USA) by using specific chips in accordance with supplier instructions.

Statistical analysis

Data were analyzed with GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) and expressed as mean $\pm$ standard error mean (SEM). Student's t-test or non-parametric Mann–Whitney test were used to compare two groups, as appropriate. Comparisons between more than two groups were performed by using one-way ANOVA followed by Dunnet's multiple comparisons as a post hoc test; or two-way ANOVA followed by Bonferroni as a post hoc test. A value of $p < 0.05$ was considered as significant.

RESULTS

Body composition and muscular protein synthesis

As expected, body weight dropped after food limited access in all ABA groups and then increased when refeeding phase begun (**Fig. S1A and S1B**). At day 23, a pronounced body weight loss was observed in ABA-C mice (-22.5% vs CTRL) while body weight was partially restored in all refed ABA groups compared to CTRL mice (**Fig. 1A**). Body weight gain induced by refeeding remained significantly unaffected by both Gln and BCAA. Nevertheless, body weight gain tended to be slightly increased in ABA-Rf-B mice when compared to its own ABA-Rf group (+1.06g, $p=0.06$). As observed in anorectic patients, both lean and fat mass were reduced in ABA-C group when compared to control (-24.9% and -33.9%, respectively, **Fig. 1B-C**). Even if refeeding increased lean mass compared to ABA-C mice, it was still lower than in CTRL mice. No difference was observed in lean mass between all ABA refed groups (**Fig. 1B**), suggesting that neither Gln nor BCAA impacted lean mass during refeeding. In accordance with these results, total muscular protein synthesis was not affected by both Gln and BCAA supplementation (**Fig. S2A**). During refeeding, fat mass markedly increased in all refed ABA mice to achieve higher level than in CTRL group (**Fig. 1C**). Both Gln and BCAA showed no significant effect on fat mass gain, even if BCAA seemed to slightly increase fat mass when compared to its own ABA-Rf group ($p=0.06$). As we did not observe any differences between CTRL groups of Gln and BCAA series, as in respective ABA-Rf groups, and as following experiments have been together performed for both Gln and BCAA experiments, we thus chose to pool data for ABA-Rf groups.

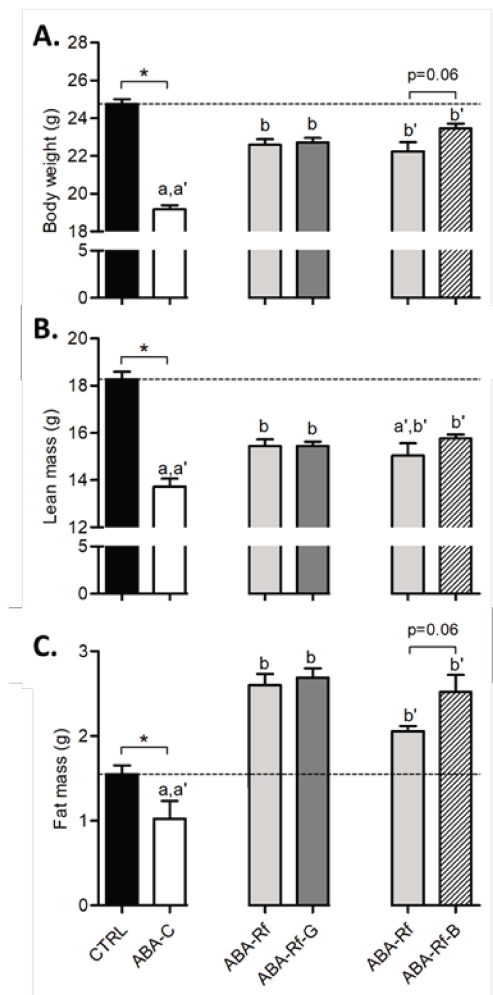


Figure 1: Body weight, lean mass and fat mass.

Body weight (A.), lean mass (B.) and fat mass (C.) measured at day 23 in control mice (CTRL), in activity-based anorexia (ABA) mice (ABA-C) and in ABA mice after refeeding supplemented or not (ABA-Rf group) with 1% glutamine (Gln, ABA-Rf-G group) or 2.5% branched chain amino acids (BCAA, ABA-Rf-B group). Data from CTRL and ABA-C groups were compared by Student t-test, *, $p < 0.05$. Then, ABA-C and refed Groups were compared with ANOVA followed by Tukey posttests. Values without a common letter (a, b for Gln experiments and a', b' for BCAA experiments) significantly differ ($p < 0.05$). $n=5-8$ /per group.

Hypothalamic control of food intake and neuropeptides

Food intake was reduced in ABA-C group compared with CTRL (**Fig. 2A**). As refeeding consisted as a progressive increase of food availability, food intake was increased in all refed ABA groups compared with ABA-C leading to a similar cumulative food intake (from d14 to d23) in CTRL and refed ABA groups (**Fig. 2A**). We then measured mRNA levels of both NPY and POMC using RT-qPCR to calculate NPY / POMC ratio, which was found nearly six times higher in ABA-C mice than in CTRL group (**Fig. 2B**). In all refed ABA groups, NPY / POMC ratio was diminished compared to ABA-C group but still remained almost three times higher than in CTRL group without any effects of amino acids supplementation (**Fig. 2B**). We also evaluated CRH mRNA level in the hypothalamus. CRH mRNA level remained unaffected in all groups except in ABA-Rf-B group (**Fig. 2C**) that exhibited a marked increase.

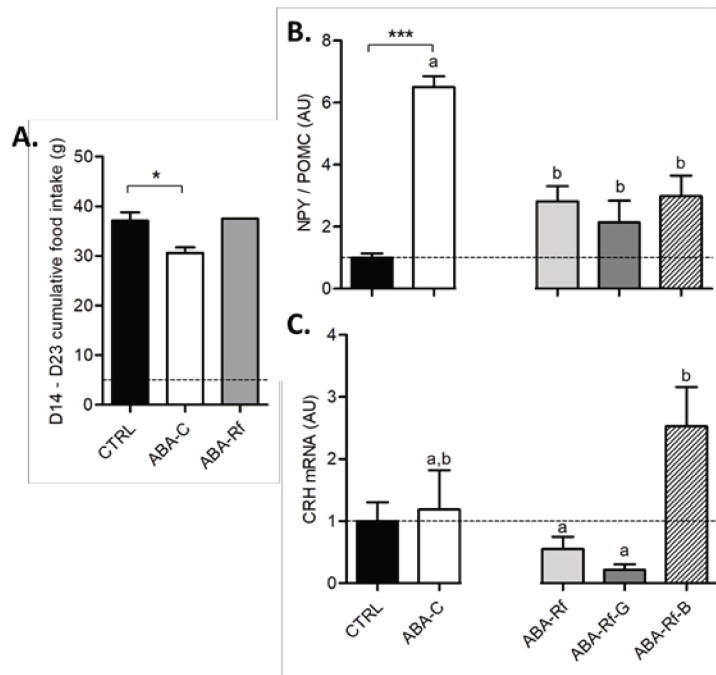


Figure 2: Food intake and hypothalamic mRNA levels.

(A.), Cumulative food intake during refeeding period (from day 14 to day 23) in control mice (CTRL), in activity-based anorexia (ABA) mice (ABA-C) and in ABA mice during refeeding (ABA-Rf groups). NPY/POMC ratio (B.) and CRH mRNA level (C.) measured at day 23 in the hypothalamus in control mice (CTRL), in activity-based anorexia (ABA) mice (ABA-C) and in ABA mice after refeeding supplemented or not (ABA-Rf group) with 1% glutamine (Gln, ABA-Rf-G group) or 2.5% branched chain amino acids (BCAA, ABA-Rf-B group). Data from CTRL and ABA-C groups were compared by Student t-test, *, $p < 0.05$. Then, ABA-C and refed

Plasmatic biochemical dosages

We analyzed some plasmatic markers to evaluate whether differential effects of amino acids supplementation were observed at the systemic level. We did not observe any significant modification of plasma albumin (**Fig. 3A**), a high molecular weight protein involved in the maintenance of osmotic pressure that is routinely used as a marker of protein homeostasis. Glycaemia displayed a drop in ABA-C mice compared to CTRL group but was restored in all refed ABA groups. Amino acids supplementation did not significantly affect glycaemia restoration induced by refeeding, even if BCAA tended to increase it (**Fig. 3F**). Plasma triglycerides concentration was markedly decreased in ABA-C mice but was partially restored in ABA-Rf mice when compared to CTRL group (**Fig. 3C**). Gln supplementation was associated with an increase of plasma triglycerides whereas BCAA blunted the refeeding effect and took back plasma triglycerides to ABA-C level (**Fig. 3C**). Total plasma cholesterol was

also reduced by nearly 50% in ABA-C group in comparison to CTRL group. Gln supplementation had no significant effect whereas BCAA increased plasma total cholesterol compared with ABA-Rf mice (**Fig. 3D**). Finally, we analyzed two adipokines: adiponectin and leptin. Plasma adiponectin was increased in ABA-C group compared to CTRL mice (**Fig. 3E**). ABA-Rf group did not show any impact of refeeding on plasma adiponectin level. Only Gln tended to restore plasma adiponectin but difference did not reach significance. Leptin was dramatically dropped in ABA-C mice compared to CTRL group, while it was restored in all refed ABA groups without effect of Gln or BCAA (**Fig. 3F**).

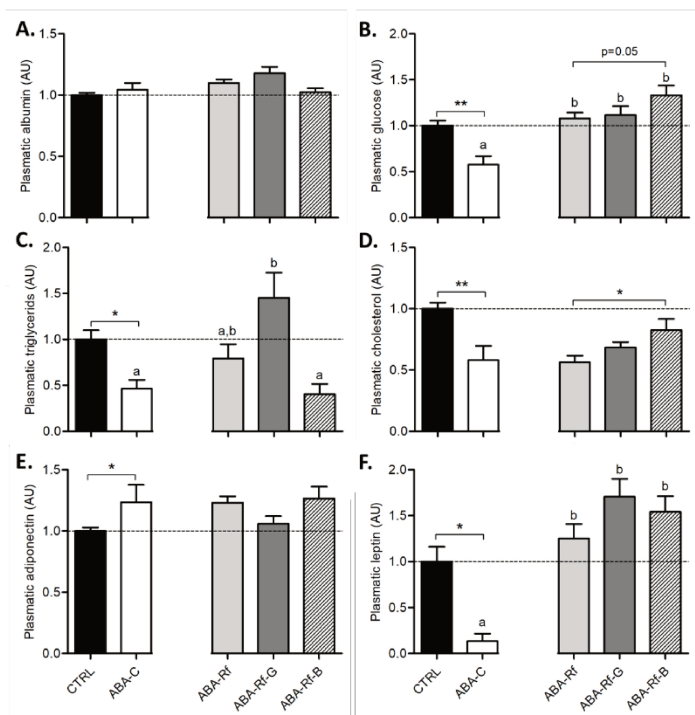


Figure 3: Biological plasma parameters.

Albumin (A.), glucose (B.), triglycerides (C.), total cholesterol (D.) adiponectin (E.) and leptin (F.) measured at day 23 in the plasma in control mice (CTRL), in activity-based anorexia (ABA) mice (ABA-C) and in ABA mice after refeeding supplemented or not (ABA-Rf group) with 1% glutamine (Gln, ABA-Rf-G group) or 2.5% branched chain amino acids (BCAA, ABA-Rf-B group). Data from CTRL and ABA-C groups were compared by Student t-test, *, $p < 0.05$. Then, ABA-C and refed Groups were compared with ANOVA followed by Tukey posttests. Values without a common letter significantly differ ($p < 0.05$). $n=5-8$ /per group.

Colonic protein synthesis, tight junction proteins expression and inflammatory markers

We then focused on colonic response as we previously reported that paracellular permeability, inflammatory response and protein metabolism were altered in the colon of ABA mice

[31,32,34]. Total colonic protein synthesis, measured by evaluating the level of in-vivo puromycin incorporation (**Fig. 4A**), tended to be decreased in ABA-C mice when compared to CTRL group ($p=0.06$). Refeeding partially restored colonic protein synthesis but difference did not reach significance between ABA-C and ABA-Rf groups. By contrast, Gln supplementation was associated with a significant increase of protein synthesis compared to ABA-C group ($p<0.05$). Surprisingly, ABA-Rf-G group exhibited a low protein synthesis rate at a similar level to ABA-C group, suggesting that BCAA blunted the effects of refeeding.

As we previously reported that reduced protein synthesis was associated with an increase of autophagy in the colon mucosa of ABA female mice, we also evaluated autophagy by assessing LC3II / LC3I ratio, a marker of autophagy activation (**Fig. 4B**). Interestingly, LC3II/LC3I ratio was increased in ABA-C mice compared to CTRL (1.6 fold change) and restored in both ABA-Rf and ABA-Rf-G groups. ABA-Rf-B group exhibited an intermediate level of LC3II/LC3I ratio but difference did not reach significance. It is well established that both protein synthesis and autophagy are partly regulated by the mTOR pathway. We thus analyzed the phosphorylation status of p70S6kinase as a marker of mTOR pathway activation (**Fig. 4C**). The ratio p-p70S6K / p70S6K tended to be reduced in ABA-C group compared to CTRL mice but difference was not significant (-22%). Unexpectedly, p-p70S6K / p70S6K ratio remained diminished in both ABA-Rf and ABA-Rf-B groups. Conversely, only ABA-Rf-G mice showed an increase of the p-p70S6K / p70S6K ratio beyond the CTRL group. The p-p70S6K / p70S6K ratio was thus significantly higher in ABA-Rf-G than in ABA-Rf group.

In previous studies [26,31], ABA male mice exhibited at day 17 an increase in colonic paracellular permeability. In the present study, we assessed colonic permeability by measuring FITC-Dextran 4kDa flux through fresh colon sample in Ussing chambers at day 23. Unfortunately, no difference was found between all groups (data not shown). Despite of this, some differences appeared in colonic tight junction proteins expression. CLDN-1, CLDN-2 and OCLDN expression was not significantly affected in ABA-C compared with CTRL (**Fig. 4D-F**), even if a trend was observed for OCLDN expression. Refeeding was associated with an increase of CLDN-1 expression and a decrease of CLDN-2 expression while OCLDN remained unaffected. Interestingly, while both Gln and BCAA supplementation did not modify CLDN-2 expression, ABA-Rf-G group exhibited a trend for increased CLDN-1 and OCLDN expression (**Fig. 4D-E**). By contrast, ABA-Rf-B group showed low expression of CLDN-1 and OCLDN. Gln supplementation was thus associated with higher expression of CLDN-1 and OCLDN than

BCAA supplementation. We also assessed mRNA levels for CLDN-1, OCDN and ZO-1 but we did not observe major differences (**Fig. S2**).

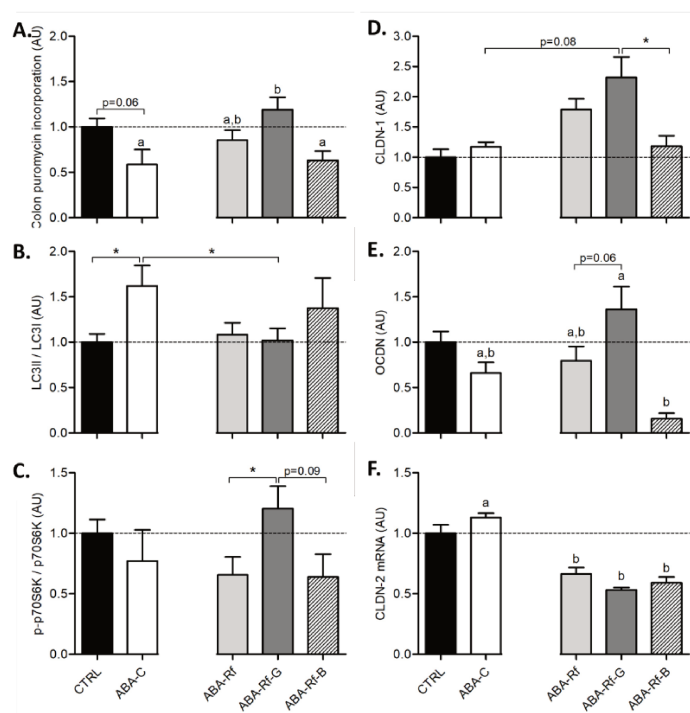


Figure 4: Colonic parameters.

Protein synthesis (A.), LC3II/LC3I ratio (B.), Phosphorylation status of p70S6kinase (C.), claudin-1 (CLDN-1, D.) occludin (OCDN, E.) and claudin-2 (CLDN-2, F.) expression measured at day 23 in the colonic mucosa in control mice (CTRL), in activity-based anorexia (ABA) mice (ABA-C) and in ABA mice after refeeding supplemented or not (ABA-Rf group) with 1% glutamine (Gln, ABA-Rf-G group) or 2.5% branched chain amino acids (BCAA, ABA-Rf-B group). Data from CTRL and ABA-C groups were compared by Student t-test, *, $p < 0.05$. Then, ABA-C and refed Groups were compared with ANOVA followed by Tukey posttests. Values without a common letter significantly differ ($p < 0.05$). $n=5-8$ /per group.

Then, we aimed to evaluate colonic inflammation through mRNA levels of different pro-inflammatory cytokines. Compared to CTRL group, ABA-C group exhibited no alteration of IL-1 β , TNF- α and TLR4 mRNA whereas MCP-1 mRNA level was markedly decreased (**Fig. S3**). Interestingly, refeeding partially restored MCP-1 mRNA level without adding effects of amino acids. Refeeding did not affect IL-1 β , TNF- α and TLR4 mRNA level. Only ABA-Rf-G group exhibited an increase of IL-1 β mRNA while BCAA had no influence (**Fig. S3**).

DISCUSSION

In the present study, we report in mice subjected to the activity-based anorexia that (i) a progressive refeeding is associated with a partial restoration of body weight with maintained altered body composition, (ii) both Gln and BCAA-supplemented refeeding fails to improve body composition and body weight and (iii) Gln-supplemented refeeding, but not BCAA-supplemented, is associated with a mTOR-mediated increase of colonic protein synthesis. Optimizing refeeding remains a major issue in AN patients to limit malnutrition-induced complications and to avoid frequent relapses. Indeed, mood and gastrointestinal functional disorders frequently observed in AN patients are not completely resolved after body weight gain [35] that can also participate to chronitization of AN. In the last decades, the role of microbiota-gut-brain axis has been highlighted in the regulation of mood and gastrointestinal disorders but also in the regulation of food intake [11,36]. In addition, more recently, the microbiota-gut-muscle axis appears of interest to limit the loss of muscle mass observed in chronic diseases such as cancer [37]. Targeting gut-brain and gut-muscle axis could be thus of interest in AN patients.

AN patients exhibited a marked decrease of both fat and fat-free mass [38] and body weight gain is associated with altered fat tissue distribution, particularly with an increase of abdominal fat mass contributing to maintain body shape perception alteration [38]. In the present study, as previously described [30][26], both fat and fat-free mass are reduced in the ABA model. We previously reported that a short term refeeding induced a fat mass rebound while fat-free mass remains lower than in controls [26]. In this latter study, refed mice had a free access to food leading to hyperphagia that is not observed in clinical practice. We thus decided to develop a progressive refeeding protocol, as described in methods section. The access to the running wheel was maintained during the refeeding period, as beneficial effects of adapted physical activity have been underlined [17]. Interestingly, after 10 days of progressive refeeding, body weight and lean mass were not completely restored while fat mass rebound remained present. Cumulative food intake during the refeeding period was higher in refed mice than in non-refed mice but was similar to control mice. The hypothalamic NPY/POMC ratio that is an adaptive mechanism to undernutrition was partially restored according to the improvement of body weight and the increase of food intake. In a separation-based model of anorexia, refeeding was associated with an increase of fat mass without restoration of plasma leptin [39]. However, during a refeeding program in AN patients, plasma leptin increased [40,41] and was positively

associated with the body mass index changes [42]. Interestingly, in the ABA model, progressive refeeding was associated with restoration of glycaemia but also of plasma leptin. Thus, to our opinion, this refeeding protocol well mimics the nutritional care of AN patients and has been used to evaluate the capacity of specific nutrients, as amino acids, for improving body weight gain, body composition and intestinal functions.

Among amino acids, we focused on Gln and BCAA because of their respective impact on intestinal functions and body composition. Indeed, Gln is well known to regulate protein intestinal metabolism [27], inflammatory response [28] and intestinal permeability [19]. By contrast, BCAA have been proposed to promote muscle protein synthesis and lean mass. Indeed, Holecek recently reviewed the impact of BCAA on protein metabolism and showed that BCAA are able to stimulate muscle protein synthesis through mTOR pathway and to limit muscle protein degradation [43]. In a previous work, we showed that both Gln and BCAA failed to improve body weight [30] that could be explained by a lack of energy supply in anorectic mice. In the present study, we combined progressive refeeding to Gln or BCAA supplementation. Gln supplementation was able to improve neither body weight gain nor body composition. BCAA supplementation tended to improve body weight gain ($p=0.06$) mainly by increasing fat mass ($p=0.06$). By contrast, BCAA supplementation induced neither a gain of lean mass nor muscle protein synthesis that was expected. In older rats, opposite results have been published; 4.5% of leucine during 6 months induced adipose tissue hypertrophy and hyperplasia [44] while 4% of leucine for 40 weeks limited fat mass gain [45]. In those studies, leucine supplementation did not affect muscle mass. We did not measure muscle protein degradation that should be further explored in ABA mice. In addition, in patients with liver cirrhosis, BCAA supplementation was associated with a decrease of intramuscular fat mass only in patients with restored plasma albumin [46]. Plasmatic hypoalbuminemia only occurs in severe AN patients and ABA mice did not exhibit alteration of plasma albumin. Finally, both Gln and BCAA did not affect hypothalamic NPY/POMC ratio suggesting that those amino acids did not regulate feeding behavior in our tested conditions. All these data showed that both Gln and BCAA supplementation failed to improve appropriately body composition in ABA refed mice.

In previous studies, we reported alterations of colonic response in ABA mice with increased paracellular permeability [26,31] and altered protein metabolism [34]. Indeed, ABA mice showed a reduction of protein synthesis and an activation of autophagy related to inactivate mTOR pathway [34]. This response is specific for colonic tissue compared to hypothalamus [47]. Unfortunately, in the present study, ABA-C mice did not exhibit increased colonic paracellular permeability compared to our previous studies [26,31]. This discrepancy could be explained by different time course: day23 in the present study compared to day17 in previous studies. Progressive refeeding was associated with an improvement of protein synthesis and a restoration of autophagy. Interestingly, Gln supplementation enhanced protein synthesis restoration through an activation of mTOR pathway, particularly phosphorylation of p70S6kinase. Surprisingly, BCAA supplementation blunted colonic protein synthesis improvement and limited the inhibition of autophagy. An increase of protein synthesis in response to leucine has been shown in intestinal epithelial cells [48], however in healthy volunteers, leucine supply was not able to stimulate duodenal protein synthesis [49]. Nevertheless, in addition, while Gln tended to improve tight junction protein expression, CLDN-1 and OCLN, BCAA supplementation blocked the effects of refeeding on those parameters. These data are in accordance with our previous study showing that Gln was able to restore colonic paracellular permeability and protein synthesis during underfeeding period in ABA mice while BCAA had no effects [30]. Further studies should be done to decipher underlying mechanisms.

In conclusion, glutamine and branched chain amino acids supplementation during refeeding fail to improve expectedly body composition in ABA mice. Glutamine, but not branched chain amino acids, shows beneficial effects on colonic protein metabolism. Further studies should evaluate whether glutamine effects are associated or not with improvement of gastrointestinal functional disorders.

Acknowledgements

We want to address our special thanks to the Charles Nicolle Foundation and the Nutriset Company for their support. The study was also supported by European Union and Normandie Regional Council. Europe gets involved in Normandie with European Regional Development Fund (ERDF).

REFERENCES

1. American Psychiatric Association (APA) Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders; 5th ed.; American Psychiatric Publishing: Arlington: VA, USA, 2013; ISBN 978-0-89042-554-1.
2. Volpe, U.; Tortorella, A.; Manchia, M.; Monteleone, A.M.; Albert, U.; Monteleone, P. Eating disorders: What age at onset? *Psychiatry Research* 2016, 238, 225–227.
3. Galmiche, M.; Déchelotte, P.; Lambert, G.; Tavalacci, M.P. Prevalence of eating disorders over the 2000–2018 period: a systematic literature review. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2019, 109, 1402–1413.
4. Moskowitz, L.; Weiselberg, E. Anorexia Nervosa/Atypical Anorexia Nervosa. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care* 2017, 47, 70–84.
5. Lulé, D.; Schulze, U.M.E.; Bauer, K.; Schöll, F.; Müller, S.; Fladung, A.-K.; Uttner, I. Anorexia nervosa and its relation to depression, anxiety, alexithymia and emotional processing deficits. *Eating and Weight Disorders - Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity* 2014, 19, 209–216.
6. Godart, N.T.; Flament, M.F.; Lecrubier, Y.; Jeammet, P. Anxiety disorders in anorexia nervosa and bulimia nervosa: co-morbidity and chronology of appearance. *European Psychiatry* 2000, 15, 38–45.
7. Rigaud, D.; Pennacchio, H.; Bizeul, C.; Reveillard, V.; Vergès, B. Outcome in AN adult patients: A 13-year follow-up in 484 patients. *Diabetes & Metabolism* 2011, 37, 305–311.
8. Zipfel, S.; Giel, K.E.; Bulik, C.M.; Hay, P.; Schmidt, U. Anorexia nervosa: aetiology, assessment, and treatment. *The Lancet Psychiatry* 2015, 2, 1099–1111.
9. Berends, T.; Boonstra, N.; van Elburg, A. Relapse in anorexia nervosa: a systematic review and meta-analysis. *Curr Opin Psychiatry* 2018, 31, 445–455.
10. Norris, M.L.; Harrison, M.E.; Isserlin, L.; Robinson, A.; Feder, S.; Sampson, M. Gastrointestinal complications associated with anorexia nervosa: A systematic review: GASTROINTESTINAL COMPLICATIONS IN ANOREXIA NERVOSA. *International Journal of Eating Disorders* 2016, 49, 216–237.

11. Breton, J.; Déchelotte, P.; Ribet, D. Intestinal microbiota and Anorexia Nervosa. *Clinical Nutrition Experimental* 2019, S2352939318300927.
12. Bargiacchi, A.; Clarke, J.; Paulsen, A.; Leger, J. Refeeding in anorexia nervosa. *European Journal of Pediatrics* 2019, 178, 413–422.
13. Haas, V.; Kent, D.; Kohn, M.R.; Madden, S.; Clarke, S.; Briody, J.; Fischer, F.; Müller, M.J.; Gaskin, K. Incomplete total body protein recovery in adolescent patients with anorexia nervosa. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2018, 107, 303–312.
14. Misra, M.; Soyka, L.A.; Miller, K.K.; Grinspoon, S.; Levitsky, L.L.; Klibanski, A. Regional body composition in adolescents with anorexia nervosa and changes with weight recovery. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2003, 77, 1361–1367.
15. Mack, I.; Cuntz, U.; Grämer, C.; Niedermaier, S.; Pohl, C.; Schwiertz, A.; Zimmermann, K.; Zipfel, S.; Enck, P.; Penders, J. Weight gain in anorexia nervosa does not ameliorate the faecal microbiota, branched chain fatty acid profiles, and gastrointestinal complaints. *Sci Rep* 2016, 6.
16. Kaye, W.H.; Bailer, U.F.; Frank, G.K.; Wagner, A.; Henry, S.E. Brain imaging of serotonin after recovery from anorexia and bulimia nervosa. *Physiology & Behavior* 2005, 86, 15–17.
17. Achamrah, N.; Coëffier, M.; Déchelotte, P. Physical activity in patients with anorexia nervosa. *Nutrition Reviews* 2016, 74, 301–311.
18. Nobis; Morin, A.; Achamrah, N.; Belmonte, L.; Legrand, R.; Chan, P.; Rego, J.-L. do; Vaudry, D.; Gourcerol, G.; Déchelotte, P.; et al. Delayed gastric emptying and altered antrum protein metabolism during activity-based anorexia. *Neurogastroenterology & Motility* 2018, 30, e13305.
19. Achamrah, N.; Déchelotte, P.; Coëffier, M. Glutamine and the regulation of intestinal permeability: from bench to bedside. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2017, 20, 86–91.
20. Fouré, A.; Bendahan, D. Is Branched-Chain Amino Acids Supplementation an Efficient Nutritional Strategy to Alleviate Skeletal Muscle Damage? A Systematic Review. *Nutrients* 2017, 9.

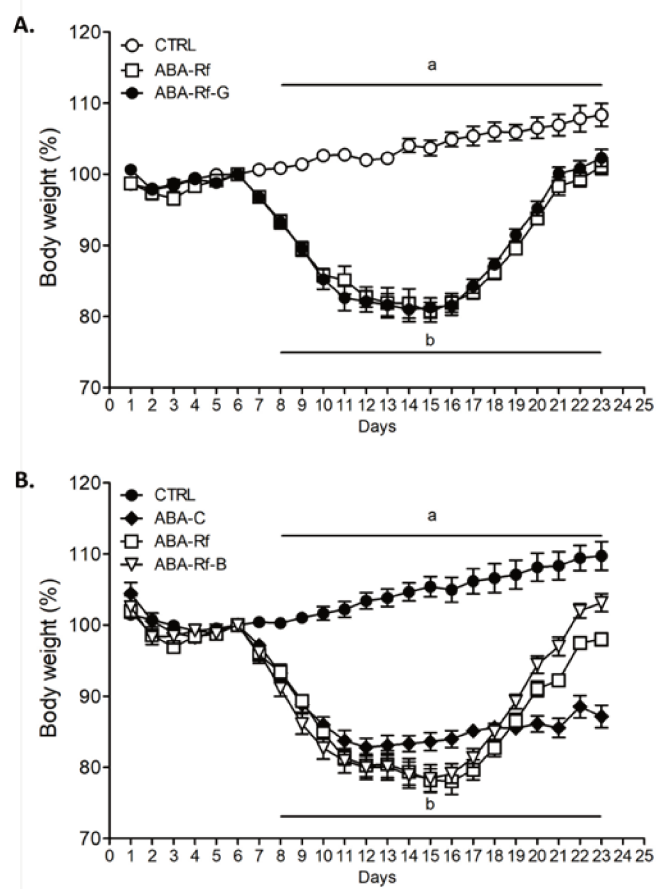
21. Platt, K.M.; Charnigo, R.J.; Shertzer, H.G.; Pearson, K.J. Branched-Chain Amino Acid Supplementation in Combination with Voluntary Running Improves Body Composition in Female C57BL/6 Mice. *J Diet Suppl* 2016, 13, 473–486.
22. Kim, D.-H.; Kim, S.-H.; Jeong, W.-S.; Lee, H.-Y. Effect of BCAA intake during endurance exercises on fatigue substances, muscle damage substances, and energy metabolism substances. *J Exerc Nutrition Biochem* 2013, 17, 169–180.
23. Rahimi, M.H.; Shab-Bidar, S.; Mollahosseini, M.; Djafarian, K. Branched-chain amino acid supplementation and exercise-induced muscle damage in exercise recovery: A meta-analysis of randomized clinical trials. *Nutrition* 2017, 42, 30–36.
24. Fujita, S.; Volpi, E. Amino Acids and Muscle Loss with Aging. *J Nutr* 2006, 136, 277S–280S.
25. Wang, X.; Pierre, J.F.; Heneghan, A.F.; Busch, R.; Kudsk, K.A. Glutamine improves innate immunity and prevents bacterial enteroinvasion during parenteral nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2015, 39, 688–697.
26. Achamrah, N.; Nobis, S.; Breton, J.; Jésus, P.; Belmonte, L.; Maurer, B.; Legrand, R.; Bôle-Feysot, C.; do Rego, J.L.; Goichon, A.; et al. Maintaining physical activity during refeeding improves body composition, intestinal hyperpermeability and behavior in anorectic mice. *Sci Rep* 2016, 6, 21887.
27. Bertrand, J.; Goichon, A.; Déchelotte, P.; Coëffier, M. Regulation of intestinal protein metabolism by amino acids. *Amino Acids* 2013, 45, 443–450.
28. Coëffier, M. Modulating effect of glutamine on IL-1 β -induced cytokine production by human gut. *Clinical Nutrition* 2003, 22, 407–413.
29. Zhou, Q.; Verne, M.L.; Fields, J.Z.; Lefante, J.J.; Basra, S.; Salameh, H.; Verne, G.N. Randomised placebo-controlled trial of dietary glutamine supplements for postinfectious irritable bowel syndrome. *Gut* 2018, Published Online First, 1–7.
30. L’Huillier, C.; Jarbeau, M.; Achamrah, N.; Belmonte, L.; Amamou, A.; Nobis, S.; Goichon, A.; Salameh, E.; Bahlouli, W.; do Rego, J.-L.; et al. Glutamine, but not Branched-Chain Amino Acids, Restores Intestinal Barrier Function during Activity-Based Anorexia. *Nutrients* 2019, 11, 1348.

31. Jésus, P.; Ouelaa, W.; François, M.; Riachy, L.; Guérin, C.; Aziz, M.; Do Rego, J.-C.; Déchelotte, P.; Fetissov, S.O.; Coëffier, M. Alteration of intestinal barrier function during activity-based anorexia in mice. *Clinical Nutrition* 2014, 33, 1046–1053.
32. Belmonte, L.; Achamrah, N.; Nobis, S.; Guérin, C.; Riou, G.; Bôle-Feysot, C.; Boyer, O.; Richard, V.; Rego, J.C.D.; Déchelotte, P.; et al. A role for intestinal TLR4-driven inflammatory response during activity-based anorexia. *Scientific Reports* 2016, 6, 35813.
33. Coëffier, M.; Miralles-Barrachina, O.; Le Pessot, F.; Lalaude, O.; Daveau, M.; Lavoigne, A.; Lerebours, E.; Déchelotte, P. INFLUENCE OF GLUTAMINE ON CYTOKINE PRODUCTION BY HUMAN GUT IN VITRO. *Cytokine* 2001, 13, 148–154.
34. Nobis, S.; Achamrah, N.; Goichon, A.; L’Huillier, C.; Morin, A.; Guérin, C.; Chan, P.; Rego, J.L. do; Rego, J.C. do; Vaudry, D.; et al. Colonic Mucosal Proteome Signature Reveals Reduced Energy Metabolism and Protein Synthesis but Activated Autophagy during Anorexia-Induced Malnutrition in Mice. *PROTEOMICS* 2018, 18, 1700395.
35. Heruc, G.A.; Little, T.J.; Kohn, M.; Madden, S.; Clarke, S.; Horowitz, M.; Feinle-Bisset, C. Appetite Perceptions, Gastrointestinal Symptoms, Ghrelin, Peptide YY and State Anxiety are Disturbed in Adolescent Females with Anorexia Nervosa and Only Partially Restored with Short-Term Refeeding. *Nutrients* 2018, 11, 59.
36. Dinan, T.G.; Cryan, J.F. Brain-Gut-Microbiota Axis and Mental Health. *Psychosom Med* 2017, 79, 920–926.
37. Bindels, L.B.; Neyrinck, A.M.; Loumaye, A.; Catry, E.; Walgrave, H.; Cherbuy, C.; Leclercq, S.; Van Hul, M.; Plovier, H.; Pachikian, B.; et al. Increased gut permeability in cancer cachexia: mechanisms and clinical relevance. *Oncotarget* 2018, 9, 18224–18238.
38. Orphanidou, C.I.; McCargar, L.J.; Birmingham, C.L.; Belzberg, A.S. Changes in body composition and fat distribution after short-term weight gain in patients with anorexia nervosa. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1997, 65, 1034–1041.
39. Zgheib, S.; Méquinion, M.; Lucas, S.; Leterme, D.; Ghali, O.; Tolle, V.; Zizzari, P.; Bellefontaine, N.; Legroux-Gérot, I.; Hardouin, P.; et al. Long-Term Physiological Alterations and Recovery in a Mouse Model of Separation Associated with Time-Restricted Feeding: A Tool to Study Anorexia Nervosa Related Consequences. *PLoS ONE* 2014, 9, e103775.

40. Ruscica, M.; Macchi, C.; Gandini, S.; Morlotti, B.; Erzegovesi, S.; Bellodi, L.; Magni, P. Free and bound plasma leptin in anorexia nervosa patients during a refeeding program. *Endocrine* 2016, 51, 380–383.
41. Haluzík, M.; Papezová, H.; Nedvídková, J.; Kábrt, J. Serum leptin levels in patients with anorexia nervosa before and after partial refeeding, relationships to serum lipids and biochemical nutritional parameters. *Physiol Res* 1999, 197–202.
42. Nogueira, J.P.; Valéro, R.; Maraninchi, M.; Lorec, A.M.; Samuelian-Massat, C.; Bégu-Le Corroller, A.; Nicolay, A.; Gaudart, J.; Portugal, H.; Vialettes, B. Growth hormone level at admission and its evolution during refeeding are predictive of short-term outcome in restrictive anorexia nervosa. *Br J Nutr* 2013, 109, 2175–2181.
43. Holeček, M. Branched-chain amino acids in health and disease: metabolism, alterations in blood plasma, and as supplements. *Nutr Metab (Lond)* 2018, 15.
44. Zeanandin, G.; Balage, M.; Schneider, S.M.; Dupont, J.; Hébuterne, X.; Mothe-Satney, I.; Dardevet, D. Differential effect of long-term leucine supplementation on skeletal muscle and adipose tissue in old rats: an insulin signaling pathway approach. *Age (Dordr)* 2012, 34, 371–387.
45. Vianna, D.; Resende, G.F.T.; Torres-Leal, F.L.; Pantaleão, L.C.; Donato, J.; Tirapegui, J. Long-term leucine supplementation reduces fat mass gain without changing body protein status of aging rats. *Nutrition* 2012, 28, 182–189.
46. Kitajima, Y.; Takahashi, H.; Akiyama, T.; Murayama, K.; Iwane, S.; Kuwashiro, T.; Tanaka, K.; Kawazoe, S.; Ono, N.; Eguchi, T.; et al. Supplementation with branched-chain amino acids ameliorates hypoalbuminemia, prevents sarcopenia, and reduces fat accumulation in the skeletal muscles of patients with liver cirrhosis. *J Gastroenterol* 2018, 53, 427–437.
47. Nobis, S.; Goichon, A.; Achamrah, N.; Guérin, C.; Azhar, S.; Chan, P.; Morin, A.; Bôle-Feysot, C.; do Rego, J.C.; Vaudry, D.; et al. Alterations of proteome, mitochondrial dynamic and autophagy in the hypothalamus during activity-based anorexia. *Sci Rep* 2018, 8.
48. Ban, H.; Shigemitsu, K.; Yamatsuji, T.; Haisa, M.; Nakajo, T.; Takaoka, M.; Nobuhisa, T.; Gunduz, M.; Tanaka, N.; Naomoto, Y. Arginine and Leucine regulate p70 S6 kinase and 4E-BP1 in intestinal epithelial cells. *International Journal of Molecular Medicine* 2004, 13, 537–543.

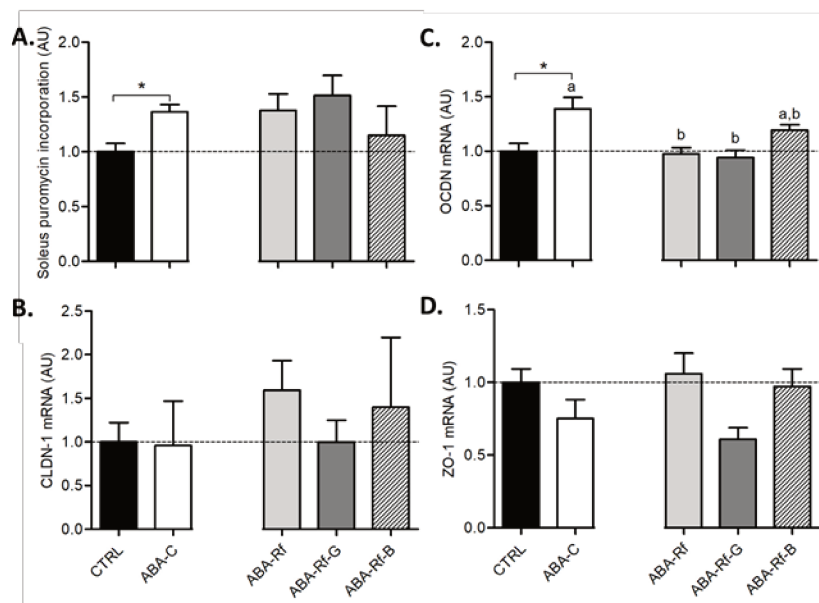
49. Coëffier, M.; Claeysens, S.; Bensifi, M.; Lecleire, S.; Boukhattala, N.; Maurer, B.; Donnadiou, N.; Lavoinne, A.; Cailleux, A.-F.; Déchelotte, P. Influence of leucine on protein metabolism, phosphokinase expression, and cell proliferation in human duodenum. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2011, 93, 1255–1262.

Supplemental figures:



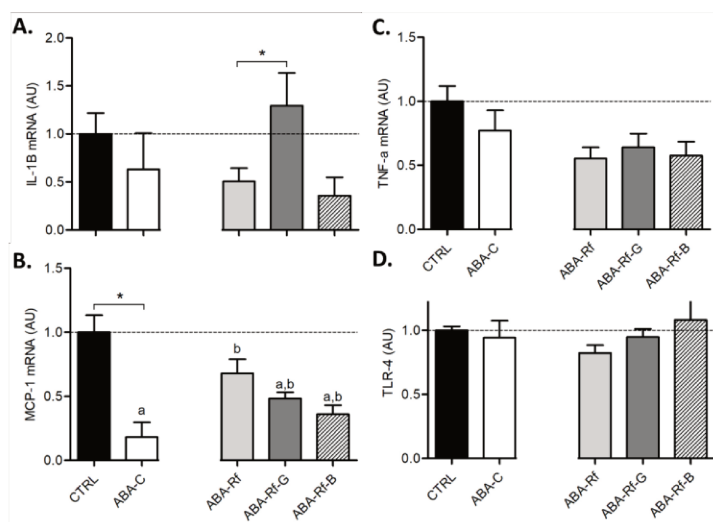
Supplemental Figure S1: Body weight.

Body weight was monitored each day in both experiments, glutamine –supplemented (A.) and branched chain amino acids-supplemented (B.), in control mice (CTRL), in activity-based anorexia (ABA) mice (ABA-C) and in ABA mice after refeeding supplemented or not (ABA-Rf group) with 1% glutamine (Gln, ABA-Rf-G group) or 2.5% branched chain amino acids (BCAA, ABA-Rf-B group). Data were compared with ANOVA followed by Tukey posttests. Values without a common letter significantly differ ($p < 0.05$). $n=5-8$ /per group.



Supplemental Figure S2: Muscular protein synthesis and tight junction proteins mRNA

Soleus Protein synthesis (A.), and colonic claudin-1 (CLDN-1, B.) occludin (OCDN, C.) and zonula occludens-1 (ZO-1, D.) mRNA levels measured at day 23 in control mice (CTRL), in activity-based anorexia (ABA) mice (ABA-C) and in ABA mice after refeeding supplemented or not (ABA-Rf group) with 1% glutamine (Gln, ABA-Rf-G group) or 2.5% branched chain amino acids (BCAA, ABA-Rf-B group). Data from CTRL and ABA-C groups were compared by Student t-test, *, $p < 0.05$. Then, ABA-C and refed Groups were compared with ANOVA followed by Tukey posttests. Values without a common letter significantly differ ($p < 0.05$). $n = 5-8$ /per group.



Supplemental Figure S3: Colonic inflammatory markers

IL-1 β (A.), MCP-1 (B.), TNF- α (C.) and TLR4 (D.) mRNA levels measured at day 23 in control mice (CTRL), in activity-based anorexia (ABA) mice (ABA-C) and in ABA mice after refeeding supplemented or not (ABA-Rf group) with 1% glutamine (Gln, ABA-Rf-G group) or 2.5% branched chain amino acids (BCAA, ABA-Rf-B group). Data from CTRL and ABA-C groups were compared by Student t-test, *, $p < 0.05$. Then, ABA-C and refed Groups were compared with ANOVA followed by Tukey posttests. Values without a common letter significantly differ ($p < 0.05$). $n = 5-8$ /per group.

Proteins	References	Species	Dilution
Actin	Sigma-Aldrich; A5441; Saint Louis; MO; United States	Mouse	1 : 5000
Claudin-1	Invitrogen; MH25; Carlsbad; CA; United States	Rabbit	1 : 1000
GAPDH	Sigma-Aldrich; SAB2500541; Saint Louis; MO; United States	Goat	1 : 5000
LC3B	Novus Biologicals; NB100-2200; Littleton; CO; United States	Rabbit	1 : 1000
Occludin	ThermoFisher Scientific; OC-3F10; Rockford; IL; United States	Mouse	1 : 500
p70S6K	Cell Signaling; 9202S; Danvers; MA; United States	Rabbit	1 : 500
p-P70S6K	Cell Signaling; 9205S; Danvers; MA; United States	Rabbit	1 : 1000
Puromycin	Merck Millipore; MABE343; clone 12D10; Darmstadt; Germany	Mouse	1 : 5000
TLR-4	Santa Cruz; SC-30002; Dallas; Tex; United States	Rabbit	1 : 1000
Anti-Goat	Dako; P0160; Santa Clara; CA; United States	Rabbit	1 : 5000
Anti-Mouse	Dako; P0161; Santa Clara; CA; United States	Rabbit	1 : 5000
Anti-Rabbit	Dako; P0399; Santa Clara; CA; United States	Swine	1 : 5000

Supplemental Table 1: List of primaries and secondaries antibodies used in western-blotting.

Genes	Sens	Sequences
Claudin-1	F	5'-CTGGGTTTCATCCTGGCTTC-3'
	R	5'-TTGATGGGGGTCAAGGGGTC-3'
Claudin-2	F	5'-ATACTACCCTTTAGCCCTGACCGAGA-3'
	R	5'-CAGTAGGAGCACACATAACAGCTACCAC-3'
CRH	F	5'-AGAAGAGAGCGCCCCTAAC-3'
	R	5'-ATCAGAATCGGCTGAGGTTG-3'
GAPDH	F	5'-CATCACTGCCACTCAGAAGA-3'
	R	5'-AAGTCACAGGAGACAACCT-3'
IL-1β	F	5'-CCCAAAAGATGAAGGGCTGC-3'
	R	5'-AAGGTCCACGGGAAAGACAC-3'
MCP-1	F	5'-TTAAAAACCTGGATCGGAACCAA-3'
	R	5'-GCATTAGCTTCAGATTACGGGT-3'
Muc-2	F	5'-CGACACCAGGGATTTCGCTTAAT-3'
	R	5'-CACTTCCACCCTCCCGGCAAAC-3'
NPY	F	5'-CTGCGACACTACATCAATCT-3'
	R	5'-CTTCAAGCCTTGTTCTGG-3'
Occludin	F	5'-AGACTACACGACAGGTGGGG-3'
	R	5'-CTGCAGACCTGCATCAAAAT-3'
POMC	F	5'-CCTCCTGCTTCAGACCTCCA-3'
	R	5'-GGCTGTTCATCTCCGTTGC-3'
TNF-α	F	5'-TGTCTACTCCTCAGAGCCCC-3'
	R	5'-TGAGTCCTTGATGGTGGTGC-3'
ZO-1	F	5'-GCAGACTTCTGGAGGTTTCG-3'
	R	5'-CTTGCCAACTTTTCTCTGGC-3'
β2m	F	5'-GCCGAACATACTGAACTGCTAC-3'
	R	5'-GCTGAAGAACATATCTGACATCTC-3'
18S	F	5'-TGCGAGTACTCAACACCAACA-3'
	R	5'-TTCCTCAACACCACATGAGC-3'

Supplemental Table 2: List of primers used in RT-qPCR.

DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Le modèle ABA a été caractérisé de façon approfondie par de nombreux travaux menés au sein du laboratoire. Dans les études présentées dans cette thèse, nous avons utilisé des souris mâles C57Bl/6 alors que l'anorexie mentale est une pathologie qui affecte les femmes de façon largement majoritaire. Ce choix est basé sur des travaux antérieurs, faits au sein de l'unité, qui ont montré que les souris mâles C57Bl/6 sont nettement plus sensibles au modèle ABA que les femelles qui semblent développer une résistance (Achamrah, Nobis, et al. 2017). La perte de poids des mâles est presque deux fois supérieure à celle des femelles avec une prise alimentaire inférieure à celles-ci. Cependant, l'activité physique chez les femelles est plus importante que chez les mâles à la fin du protocole, sauf pour l'activité anticipatoire. Malgré ce dernier point, les paramètres mesurés chez les souris mâles sont plus proches de ce qui est retrouvé en clinique.

Au cours des travaux constituant cette thèse, une perte de poids importante était retrouvée dans tous les groupes ABA sans renutrition ni supplémentation et correspondait à la fois à une perte de masse grasse et de masse maigre. Toutefois, dans l'étude sur la renutrition, le groupe ABA-C a montré une légère augmentation de la synthèse protéique dans les muscles squelettiques par rapport au groupe contrôle. Des données non publiées, obtenues au laboratoire, ont montré que lorsque le protocole ABA était maintenu jusqu'à 25 jours au lieu de 17 en temps normal, les animaux s'habituèrent au modèle et augmentaient leur prise alimentaire avec un comportement de type hyperphage pendant les trois heures quotidiennes d'accès à la nourriture, ce qui rappelle les résultats obtenus dans le premier essai de renutrition chez les souris ABA (Achamrah et al. 2016). Avec un protocole de 23 jours, le même phénomène a pu se reproduire et provoquer une augmentation de la synthèse protéique musculaire par rapport aux animaux contrôles, avec un effet amplificateur ou protecteur de l'activité physique (Hector et al. 2018) que n'ont pas ces derniers.

La prise alimentaire est contrôlée au niveau central par l'hypothalamus et fait intervenir un système de balance entre signaux orexigènes, médiés par le NPY, et signaux anorexigènes induits par la POMC. Dans les deux études présentées ici, les taux hypothalamiques en NPY étaient augmentés alors que ceux en POMC étaient stables ou diminués. Cette altération du ratio NPY / POMC était particulièrement marquée dans le groupe ABA-C de l'étude sur la renutrition avec une valeur environ six fois supérieure par rapport aux animaux contrôles. En revanche, le taux hypothalamique en ARNm codant pour la CRH, qui contrôle la sécrétion de POMC, n'était pas modifié dans le groupe ABA-C de l'étude sur la renutrition.

Le poids, la composition corporelle et la régulation centrale de l'appétit sont nettement impactés par le modèle ABA et induisent des modifications de certains paramètres sanguins. Dans les deux études, la chute de la leptinémie était retrouvée associée à une diminution importante de la masse grasse. Lors de la série renutrition, nous avons mesuré le taux plasmatique de l'adiponectine, une hormone sécrétée par les adipocytes. Dans le groupe ABA-C, ce taux était augmenté par rapport au contrôle. Cette observation fait écho aux données cliniques montrant qu'il existe une corrélation inverse entre l'adiponectine et la DMO (X. Bi, Loo, et Henry 2020). Il s'agit là encore d'un argument en faveur du modèle ABA comme modèle expérimental pour l'étude de l'anorexie mentale. Parmi les autres paramètres sanguins évalués, nous avons trouvé une baisse des taux plasmatiques en glucose, triglycérides et cholestérol, ce qui semble cohérent avec le modèle ABA.

Par ailleurs, nous nous sommes particulièrement intéressés aux dysfonctions de l'axe intestin-cerveau. L'un des paramètres mesurés était la perméabilité paracellulaire colique, évaluée par diffusion du FITC-Dextran au travers d'un échantillon frais de colon en chambre de Ussing. Chez les souris ABA classiques des séries de 17 jours, la perméabilité colique était augmentée de près de 50% par rapport au groupe contrôle mais ce résultat n'a pas été retrouvé pour les souris ABA-C des séries sur la renutrition. Une fois de plus, l'explication pourrait venir de l'adaptation des animaux au protocole ABA. À l'instar de la perméabilité intestinale, la synthèse protéique totale dans le colon était diminuée de moitié chez les souris ABA classiques par rapport au contrôle de notre première étude. Cependant, le taux de transcription des ARNm codant pour MUC-2 n'a pas été affecté par le modèle ABA. Les données obtenues précédemment au laboratoire montraient, dans le colon des souris ABA, une diminution de la synthèse protéique combinée à une augmentation de l'autophagie (Nobis, Achamrah, et al. 2018). Ces résultats ont été confirmés dans le groupe ABA-C de notre étude sur la renutrition et viennent renforcer le caractère reproductible du modèle. Dans le colon, bien que l'expression de la CLDN-1 ne soit pas affectée par le modèle ABA, l'expression de l'OCDN était diminuée dans le groupe ABA-C alors que son ARNm était augmenté. Il pourrait s'agir d'un phénomène compensatoire en raison d'un manque de cette protéine. Par ailleurs, les taux coliques en ARNm codant pour diverses cytokines pro-inflammatoires semblaient diminués chez les souris ABA.

Comme nous l'avons expliqué dans l'introduction de cette thèse, la plupart des altérations physiologiques observées au cours de l'anorexie mentale peuvent être normalisées après la phase de renutrition mais, bien souvent, ces restaurations ne sont que partielles. Nous avons donc voulu vérifier si la renutrition chez les souris ABA entraînait des effets similaires à ceux

retrouvés en clinique. La renutrition a déjà été testée au sein du laboratoire chez des souris ABA (Achamrah et al. 2016). Mais il s'agissait d'une supplémentation avec une alimentation *ad libitum*. Après 5 jours de renutrition, seul le groupe ABA renourri avec activité physique montrait une reprise de masse maigre supérieure au groupe contrôle. La diminution du taux de zonuline plasmatique, ainsi que le passage du FITC-Dextran dans le groupe ayant conservé l'activité physique, a démontré que celle-ci avait un effet protecteur lors de la renutrition. Cependant, un rebond de masse grasse important a aussi été mis en évidence, à l'instar de ce qui est retrouvé chez les patients anorexiques en phase de renutrition. Les animaux renourris montraient également un comportement hyperphage.

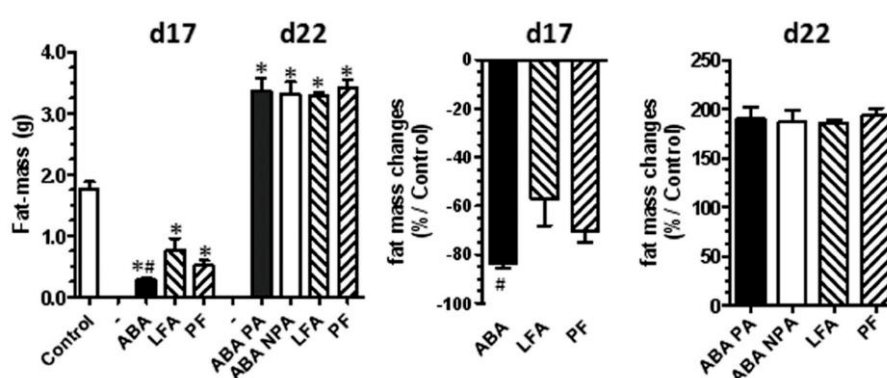


Figure 23 : Rebond de masse grasse après 5 jours de renutrition dans le modèle ABA.

D'après Achamrah et al. 2016 : *Maintaining physical activity during refeeding improves body composition, intestinal hyperpermeability and behavior in anorectic mice.*

ABA : activity-based anorexia ; ABA NPA : ABA no physical activity ; ABA PA : ABA physical activity ; LFA : limited food access ; PF : per fed.

À la lumière de ces observations, nous avons choisi de procéder à une renutrition progressive. Selon les différentes études menées sur le modèle ABA dans le laboratoire, le poids et la prise alimentaire sont stabilisés au jour 14. Cette dernière était en moyenne de 2,5g dans les précédentes séries, c'est pourquoi nous avons choisi cette valeur comme point de départ avant d'augmenter la quantité de nourriture de 0,5g/jour jusqu'à atteindre 5g, qui correspond à la prise alimentaire moyenne du groupe contrôle.

Globalement, la renutrition progressive a permis de restaurer partiellement le poids et la masse maigre des souris ABA mais n'a pas empêché l'apparition d'un rebond de masse grasse, qui représente l'essentiel du regain de poids. Il est intéressant de constater que la restauration partielle de la masse maigre associée à un rebond de masse grasse chez les groupes ABA-Rf après une renutrition progressive sur une période relativement courte, a donné des résultats similaires à ceux observés chez les patients anorexiques en phase de récupération (Orphanidou

et al. 1997). Il s'agit là d'un nouveau point démontrant la pertinence du modèle ABA dans la recherche sur l'anorexie mentale. Les résultats étant globalement homogènes entre les deux séries avec renutrition, concernant le poids et la composition corporelle, nous avons choisi de fusionner les données des deux séries, notamment pour les groupes ABA-Rf et les groupes contrôles, afin de simplifier l'exploitation des résultats.

Aucun effet n'a été noté en ce qui concerne la synthèse protéique musculaire totale chez les animaux ABA-Rf. Alors que les souris ABA-C présentaient un ratio NPY /POMC six fois supérieur au contrôle, la renutrition a partiellement abaissé cette valeur en la ramenant à environ trois fois celle du groupe CTRL. Des altérations du métabolisme hypothalamique ont été rapportées lors de précédents travaux effectués au laboratoire (Nobis, Goichon, et al. 2018). La persistance de l'altération du ratio NPY / POMC présente dans le groupe ABA-Rf pourrait être en lien avec ces observations antérieures.

Les données des dosages plasmatiques ont montré que l'adiponectine tendait à être normalisée par la renutrition mais restait légèrement supérieure au seuil du groupe contrôle. En raison de la corrélation inverse qui existe entre adiponectinémie et DMO, que nous avons décrite précédemment, nous pouvons supposer qu'il pourrait y avoir une persistance d'un trouble du métabolisme osseux chez les animaux ABA-Rf. Des travaux menés au sein de l'unité ont montré que la DMO n'était pas entièrement restaurée chez les personnes anorexiques trois ans après la normalisation du poids et le maintien d'une valeur stable de celui-ci, démontrant par la même occasion qu'il n'y a pas de lien entre IMC et DMO (Achamrah, Coëffier, et al. 2017). De plus, chez les souris ABA-Rf, la renutrition a restauré la leptinémie au-delà du seuil du contrôle, ce qui est cohérent avec le regain de masse grasse présent chez les ABA renourries. Par ailleurs, dans la série de 25 jours, les animaux ABA s'étaient habitués au modèle et avaient augmenté légèrement leur prise alimentaire, et donc leur masse grasse (données non publiées). Ces animaux avaient une leptinémie restaurée par rapport aux souris ABA classiques des séries de 17 jours. Les données de l'étude sur la renutrition ont donc confirmé celles obtenues avec un protocole ABA de 25 jours. La restauration des taux plasmatiques d'adiponectine et de leptine témoignent d'une récupération de la fonction sécrétoire du tissu adipeux. Ces restaurations conjointes de la masse grasse et de la leptinémie dans la série de 25 jours n'ont étonnamment pas été retrouvées lors d'études chez des souris C57Bl/6 après restriction calorique et récupération. Dans ces travaux, seule la masse grasse était restaurée mais la leptinémie restait très faible, faisant penser à une dysfonction des adipocytes en raison de la restriction (Zgheib et al. 2014). En revanche, les animaux employés dans cette étude étaient des

souris femelles, ce qui pourrait renforcer un peu plus la pertinence de l'utilisation d'individus mâles dans le protocole ABA. En revanche, bien que le taux plasmatique de triglycérides soit partiellement restauré chez les souris ABA-Rf, la cholestérolémie n'a pas été impactée par la renutrition. Afin de mieux comprendre le métabolisme des lipides dans le modèle ABA, avec ou sans renutrition, de futures études doivent être envisagées.

Les souris ABA classiques montraient, dans le colon, une diminution de la synthèse protéique totale et une augmentation de l'activité autophagique. La renutrition seule a restauré cette synthèse protéique colique mais sans affecter le niveau de phosphorylation de la p70S6K alors que l'autophagie était normalisée. L'activité autophagique et la p70S6K étant sous le contrôle de mTOR, il serait intéressant de vérifier le niveau de phosphorylation de ce dernier.

Toujours dans le colon, la renutrition a permis de restaurer partiellement l'expression de l'OCDN par rapport au groupe ABA-C et d'augmenter l'expression de la CLDN-1 en comparaison des groupes ABA-C et CTRL. En parallèle, le taux en ARNm codant pour CLDN-2 était diminué par rapport au groupe ABA-C. Contrairement à la CLDN-1, la CLDN-2 favorise la perméabilité paracellulaire. La diminution du taux de transcription pour ce gène pourrait donc renforcer l'effet bénéfique de la renutrition sur la fonction de barrière intestinale. Aucun effet important de la renutrition n'a été observé sur les taux coliques en ARNm codant pour les cytokines pro-inflammatoires, hormis une restauration partielle de ce taux pour MCP-1, ni sur l'expression de TLR-4.

La plupart des altérations induites par le modèle ABA ont été partiellement voire complètement normalisées par la renutrition. Comme décrit précédemment, la Gln a déjà montré des effets bénéfiques sur le colon dans des études cliniques ou des modèles expérimentaux portant sur différentes pathologies intestinales. De leur côté, les effets anabolisants des BCAA sur les muscles sont également bien connus. Ces données ont donc motivé l'étude d'une supplémentation orale en Gln ou en BCAA dans le modèle ABA. La seconde étude a été pensée pour vérifier si la renutrition combinée à une supplémentation orale en Gln ou BCAA permettrait d'obtenir des effets synergiques. Ces deux études s'inscrivent dans une volonté d'optimiser les formulations des produits de renutrition destinés aux personnes anorexiques.

Le protocole ABA entraîne une diminution du poids des animaux induite par une perte sévère de masse maigre et de masse grasse. Ces altérations de la composition corporelle n'étaient pas améliorées par une supplémentation de 7 jours en Gln ou en BCAA. Ces résultats sur la composition corporelle sont en accord avec la prise alimentaire inchangée entre souris

supplémentées et non supplémentées en acides aminés. La supplémentation en acides aminés n'a pas permis d'augmenter la masse grasse, ce qui se traduit par une leptinémie toujours drastiquement diminuée dans ces groupes. Bien que la prise alimentaire quotidienne soit similaire dans tous les groupes ABA, la prise alimentaire cumulée du groupe ABA supplémenté en Gln est plus élevée que celle du groupe non supplémenté. Cette augmentation n'est pas retrouvée avec les BCAA. Des travaux sur les effets de la supplémentation en Gln et/ou en Leu sur la prise alimentaire chez des rats ont montré une augmentation de la synthèse de glycogène hépatique en présence de Gln et de Leu mais sans effets sur la prise alimentaire. Par ailleurs, la Gln n'induisait aucune modification de composition corporelle (Obeid et al. 2005; 2006). Si la Gln ne semble pas avoir d'effet direct sur la prise alimentaire, son action serait possiblement indirecte. Les patients anorexiques souffrent très souvent de TFI, tels que des ballonnements, après l'ingestion d'un repas. Dans le modèle ABA, une étude antérieure du laboratoire avait démontré l'existence d'une augmentation du temps de vidange gastrique (Nobis, Morin, et al. 2018). La vitesse du transit intestinal pourrait dépendre de la concentration en ammoniac. L'exposition d'échantillons d'intestin de souris, d'humain et de porc à un apport d'ammoniac exogène semble augmenter la vitesse de transit intestinal en augmentant les contractions tout en diminuant la relaxation des muscles lisses intestinaux. Cette action serait médiée par une activation des voies GABAergiques du système nerveux entérique (Fried et al. 2017). Cet effet de l'ammoniac sur le transit intestinal paraît d'autant plus important que lorsque la Gln synthétase (GS) est inhibée. En effet, la GS possède un rôle de détoxification lorsque la concentration en ammoniac dans le tractus intestinal est trop élevée en combinant l'excédent avec du Glu pour former de la Gln. La détoxification induite par la GS consiste à fixer une molécule d'ammoniac sur un Glu afin de produire de la Gln. Ce dernier point est particulièrement intéressant puisque l'on pourrait supposer que la supplémentation en Gln aurait un effet inhibiteur sur la GS intestinale par saturation. Ceci aurait pour conséquence d'augmenter la concentration en ammoniac de l'intestin, de rendre le transit intestinal plus rapide et donc d'améliorer les TFI. Toutefois, l'ammoniac a aussi d'autres effets, notamment celui de diminuer la prise alimentaire en agissant sur le cortex piriforme (Noda et Chikamori 1976). À l'inverse de ces données, d'autres travaux mettent en avant une diminution de l'ammoniac par la supplémentation en Gln après un effort physique chez l'humain (Carvalho-Peixoto, Alves, et Cameron 2007).

L'augmentation de la prise alimentaire cumulée pourrait aussi s'expliquer par une baisse éventuelle du niveau d'anxiété des souris ABA. Des souris femelles adolescentes C57Bl/6

exposées au modèle ABA ont montré un niveau d'anxiété plus élevé que des souris uniquement exposées à de l'exercice physique (Wable et al. 2015), ce qui tend à renforcer l'intérêt du modèle ABA pour l'étude de l'anorexie mentale. La distribution de Gln chez des rats Wistar en période néonatale a pour effet de diminuer l'anxiété de ces animaux et de permettre une bonne croissance (de Lima et al. 2017). Bien que les souris utilisées pour les travaux de cette thèse ne soient plus dans leur période adolescente, il est possible que les effets anxiolytiques de la Gln puissent perdurer à l'âge adulte. Il faut également noter que les taux en ARNm de NPY ne sont affectés ni par la supplémentation en Gln, ni par les BCAA, ce qui renforce l'idée d'une action indirecte de la Gln sur la prise alimentaire, notamment sur les TFI. La relation entre ammoniac, Gln, motilité intestinale, anxiété et prise alimentaire dans le modèle ABA, pourrait faire l'objet d'études futures.

La supplémentation en Gln des souris ABA a permis de restaurer la perméabilité paracellulaire et la synthèse protéique totale dans le colon. Cependant, les BCAA semblaient avoir l'effet inverse sur la synthèse protéique qu'ils diminuent chez les souris ABA. La déprivation de Gln dans le milieu de culture de cellules intestinales Caco-2 a pour effet de diminuer la synthèse protéique de ces cellules et celle-ci peut être restaurée par l'ajout de Gln (Le Bacquer et al. 2001). Les données sur la perméabilité intestinale chez les personnes anorexiques restent peu nombreuses et contradictoires comme nous l'avons décrit dans l'introduction de cette thèse. Cependant, des travaux récents ont mis en évidence que la supplémentation entérale en Gln chez des patients admis en soins intensifs, à la dose de 0,3g/kg/jour sur une période de 10 jours, permettait de diminuer de 40% le taux de zonuline plasmatique (Shariatpanahi et al. 2019). La zonuline reste toutefois un marqueur indirect de la perméabilité intestinale et une mesure plus directe aurait été souhaitable. Le fait que la Gln puisse favoriser la synthèse protéique et améliorer la perméabilité intestinale, laisse à penser que cet acide aminé joue un rôle important dans la synthèse des protéines des jonctions serrées. Bien qu'un rôle bénéfique de la Gln ait été démontré chez des patients atteints de SII avec diarrhée, notamment en restaurant l'expression de la CLDN-1 (Bertrand et al. 2016), aucun effet sur la synthèse des protéines des jonctions serrées n'a été observé dans notre première étude.

Cette amélioration de la perméabilité paracellulaire chez les souris ABA supplémentées en Gln pourrait s'expliquer par un renforcement des liaisons entre cellules. En effet, chez le poulet, la distribution de Gln conduit à une amélioration de l'absorption de Ca^{2+} dont le rôle est capital pour le maintien des jonctions serrées (Moine et al. 2019). Mais ces travaux mettent aussi en avant une activation de l'autophagie par la Gln, associée à une inhibition de NF- κ B dans le

noyau des cellules intestinales. L'ammoniac issu du métabolisme de la Gln est également connu pour favoriser le maintien de l'autophagie avec un effet protecteur contre l'inflammation (Eng et al. 2010). Ces résultats sont toutefois en contradiction avec ceux obtenus au laboratoire sur le modèle ABA où l'autophagie dans le colon est augmentée (Nobis, Achamrah, et al. 2018).

Il est intéressant de noter que la supplémentation en Gln chez les souris ABA augmente la synthèse d'ARNm codant pour MUC-2. Ce résultat reste relativement difficile à interpréter puisque l'augmentation de la transcription peut faire suite à un manque de la protéine concernée mais ne débouche pas forcément sur la synthèse de celle-ci. La Gln a été efficace pour empêcher la translocation des bactéries commensales dans les sous-couches de la paroi intestinale (X. Wang et al. 2015). Il est donc possible que cet effet bénéfique soit également présent chez les souris ABA supplémentées mais de nouvelles analyses seront nécessaires pour vérifier si la synthèse de MUC-2 est effectivement augmentée par la Gln.

Malgré la restauration de différents paramètres intestinaux, le poids et la composition corporelle n'ont pas été améliorés par la Gln. Cette dernière a montré des effets intéressants sur le colon chez les souris ABA, mais aucun de ceux-ci n'ont été retrouvés pour la supplémentation en BCAA, ce qui laisse entendre que les effets bénéfiques de la Gln lui sont spécifiques. En définitive, la Gln n'améliore que partiellement différents paramètres là où les BCAA n'en impactent aucun. Il est donc possible que cette absence d'effet de la Gln et des BCAA sur la composition corporelle et le poids soit la conséquence d'un manque d'apport énergétique. C'est pourquoi nous avons voulu vérifier si de nouveaux effets seraient observés en combinant renutrition progressive et supplémentation en Gln ou BCAA chez des souris ABA.

La supplémentation en Gln ou en BCAA n'a eu aucun effet supplémentaire par rapport à la renutrition seule. Cependant, le poids et la masse maigre du groupe supplémenté en BCAA ne sont plus significativement plus faibles par rapport au groupe contrôle, sans être complètement restaurés. Comparativement au groupe ABA-Rf de la série avec supplémentation en BCAA, le rebond de masse grasse du groupe ABA-Rf-B tendait à être plus important. Contrairement à ce qui pourrait être attendu, le groupe ABA-Rf-B a montré une baisse de la synthèse protéique musculaire, bien que celle-ci ne soit pas significative. Chez l'humain, la restriction calorique entraîne une baisse de la synthèse protéique musculaire, sans amélioration par supplémentation en protéines, mais qui peut être atténuée par l'exercice physique (Hector et al. 2018).

En cas de restriction calorique, les BCAA sont catabolisés en BKCA, via l'augmentation de la BCAT, et si la restriction se prolonge, l'activité de la BCKD augmente également pour produire

des esters d'acyl-CoA (Holeček 2018). La BKCD intervient sur les dérivés cétoniques des trois BCAA mais celui de la Leu, le KIC (α -ketoisocaproate), peut être métabolisé en β -Hydroxy- β -methyl butyrate (HMB) par l'enzyme KIC dioxygénase dont la réaction a lieu principalement dans le foie. Il a été montré que le HMB était plus efficace que la Leu pour inhiber la dégradation des fibres musculaires lorsqu'il est ajouté dans le milieu de culture de cellules C2C12 en conditions de déplétion de nutriments (Duan, Li, et al. 2018). Cette inhibition de la dégradation des myotubes passerait par la voie Akt/FoxO3a ayant pour conséquence la régulation de l'activité du système protéasome-ubiquitine (Duan et al. 2019). Le type d'exercice physique semble aussi affecter l'effet bénéfique du HMB. Ainsi, la supplémentation en HMB permet d'augmenter la masse maigre et la force musculaire lors d'exercices d'endurance après au moins trois semaines d'entraînement alors que ces effets ne sont pas retrouvés avec des exercices visant à augmenter la force musculaire (Nissen et Sharp 2003). L'augmentation de la masse grasse additionnée à l'élévation de la cholestérolémie chez les souris ABA-Rf-B pourraient être le résultat d'une augmentation de la production de HMB, qui a également des effets sur le métabolisme lipidique. L'augmentation de la cholestérolémie par les BCAA était légère mais peut être expliquée par le faible taux de conversion du KIC en HMB, c'est-à-dire environ 5 à 10%. De plus, chez le rat, une supplémentation en HMB entraîne une hausse de la cholestérolémie dans les 24 heures (Holeček 2017). La supplémentation du milieu de culture de cellules C2C12 avec du HMB a pour effet d'augmenter l'expression de PPAR- γ ainsi que l'activité de la fatty acid synthase (FAS), des marqueurs de la lipogenèse, avec pour conséquence une accumulation de lipides dans les myotubes (Schnuck, Johnson, et al. 2016).

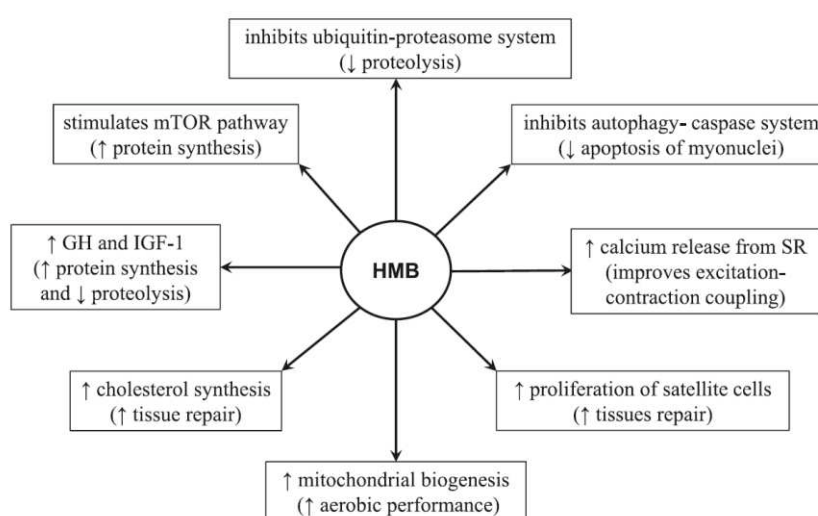


Figure 24 : Effet du HMB sur différentes voies métaboliques.

D'après Holeček 2017 : *Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation and skeletal muscle in healthy and muscle-wasting conditions: HMB supplementation and muscle.*

En ce qui concerne le contrôle central de la prise alimentaire, les suppléments en acides aminés n'ont pas eu d'effet plus marqué sur le ratio NPY / POMC que la renutrition seule. Le taux hypothalamique en ARNm codant pour la CRH (corticotropin-releasing hormone) n'était pas différent entre les groupes ABA-C et CTRL, mais était diminué dans le groupe ABA-Rf-G sans que cette baisse ne soit significative. En revanche, ce taux était plus élevé pour le groupe avec renutrition et supplémentation en BCAA. La CRH est une hormone dont la production est augmentée en condition stressante ou d'anxiété. La baisse de la transcription du gène la codant pourrait faire écho aux observations obtenues dans d'autres études faisant état d'un effet anxiolytique de la Gln passant possiblement par des voies GABAergiques (de Lima et al. 2017; Son et al. 2018). L'augmentation du taux de transcrits pour la CRH dans le groupe supplémenté en BCAA pourrait être expliqué par une baisse de la concentration en tryptophane (Trp) provoqué par les BCAA, en raison de la compétition qui existe entre BCAA et Trp au niveau des transporteurs, et conduisant à des troubles anxieux par une voie indépendante de la sérotonine (Coppola et al. 2013). Afin de vérifier ces effets, il faudrait procéder à des tests mesurant le niveau d'anxiété des animaux dans les prochaines études.

Le taux plasmatique en adiponectine du groupe ABA-Rf-G était restauré à un niveau identique à celui du groupe CTRL alors que les souris ABA-Rf-B conservaient la légère augmentation de ce taux retrouvé dans le groupe ABA-Rf. Aucun effet supplémentaire de la Gln ou des BCAA n'a été retrouvé pour la leptinémie par rapport au groupe ABA-Rf. Dans notre étude de la renutrition, le taux plasmatique en triglycérides était augmenté uniquement chez les souris ABA renourries avec supplémentation en Gln et partiellement restauré chez les souris ABA avec renutrition seule. Cet effet de la Gln sur les triglycérides a déjà été observé chez des rats. Une supplémentation en Gln à la dose de 85 mM entraînait une augmentation de l'absorption des triglycérides par l'intestin à hauteur de 64% par rapport au contrôle. Il s'agit d'un effet dose-dépendant puisque plus la dose de Gln était élevée, moins les triglycérides étaient absorbés avec une baisse de 43% de celle-ci par rapport au contrôle avec une supplémentation en Gln à la dose de 340 mM. Une dose trop faible, 42,5 mM, était sans effet sur cette absorption (Schwimmer et al. 2002). Il est intéressant de noter que, dans notre étude, la Gln était distribuée de façon à apporter une dose de 2g/kg/jour ce qui correspond à une concentration de 75,3 mM, donc très proche des travaux de Schwimmer et al., ce qui pourrait expliquer les résultats observés. Toutefois, les mécanismes impliqués restent inconnus et aucunes données supplémentaires n'ont pu être trouvées dans la documentation scientifique.

La glycémie était restaurée dans tous les groupes ABA avec renutrition mais seul le groupe renourri avec supplémentation en BCAA montrait une augmentation significative de la glycémie par rapport aux animaux avec renutrition uniquement. Plusieurs études font état d'une augmentation de la glycémie par les BCAA avec potentiellement l'installation d'une insulino-résistance (Holeček 2018). L'Ile favoriserait l'expression des transporteurs du glucose GLUT dans les muscles et l'intestin. Concernant l'intestin, l'Ile augmenterait l'expression du Na⁺/glucose co-transporteur 1 et de GLUT-2 (Zhang et al. 2016).

Dans notre première étude sur la supplémentation en acides aminés dans le modèle ABA, nous avons mis en avant les effets bénéfiques de la Gln sur la synthèse protéique et la perméabilité paracellulaire dans le colon, qui n'étaient pas retrouvés avec les BCAA (L'Huillier et al. 2019). Dans l'étude faite sur la renutrition, aucune différence n'a été observée entre les différents groupes en ce qui concerne la perméabilité dans le colon. La restauration de ce paramètre dans le groupe ABA classique pourrait être induit par une adaptation au modèle ABA puisqu'une restauration partielle de la perméabilité colique avait été observée chez les animaux ABA de la série ABA de 25 jours (données non publiées). La supplémentation en Gln avait restauré la synthèse protéique totale dans le colon des souris ABA alors que les BCAA tendaient fortement à diminuer celle-ci. Dans l'étude sur la renutrition nous avons souhaité vérifier si ces résultats se confirmaient.

La synthèse protéique totale dans le colon était restaurée chez les souris ABA renourries avec supplémentation en Gln alors qu'elle n'était que partiellement restaurée dans le groupe avec renutrition seule. Aucune amélioration n'a été montrée dans le groupe ABA-Rf-B pour lequel la synthèse protéique colique restait similaire au groupe contrôle. Ces observations sont en accord avec les résultats obtenus dans la première étude où la Gln restaurait la synthèse protéique dans le colon et où les BCAA semblaient avoir un effet inhibiteur sur cette synthèse. Par ailleurs, l'autophagie était plus élevée dans le groupe ABA classique, ce qui confirme les résultats antérieurs obtenus au laboratoire (Nobis, Achamrah, et al. 2018) mais elle était normalisée dans les groupes ABA-Rf et ABA-Rf-G. L'autophagie semblait toujours plus élevée chez les souris ABA renourries avec supplémentation en BCAA par rapport au groupe avec Gln, bien que cette différence ne soit pas significative. Cet effet activateur de l'autophagie des BCAA a déjà été observé dans des lignées de cellules tumorales coliques (Wubetu et al. 2014). Il est intéressant de noter que, dans le colon, les résultats obtenus pour la synthèse protéique totale sont inversés entre chaque groupe lorsqu'on les compare à ceux obtenus pour l'autophagie.

Les BCAA sont souvent montrés comme bénéfiques pour l'intestin ce qui est relativement contradictoire avec les données que nous avons obtenues dans nos deux études. Mais il serait peut-être envisageable de combiner supplémentation en Gln et en BCAA puisque leur administration conjointe semble avoir des effets bénéfiques sur l'intestin plus importants que lorsque ces acides aminés sont donnés séparément (Holecek et al. 2006). L'intestin est un organe dont les interactions avec les autres organes associés à la digestion sont complexes. Mais cette communication s'étend aussi au microbiote intestinal. Ces dernières années, l'idée d'un axe intestin-cerveau impliquant le microbiote a été renforcée par de nombreuses études démontrant l'importance du microbiote non seulement dans la digestion, mais aussi dans les troubles de l'humeur ou les comportements anxieux.

Chez les personnes anorexiques, une dysbiose a été mise en évidence à plusieurs reprises en affectant non seulement les bactéries, mais aussi les virus et champignons faisant également partie de notre microbiote (Breton, Déchelotte, et Ribet 2019). L'étude du microbiote chez les souris ABA serait donc intéressant pour vérifier s'il existe des modifications des populations bactériennes chez ces animaux. Récemment, des travaux effectués au laboratoire ont montré une augmentation de l'activité de production de l'ATP des bactéries de la famille des *Clostridiaceae* et *Lachnospiraceae*, sans pour autant affecter le taux global de production d'ATP par le microbiote (Breton et al. 2019). Il s'agirait d'un effet adaptatif à la restriction calorique montrant toutefois l'intérêt d'étudier le microbiote dans le cadre du modèle ABA pour une meilleure caractérisation de celui-ci afin de vérifier sa pertinence sur ce paramètre pour l'étude expérimentale de l'anorexie mentale. Le développement du microbiote est donc assujéti au comportement alimentaire mais aussi à la qualité de celui-ci. En effet, la supplémentation en acides aminés peut impacter la transcription des gènes chez certaines souches d'*E. coli* (Baez et al. 2019). De plus, la supplémentation en Gln est capable de réguler le métabolisme des acides aminés par les bactéries intestinales (Dai et al. 2013). Concernant les BCAA, nous avons décrit précédemment leur effet en faveur d'une résistance à l'insuline. Celle-ci est souvent retrouvée chez les personnes souffrant d'obésité et la population de la bactérie *Akkermansia muciniphila* est diminuée chez ces personnes (Dao et al. 2019). Or, la pasteurisation de cette bactérie a permis de découvrir la protéine nommée A-muc 1100 dont l'un des effets est la réduction de l'insulino-résistance chez les souris obèses (Plovier et al. 2017). Une supplémentation combinant A-muc 1100 et BCAA pourrait donc être intéressante pour les patients anorexiques.

Les co-cultures d'*A. muciniphila* et de cellules intestinales humaines de type Caco-2 et HT29 ont montré que cette bactérie pouvait se lier directement à ces cellules via la laminine

extracellulaire (Reunanen et al. 2015). L'étude rapporte le fait que cette liaison augmente la résistance transépithéliale, ce qui indique une amélioration de l'intégrité de la barrière que forment ces cellules. Les résultats montrent également qu'il faut 100 fois plus d'*A. muciniphila* que d'*Escherichia coli* pour induire une réponse immunitaire, ce qui semble indiquer un faible potentiel inflammatoire de cette bactérie.

Plus qu'une faible action pro-inflammatoire, *A. muciniphila* pourrait avoir un effet anti-inflammatoire. La diminution de l'abondance de cette bactérie est associée à l'apparition de maladies inflammatoires de l'intestin (Derrien, Belzer, et de Vos 2017; Lopez-Siles et al. 2018). Une étude menée chez des souris obèses a mis en avant une diminution de la population bactérienne d'*A. muciniphila* (Everard et al. 2013). Les résultats de l'étude montrent que l'administration d'*A. muciniphila* permet de réduire le poids et l'inflammation du tissu adipeux tout en augmentant la libération d'endocannabinoïdes qui sont connus pour agir sur l'inflammation, la barrière intestinale et les sécrétions gastro-intestinales, comme le précisent les auteurs. Dans leur revue, Sharkey *et al.* décrivent les différents liens entre endocannabinoïdes et fonction intestinale (Sharkey et Wiley 2016). Les endocannabinoïdes peuvent se fixer sur différents récepteurs notés CB-1 et CB-2. D'après la revue, ces deux récepteurs sont retrouvés dans le tractus intestinal avec CB-1 sur les cellules entéroendocrines, et CB-2 sur les neurones entériques. Le récepteur CB-1 est également présent dans l'hypothalamus où son activation diminue l'activité de l'axe HPA, augmentée chez les personnes anorexiques, en plus d'inhiber les récepteurs TRPV-1 (Transient Receptor Potential Vanilloïde-1) impliqués dans la transmission des influx nerveux nociceptifs et dans l'hypersensibilité viscérale. Les auteurs de la revue précisent que les récepteurs CB-1 et CB-2 participent à diminuer la sensibilité viscérale, là encore en inhibant l'action du récepteur TRPV-1. Or, les personnes atteintes d'anorexie mentale étant sujettes à des douleurs abdominales, l'utilisation d'*A. muciniphila* comme probiotique pourrait avoir un intérêt pour atténuer ces douleurs, via le système endocannabinoïdien, améliorer les effets de la renutrition et augmenter les chances de récupération totale. De plus, la stimulation des récepteurs CB-1 et CB-2 par des agonistes entraîne une diminution de la perte de poids ainsi que de l'activité physique chez des rats ABA (Scherma et al. 2017).

D'autres supplémentations à tester dans le modèle ABA pourraient être envisagées comme notamment les oméga-3 ou PUFA (omega-3 polyunsaturated fatty acids). La supplémentation en PUFA a montré qu'elle augmentait les populations des *Bacteroidetes* et des *Lachnospiraceae* dont le rôle de ces dernières est de produire du butyrate, le substrat énergétique principal des

colonocytes (Costantini et al. 2017). Chez la souris, l'inflammation de la muqueuse intestinale induite par du 5-fluorouracile est atténuée par la supplémentation en PUFA (Generoso et al. 2015). Par ailleurs, la supplémentation en PUFA associée à une activité physique entraîne une augmentation de la synthèse protéique des muscles squelettiques chez la personne âgée (Lalia et al. 2017). Les PUFA, notamment l'acide eicosapentaénoïque, sont connus pour leurs effets bénéfiques sur les troubles anxieux (Mocking et al. 2016). La supplémentation en PUFA dans le modèle ABA pourrait être intéressante mais plusieurs points comme le ratio des différents PUFA administrés, la méthode de distribution et la durée de l'expérimentation doivent être discutés au préalable.

Bien que le modèle ABA possède des caractéristiques qui le rendent pertinent dans l'étude de l'anorexie mentale, l'induction de l'anorexie n'est faite que sur du court terme. De nouvelles études font désormais appel à un modèle ABA dit de long terme. Dans ce nouveau protocole, des animaux (souris ou rats) âgés de 4 semaines, contre 8 dans le modèle ABA standard, sont placés dans des cages individuelles avec roue d'activité. La quantité de nourriture est réduite de 40% par rapport au besoin énergétique basal et entraîne une perte de poids jusqu'à 25%. Cette baisse de poids est maintenue pendant deux semaines (Frintrop et al. 2018). Ce modèle semble intéressant pour obtenir un effet chronique de la réduction de la prise alimentaire ainsi qu'une meilleure étude des paramètres centraux, notamment hypothalamiques. Mais cela nécessite de plus nombreuses études sur la manière dont sont affectés les différents paramètres de l'axe intestin-cerveau que nous avons étudiés afin de les comparer à ceux obtenus dans le modèle ABA standard. Si les paramètres gastro-intestinaux et centraux s'avéraient similaires entre les deux modèles ABA, il serait probablement préférable de continuer à utiliser le modèle ABA standard pour des considérations éthiques en raison de l'augmentation de la durée du protocole du nouveau modèle.

En conclusion, le modèle ABA est bien adapté à l'étude de l'anorexie mentale et la supplémentation en Gln, mais pas en BCAA, a montré des effets intéressants sur les paramètres intestinaux des souris ABA. Ces effets bénéfiques, déjà présents dans l'étude de la supplémentation simple, ont été confirmés dans les travaux suivants en combinaison avec une renutrition progressive. De façon surprenante, les BCAA semblent atténuer les effets bénéfiques, même partiellement, de la renutrition seule. De nouvelles études pour comprendre de façon approfondie les mécanismes cellulaires impliqués seront nécessaires. Les modifications du microbiote dans le modèle ABA avec supplémentation en acides aminés et/ou renutrition, pourraient être un point intéressant à évaluer pour permettre une meilleure

caractérisation du modèle ABA. Enfin, l'impact dans le modèle ABA de la renutrition sur les TFI, en particulier la vidange gastrique, fera l'objet d'une prochaine étude au sein du laboratoire.

BIBLIOGRAPHIE

- Abdalla, M. M. I. 2017. « Central and Peripheral Control of Food Intake ». *Endocrine Regulations* 51 (1): 52-70. <https://doi.org/10.1515/enr-2017-0006>.
- Abell, Thomas L., Juan-R. Malagelada, Alexander R. Lucas, Manuel L. Brown, Michael Camilleri, Vay L.W. Go, Fernando Azpiroz, et al. 1987. « Gastric Electromechanical and Neurohormonal Function in Anorexia Nervosa ». *Gastroenterology* 93 (5): 958-65. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(87\)90557-9](https://doi.org/10.1016/0016-5085(87)90557-9).
- Achamrah, Najate, Moïse Coëffier, et Pierre Déchelotte. 2016. « Physical Activity in Patients with Anorexia Nervosa ». *Nutrition Reviews* 74 (5): 301-11. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuw001>.
- Achamrah, Najate, Moïse Coëffier, Pierre Jésus, Jocelyne Charles, Agnès Rimbert, Pierre Déchelotte, et Sébastien Grigioni. 2017. « Bone Mineral Density after Weight Gain in 160 Patients with Anorexia Nervosa ». *Frontiers in Nutrition* 4 (septembre). <https://doi.org/10.3389/fnut.2017.00046>.
- Achamrah, Najate, Séverine Nobis, Jonathan Breton, Pierre Jésus, Liliana Belmonte, Brigitte Maurer, Romain Legrand, et al. 2016. « Maintaining Physical Activity during Refeeding Improves Body Composition, Intestinal Hyperpermeability and Behavior in Anorectic Mice ». *Scientific Reports* 6 (février): 21887. <https://doi.org/10.1038/srep21887>.
- Achamrah, Najate, Séverine Nobis, Alexis Goichon, Jonathan Breton, Romain Legrand, Jean Luc do Rego, Jean Claude do Rego, et al. 2017. « Sex differences in response to activity-based anorexia model in C57Bl/6 mice ». *Physiology & Behavior* 170 (Supplement C): 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.12.014>.
- Adriaenssens, Alice E., Emma K. Biggs, Tamana Darwish, John Tadross, Tanmay Sukthankar, Milind Girish, Joseph Poxel-Wolf, et al. 2019. « Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide Receptor-Expressing Cells in the Hypothalamus Regulate Food Intake ». *Cell Metabolism*, août. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.07.013>.
- Afinogenova, Yuliya, Cindy Schmelkin, Franziska Plessow, Jennifer J. Thomas, Reitemetse Pulumo, Nadia Micali, Karen K. Miller, Kamryn T. Eddy, et Elizabeth A. Lawson. 2016. « Low Fasting Oxytocin Levels Are Associated With Psychopathology in Anorexia Nervosa in Partial Recovery ». *The Journal of Clinical Psychiatry* 77 (11): e1483-90. <https://doi.org/10.4088/JCP.15m10217>.
- Agnello, E, G Malfi, A M Costantino, P Massarenti, M Pugliese, N Fortunati, M G Catalano, et A Palmo. 2012. « Tumour Necrosis Factor Alpha and Oxidative Stress as Maintaining Factors in the Evolution of Anorexia Nervosa ». *Eating and Weight Disorders - Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity* 17 (3): e194-99. <https://doi.org/10.1007/BF03325347>.
- Akieda-Asai, Sayaka, Paul-Emile Poleni, et Yukari Date. 2014. « Coinjection of CCK and Leptin Reduces Food Intake via Increased CART/TRH and Reduced AMPK Phosphorylation in the Hypothalamus ». *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 306 (11): E1284-1291. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00664.2013>.
- American Psychiatric Association (APA). 2013. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 5th ed. VA, USA: American Psychiatric Publishing: Arlington.
- Amitani, Haruka, Akihiro Asakawa, Kazuma Ogiso, Toshihiro Nakahara, Mihar Ushikai, Izumi Haruta, Ken-Ichiro Koyama, Marie Amitani, Kai-chun Cheng, et Akio Inui. 2013. « The Role of Adiponectin Multimers in Anorexia Nervosa ». *Nutrition* 29 (1): 203-6. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2012.07.011>.
- Ando, T., T. Ishikawa, N. Kawamura, M. Karibe, M. Oba, N. Tatsuta, S. Hara, et al. 2001. « Analysis of Tumor Necrosis Factor-Alpha Gene Promoter Polymorphisms in Anorexia Nervosa ». *Psychiatric Genetics* 11 (3): 161-64.

- Andrisani, Alessandra, Chiara Sabbadin, Silvia Minardi, Angela Favaro, Gabriella Donà, Luciana Bordin, Guido Ambrosini, et Decio Armanini. 2017. « Persistent Amenorrhea and Decreased DHEAS to Cortisol Ratio after Recovery from Anorexia Nervosa ». *Gynecological Endocrinology* 33 (4): 311-14. <https://doi.org/10.1080/09513590.2016.1255881>.
- Arakawa, Mie, Takayuki Masaki, Junko Nishimura, Masataka Seike, et Hironobu Yoshimatsu. 2011. « The Effects of Branched-Chain Amino Acid Granules on the Accumulation of Tissue Triglycerides and Uncoupling Proteins in Diet-Induced Obese Mice ». *Endocrine Journal* 58 (3): 161-70. <https://doi.org/10.1507/endocrj.K10E-221>.
- Armougom, Fabrice, Mireille Henry, Bernard Vialettes, Denis Raccach, et Didier Raoult. 2009. « Monitoring Bacterial Community of Human Gut Microbiota Reveals an Increase in Lactobacillus in Obese Patients and Methanogens in Anorexic Patients ». *PloS One* 4 (9): e7125. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007125>.
- Baez, Antonino, Amit Kumar, Ashish K. Sharma, Eric D. Anderson, et Joseph Shiloach. 2019. « Effect of Amino Acids on Transcription and Translation of Key Genes in E. Coli K and B Grown at a Steady State in Minimal Medium ». *New Biotechnology* 49 (mars): 120-28. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2018.10.004>.
- Bahia, Amit, Eugene S. Chu, et Philip S. Mehler. 2011. « Polydipsia and Hyponatremia in a Woman with Anorexia Nervosa ». *The International Journal of Eating Disorders* 44 (2): 186-88. <https://doi.org/10.1002/eat.20792>.
- Bailer, Ursula F., Guido K. Frank, Shannan E. Henry, Julie C. Price, Carolyn C. Meltzer, Lisa Weissfeld, Chester A. Mathis, et al. 2005. « Altered Brain Serotonin 5-HT1A Receptor Binding after Recovery from Anorexia Nervosa Measured by Positron Emission Tomography and [Carbonyl11C]WAY-100635 ». *Archives of General Psychiatry* 62 (9): 1032-41. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.62.9.1032>.
- Bailer, Ursula F., Julie C. Price, Carolyn C. Meltzer, Angela Wagner, Chester A Mathis, Anthony Gamst, et Walter H. Kaye. 2017. « Dopaminergic activity and altered reward modulation in anorexia nervosa – insight from multimodal imaging ». *The International journal of eating disorders* 50 (5): 593-96. <https://doi.org/10.1002/eat.22638>.
- Bak, Lasse K., Arne Schousboe, et Helle S. Waagepetersen. 2006. « The Glutamate/GABA-glutamine Cycle: Aspects of Transport, Neurotransmitter Homeostasis and Ammonia Transfer ». *Journal of Neurochemistry*. 1 août 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03913.x>.
- Bär, Karl-Jürgen, Feliberto de la Cruz, Sandy Berger, Carl Christoph Schultz, et Gerd Wagner. 2015. « Structural and functional differences in the cingulate cortex relate to disease severity in anorexia nervosa ». *Journal of Psychiatry & Neuroscience : JPN* 40 (4): 269-79. <https://doi.org/10.1503/jpn.140193>.
- Baranowska, B., M. Radzikowska, E. Wasilewska-Dziubinska, K. Roguski, et M. Borowiec. 2000. « The Role of VIP and Somatostatin in the Control of GH and Prolactin Release in Anorexia Nervosa and in Obesity ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 921 (1): 443-55. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb07013.x>.
- Basuroy, S., P. Sheth, C. M. Mansbach, et R. K. Rao. 2005. « Acetaldehyde Disrupts Tight Junctions and Adherens Junctions in Human Colonic Mucosa: Protection by EGF and L -Glutamine ». *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 289 (2): G367-75. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00464.2004>.
- Batterham, Rachel L., Michael A. Cowley, Caroline J. Small, Herbert Herzog, Mark A. Cohen, Catherine L. Dakin, Alison M. Wren, et al. 2002. « Gut Hormone PYY 3-36 Physiologically Inhibits Food Intake ». *Nature* 418 (6898): 650-54. <https://doi.org/10.1038/nature00887>.

- Beaulieu, J.-M., et R. R. Gainetdinov. 2011. « The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors ». *Pharmacological Reviews* 63 (1): 182-217. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002642>.
- Belmonte, Liliana, Najate Achamrah, Séverine Nobis, Charlène Guérin, Gaëtan Riou, Christine Bôle-Feysot, Olivier Boyer, et al. 2016. « A Role for Intestinal TLR4-Driven Inflammatory Response during Activity-Based Anorexia ». *Scientific Reports* 6 (1): 35813. <https://doi.org/10.1038/srep35813>.
- Belmonte, Liliana, Stéphanie Beutheu Youmba, Nathalie Bertiaux-Vandaële, Michel Antonietti, Stéphane Lecleire, Alberto Zalar, Guillaume Gourcerol, et al. 2012. « Role of Toll Like Receptors in Irritable Bowel Syndrome: Differential Mucosal Immune Activation According to the Disease Subtype ». *PLoS ONE* 7 (8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042777>.
- Benini, Luigi, Tiziana Todesco, Riccardo Dalle Grave, Fosca Deiorio, Lara Salandini, et Italo Vantini. 2004. « Gastric Emptying in Patients with Restricting and Binge/Purging Subtypes of Anorexia Nervosa ». *The American Journal of Gastroenterology* 99 (8): 1448-54. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2004.30246.x>.
- Benini, Luigi, Tiziana Todesco, Luca Frulloni, Riccardo Dalle Grave, Pietro Campagnola, Flora Agugiario, Caterina Daniela Cusumano, Armando Gabbrielli, et Italo Vantini. 2010. « Esophageal Motility and Symptoms in Restricting and Binge-Eating/Purging Anorexia ». *Digestive and Liver Disease* 42 (11): 767-72. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2010.03.018>.
- Bergström, Ulrika, Charlotte Lindfors, Marie Svedberg, Jeanette E. Johansen, Jenny Häggkvist, Martin Schalling, Rolf Wibom, Abram Katz, et Ida A. K. Nilsson. 2017. « Reduced Metabolism in the Hypothalamus of the Anorectic Anx/Anx Mouse ». *Journal of Endocrinology* 233 (1): 15-24. <https://doi.org/10.1530/JOE-16-0383>.
- Bernardoni, Fabio, Daniel Geisler, Joseph A. King, Amir-Homayoun Javadi, Franziska Ritschel, Julia Murr, Andrea M.F. Reiter, et al. 2018. « Altered Medial Frontal Feedback Learning Signals in Anorexia Nervosa ». *Biological Psychiatry* 83 (3): 235-43. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.07.024>.
- Bernardoni, Fabio, Joseph A. King, Daniel Geisler, Elisa Stein, Charlotte Jaite, Dagmar Nätsch, Friederike I. Tam, et al. 2016. « Weight Restoration Therapy Rapidly Reverses Cortical Thinning in Anorexia Nervosa: A Longitudinal Study ». *NeuroImage* 130 (avril): 214-22. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.02.003>.
- Bertrand, Julien, Ibtissem Ghouzali, Charlène Guérin, Christine Bôle-Feysot, Mélodie Gouteux, Pierre Déchelotte, Philippe Ducrotté, et Moïse Coëffier. 2016. « Glutamine Restores Tight Junction Protein Claudin-1 Expression in Colonic Mucosa of Patients With Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome ». *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 40 (8): 1170-76. <https://doi.org/10.1177/0148607115587330>.
- Bertrand, Julien, Rachel Marion-Letellier, Saïda Azhar, Philippe Chan, Romain Legrand, Alexis Goichon, Ibtissem Ghouzali, et al. 2015. « Glutamine Enema Regulates Colonic Ubiquitinated Proteins but Not Proteasome Activities during TNBS-Induced Colitis Leading to Increased Mitochondrial Activity ». *PROTEOMICS* 15 (13): 2198-2210. <https://doi.org/10.1002/pmic.201400304>.
- Bertrand, Julien, Naouel Tennoune, Rachel Marion-Letellier, Alexis Goichon, Philippe Chan, Khaly Mbodji, David Vaudry, Pierre Déchelotte, et Moïse Coëffier. 2013. « Evaluation of Ubiquitinated Proteins by Proteomics Reveals the Role of the Ubiquitin Proteasome System in the Regulation of Grp75 and Grp78 Chaperone Proteins during Intestinal Inflammation ». *PROTEOMICS* 13 (22): 3284-92. <https://doi.org/10.1002/pmic.201300082>.

- Beutheu, Stéphanie, Ibtissem Ghouzali, Ludovic Galas, Pierre Déchelotte, et Moïse Coëffier. 2013. « Glutamine and arginine improve permeability and tight junction protein expression in methotrexate-treated Caco-2 cells ». *Clinical Nutrition* 32 (5): 863-69. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2013.01.014>.
- Beutheu, Stéphanie, Wassila Ouelaa, Charlène Guérin, Liliana Belmonte, Moutaz Aziz, Naouel Tennoune, Christine Bôle-Feysot, Ludovic Galas, Pierre Déchelotte, et Moïse Coëffier. 2014. « Glutamine Supplementation, but Not Combined Glutamine and Arginine Supplementation, Improves Gut Barrier Function during Chemotherapy-Induced Intestinal Mucositis in Rats ». *Clinical Nutrition* 33 (4): 694-701. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2013.09.003>.
- Bi, Sheng, Benjamin M. Robinson, et Timothy H. Moran. 2003. « Acute Food Deprivation and Chronic Food Restriction Differentially Affect Hypothalamic NPY MRNA Expression ». *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 285 (5): R1030-1036. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00734.2002>.
- Bi, Xinyan, Yi Ting Loo, et Christiani Jeyakumar Henry. 2020. « Relationships between Adiponectin and Bone: Sex Difference ». *Nutrition* 70 (février): 110489. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2019.04.004>.
- Binder, Elke, Francisco J. Bermúdez-Silva, Caroline André, Melissa Elie, Silvana Y. Romero-Zerbo, Thierry Leste-Lasserre, Ilaria Belluomo, et al. 2013. « Leucine Supplementation Protects from Insulin Resistance by Regulating Adiposity Levels ». *PloS One* 8 (9): e74705. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074705>.
- Björklund, Anders, et Stephen B. Dunnett. 2007. « Dopamine Neuron Systems in the Brain: An Update ». *Trends in Neurosciences* 30 (5): 194-202. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.03.006>.
- Blauwhoff-Buskermolen, Susanne, Jacqueline A. E. Langius, Annemieke C. Heijboer, Annemarie Becker, Marian A. E. de van der Schueren, et Henk M. W. Verheul. 2017. « Plasma Ghrelin Levels Are Associated with Anorexia but Not Cachexia in Patients with NSCLC ». *Frontiers in Physiology* 8: 119. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00119>.
- Blumel, Sena, Dieter Menne, Gabriella Milos, Oliver Goetze, Michael Fried, Werner Schwizer, Mark Fox, et Andreas Steingoetter. 2017. « Relationship of body weight with gastrointestinal motor and sensory function: studies in anorexia nervosa and obesity ». *BMC Gastroenterology* 17 (janvier). <https://doi.org/10.1186/s12876-016-0560-y>.
- Boateng, Akwasi Afriyie, Krishnan Sriram, Michael M. Meguid, et Martin Crook. 2010. « Refeeding Syndrome: Treatment Considerations Based on Collective Analysis of Literature Case Reports ». *Nutrition* 26 (2): 156-67. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.11.017>.
- Borgo, Francesca, Alessandra Riva, Alberto Benetti, Maria Cristina Casiraghi, Sara Bertelli, Stefania Garbossa, Simona Anselmetti, et al. 2017. « Microbiota in Anorexia Nervosa: The Triangle between Bacterial Species, Metabolites and Psychological Tests ». *PloS One* 12 (6): e0179739. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179739>.
- Bou Khalil, Rami, Lama Souaiby, et Nassim Farès. 2017. « The Importance of the Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis as a Therapeutic Target in Anorexia Nervosa ». *Physiology & Behavior* 171 (mars): 13-20. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.12.035>.
- Boyle, William J., W. Scott Simonet, et David L. Lacey. 2003. « Osteoclast Differentiation and Activation ». *Nature* 423 (6937): 337-42. <https://doi.org/10.1038/nature01658>.

- Brambilla, F, L Bellodi, M Brunetta, et G Perna. 1998. « PLASMA CONCENTRATIONS OF INTERLEUKIN-1 α , INTERLEUKIN-6 AND TUMOR NECROSIS FACTOR- α IN ANOREXIA AND BULIMIA NERVOSA ». *Psychoneuroendocrinology* 23 (5): 9.
- Breton, Jonathan, Pierre Déchelotte, et David Ribet. 2019. « Intestinal Microbiota and Anorexia Nervosa ». *Clinical Nutrition Experimental*, mai, S2352939318300927. <https://doi.org/10.1016/j.clnex.2019.05.001>.
- Breton, Jonathan, Romain Legrand, Najate Achamrah, Philippe Chan, Jean Luc do Rego, Jean Claude do Rego, Moïse Coëffier, Pierre Déchelotte, et Sergueï O. Fetissov. 2019. « Proteome Modifications of Gut Microbiota in Mice with Activity-Based Anorexia and Starvation: Role in ATP Production ». *Nutrition* 67-68 (novembre): 110557. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2019.110557>.
- Brewster, David H., Siân L. Nowell, et David N. Clark. 2015. « Risk of Oesophageal Cancer among Patients Previously Hospitalised with Eating Disorder ». *Cancer Epidemiology* 39 (3): 313-20. <https://doi.org/10.1016/j.canep.2015.02.009>.
- Bridet, Lionel, Juan Jose Beitia Martin, et Jose Luis Cabriada Nuno. 2014. « Acute Liver Damage and Anorexia Nervosa: A Case Report ». *The Turkish Journal of Gastroenterology: The Official Journal of Turkish Society of Gastroenterology* 25 (2): 205-8. <https://doi.org/10.5152/tjg.2014.2531>.
- Broberger, C., J. Johansen, H. Brismar, C. Johansson, M. Schalling, et T. Hökfelt. 1999. « Changes in Neuropeptide Y Receptors and Pro-Opiomelanocortin in the Anorexia (Anx/Anx) Mouse Hypothalamus ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 19 (16): 7130-39.
- Broft, Allegra, Mark Slifstein, Joseph Osborne, Paresh Kothari, Simon Morim, Rebecca Shingleton, Lindsay Kenney, et al. 2015. « Striatal dopamine type 2 receptor availability in anorexia nervosa ». *Psychiatry research* 233 (3): 380-87. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2015.06.013>.
- Buchman, A. L., M. E. Ament, M. Weiner, A. Kodner, et E. A. Mayer. 1994. « Reversal of Megaduodenum and Duodenal Dysmotility Associated with Improvement in Nutritional Status in Primary Anorexia Nervosa ». *Digestive Diseases and Sciences* 39 (2): 433-40. <https://doi.org/10.1007/bf02090220>.
- Burkert, Nathalie T., Karl Koschutnig, Franz Ebner, et Wolfgang Freidl. 2015. « Structural Hippocampal Alterations, Perceived Stress, and Coping Deficiencies in Patients with Anorexia Nervosa: HIPPOCAMPUS, STRESS, AND COPING IN ANOREXIA NERVOSA ». *International Journal of Eating Disorders* 48 (6): 670-76. <https://doi.org/10.1002/eat.22397>.
- Campos-Ferraz, Patricia L., Thomas Bozza, Humberto Nicastro, et Antonio Herbert Lancha. 2013. « Distinct Effects of Leucine or a Mixture of the Branched-Chain Amino Acids (Leucine, Isoleucine, and Valine) Supplementation on Resistance to Fatigue, and Muscle and Liver-Glycogen Degradation, in Trained Rats ». *Nutrition* 29 (11-12): 1388-94. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.05.003>.
- Cardoso, Christopher, Danielle Kingdon, et Mark A. Ellenbogen. 2014. « A Meta-Analytic Review of the Impact of Intranasal Oxytocin Administration on Cortisol Concentrations during Laboratory Tasks: Moderation by Method and Mental Health ». *Psychoneuroendocrinology* 49 (novembre): 161-70. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.07.014>.
- Carlsson, Martin, Lars Brudin, et Pär Wanby. 2018. « Directly Measured Free 25-Hydroxy Vitamin D Levels Show No Evidence of Vitamin D Deficiency in Young Swedish Women with Anorexia Nervosa ». *Eating and Weight Disorders - Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity* 23 (2): 247-54. <https://doi.org/10.1007/s40519-017-0392-y>.

- Carrera, Olaia, Ángela Fraga, Ricardo Pellón, et Emilio Gutiérrez. 2014. « Rodent Model of Activity-Based Anorexia: Rodent Model of Activity-Based Anorexia ». In *Current Protocols in Neuroscience*, édité par Charles R. Gerfen, Andrew Holmes, David Sibley, Phil Skolnick, et Susan Wray, 9.47.1-9.47.11. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0947s67>.
- Carvalho-Peixoto, Jacqueline, Robson Cardilo Alves, et Luiz-Claudio Cameron. 2007. « Glutamine and Carbohydrate Supplements Reduce Ammonemia Increase during Endurance Field Exercise ». *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 32 (6): 1186-90. <https://doi.org/10.1139/H07-091>.
- Castro, Daniel C., Shannon L. Cole, et Kent C. Berridge. 2015. « Lateral Hypothalamus, Nucleus Accumbens, and Ventral Pallidum Roles in Eating and Hunger: Interactions between Homeostatic and Reward Circuitry ». *Frontiers in Systems Neuroscience* 9 (juin). <https://doi.org/10.3389/fnsys.2015.00090>.
- Chaskiel, Léa, Adrian D. Bristow, Rose-Marie Bluthé, Robert Dantzer, Anders Blomqvist, et Jan Pieter Konsman. 2019. « Interleukin-1 Reduces Food Intake and Body Weight in Rat by Acting in the Arcuate Hypothalamus ». *Brain, Behavior, and Immunity* 81 (octobre): 560-73. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2019.07.017>.
- Chen, Siyuan, Yaoyao Xia, Guoqiang Zhu, Jiameng Yan, Chengquan Tan, Baichuan Deng, Jinping Deng, Yulong Yin, et Wenkai Ren. 2018. « Glutamine supplementation improves intestinal cell proliferation and stem cell differentiation in weanling mice ». *Food & Nutrition Research* 62 (juillet). <https://doi.org/10.29219/fnr.v62.1439>.
- Chen, Yi-Wen, Hannah Actor-Engel, et Chiye Aoki. 2018. « A4-GABA A Receptors of Hippocampal Pyramidal Neurons Are Associated with Resilience against Activity-Based Anorexia for Adolescent Female Mice but Not for Males ». *Molecular and Cellular Neuroscience* 90 (juillet): 33-48. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2018.04.008>.
- Cheng, Ying, Qingshu Meng, Chunxia Wang, Houkai Li, Zhiying Huang, Shanghai Chen, Fei Xiao, et Feifan Guo. 2010. « Leucine Deprivation Decreases Fat Mass by Stimulation of Lipolysis in White Adipose Tissue and Upregulation of Uncoupling Protein 1 (UCP1) in Brown Adipose Tissue ». *Diabetes* 59 (1): 17-25. <https://doi.org/10.2337/db09-0929>.
- Cheng, Ying, Qian Zhang, Qingshu Meng, Tingting Xia, Zhiying Huang, Chunxia Wang, Bin Liu, et al. 2011. « Leucine Deprivation Stimulates Fat Loss via Increasing CRH Expression in the Hypothalamus and Activating the Sympathetic Nervous System ». *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* 25 (9): 1624-35. <https://doi.org/10.1210/me.2011-0028>.
- Cheng, Zhen Hadassah, Victoria L. Perko, Leada Fuller-Marashi, Jeff M. Gau, et Eric Stice. 2019. « Ethnic Differences in Eating Disorder Prevalence, Risk Factors, and Predictive Effects of Risk Factors among Young Women ». *Eating Behaviors* 32 (janvier): 23-30. <https://doi.org/10.1016/j.eatbeh.2018.11.004>.
- Chiarioni, Giuseppe, Gabrio Bassotti, ANTONELLA Monsignori, MONICA Menegotti, LARA Salandini, GIORGIO Di matteo, ITALO Vantini, et WILLIAM E. Whitehead. 2000. « Anorectal Dysfunction in Constipated Women With Anorexia Nervosa ». *Mayo Clinic Proceedings* 75 (10): 1015-19. <https://doi.org/10.4065/75.10.1015>.
- Chou, Sharon H., et Christos Mantzoros. 2018. « Bone Metabolism in Anorexia Nervosa and Hypothalamic Amenorrhea ». *Metabolism* 80 (mars): 91-104. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.10.009>.
- Christakos, Sylvia, Puneet Dhawan, Angela Porta, Leila J. Mady, et Tanya Seth. 2011. « Vitamin D and Intestinal Calcium Absorption ». *Molecular and Cellular Endocrinology* 347 (1-2): 25-29. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.05.038>.
- Coppola, Anna, Brett R. Wenner, Olga Ilkayeva, Robert D. Stevens, Mauro Maggioni, Theodore A. Slotkin, Edward D. Levin, et Christopher B. Newgard. 2013. « Branched-

- chain amino acids alter neurobehavioral function in rats ». *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 304 (4): E405-13. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00373.2012>.
- Corbetta, Fabiola, Lucio Tremolizzo, Elisa Conti, Carlo Ferrarese, Francesca Neri, Monica Bomba, et Renata Nacinovich. 2015. « Paradoxical Increase of Plasma Vitamin B₁₂ and Folates with Disease Severity in Anorexia Nervosa: Plasma Vitamin B₁₂ in Anorexia Nervosa ». *International Journal of Eating Disorders* 48 (3): 317-22. <https://doi.org/10.1002/eat.22371>.
- Costantini, Lara, Romina Molinari, Barbara Farinon, et Nicolò Merendino. 2017. « Impact of Omega-3 Fatty Acids on the Gut Microbiota ». *International Journal of Molecular Sciences* 18 (12). <https://doi.org/10.3390/ijms18122645>.
- Crespo, Irene, Beatriz San-Miguel, Carolina Prause, Norma Marroni, María J. Cuevas, Javier González-Gallego, et María J. Tuñón. 2012. « Glutamine Treatment Attenuates Endoplasmic Reticulum Stress and Apoptosis in TNBS-Induced Colitis ». *PloS One* 7 (11): e50407. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050407>.
- Cuntz, Ulrich, Paul Enck, Erich Frühauf, Peter Lehnert, Rudolf L. Riepl, Manfred M. Fichter, et Bärbel Otto. 2013. « Cholecystokinin Revisited: CCK and the Hunger Trap in Anorexia Nervosa ». *PloS One* 8 (1): e54457. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054457>.
- Dai, Zhao-Lai, Xi-Long Li, Peng-Bin Xi, Jing Zhang, Guoyao Wu, et Wei-Yun Zhu. 2013. « L-Glutamine Regulates Amino Acid Utilization by Intestinal Bacteria ». *Amino Acids* 45 (3): 501-12. <https://doi.org/10.1007/s00726-012-1264-4>.
- Dalton, Bethan, Jenni Leppanen, Iain C. Campbell, Raymond Chung, Gerome Breen, Ulrike Schmidt, et Hubertus Himmerich. 2019. « A Longitudinal Analysis of Cytokines in Anorexia Nervosa ». *Brain, Behavior, and Immunity*, mai, S088915911930114X. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2019.05.012>.
- D'Antona, Giuseppe, Maurizio Ragni, Annalisa Cardile, Laura Tedesco, Marta Dossena, Flavia Bruttini, Francesca Caliaro, et al. 2010. « Branched-Chain Amino Acid Supplementation Promotes Survival and Supports Cardiac and Skeletal Muscle Mitochondrial Biogenesis in Middle-Aged Mice ». *Cell Metabolism* 12 (4): 362-72. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.08.016>.
- Dao, Maria Carlota, Eugeni Belda, Edi Prifti, Amandine Everard, Brandon D. Kayser, Jean-Luc Bouilliot, Jean-Marc Chevallier, et al. 2019. « Akkermansia Muciniphila Abundance Is Lower in Severe Obesity, but Its Increased Level after Bariatric Surgery Is Not Associated with Metabolic Health Improvement ». *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 317 (3): E446-59. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00140.2019>.
- Datta, H K, W F Ng, J A Walker, S P Tuck, et S S Varanasi. 2008. « The Cell Biology of Bone Metabolism ». *Journal of Clinical Pathology* 61 (5): 577-87. <https://doi.org/10.1136/jcp.2007.048868>.
- Derrien, Muriel, Clara Belzer, et Willem M. de Vos. 2017. « Akkermansia Muciniphila and Its Role in Regulating Host Functions ». *Microbial Pathogenesis* 106 (mai): 171-81. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.02.005>.
- Devlin, B. 2002. « Linkage Analysis of Anorexia Nervosa Incorporating Behavioral Covariates ». *Human Molecular Genetics* 11 (6): 689-96. <https://doi.org/10.1093/hmg/11.6.689>.
- Devlin, Maureen J., Alison M. Cloutier, Nishina A. Thomas, David A. Panus, Sutada Lotinun, Ilka Pinz, Roland Baron, Clifford J. Rosen, et Mary L. Bouxsein. 2010. « Caloric Restriction Leads to High Marrow Adiposity and Low Bone Mass in Growing Mice ».

- Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 25 (9): 2078-88. <https://doi.org/10.1002/jbmr.82>.
- Dinan, Timothy G., et John F. Cryan. 2017a. « The Microbiome-Gut-Brain Axis in Health and Disease ». *Gastroenterology Clinics of North America* 46 (1): 77-89. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2016.09.007>.
- . 2017b. « Brain-Gut-Microbiota Axis and Mental Health ». *Psychosomatic Medicine* 79 (8): 920-26. <https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000519>.
- Doi, Masako, Ippei Yamaoka, Mitsuo Nakayama, Shinji Mochizuki, Kunio Sugahara, et Fumiaki Yoshizawa. 2005. « Isoleucine, a Blood Glucose-Lowering Amino Acid, Increases Glucose Uptake in Rat Skeletal Muscle in the Absence of Increases in AMP-Activated Protein Kinase Activity ». *The Journal of Nutrition* 135 (9): 2103-8. <https://doi.org/10.1093/jn/135.9.2103>.
- Dolezalova, Radka, Zdena Lacinova, Marketa Dolinkova, Petra Kleiblova, Denisa Haluzikova, Daniel Housa, Hana Papezova, et Martin Haluzik. 2007. « Changes of Endocrine Function of Adipose Tissue in Anorexia Nervosa: Comparison of Circulating Levels versus Subcutaneous mRNA Expression ». *Clinical Endocrinology* 67 (5): 674-78. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2007.02944.x>.
- Domstad, Peggy A, Wei-Jen Shih, Laurie Humphries, et Frank H DeLand. 1987. « Radionuclide Gastric Emptying Studies in Patients with Anorexia Nervosa ». *The Journal of Nuclear Medicine* 28 (5): 816-19.
- Dostálová, I, K Smitka, H Papežová, H Kvasni, et J Nedvídková. 2007. « Increased Insulin Sensitivity in Patients with Anorexia Nervosa: The Role of Adipocytokines » 56: 8.
- Duan, Yehui, Fengna Li, Qiuping Guo, Wenlong Wang, Lingyu Zhang, Chaoyue Wen, Xiao'an Chen, et Yulong Yin. 2018. « β -Hydroxy- β -Methyl Butyrate Is More Potent Than Leucine in Inhibiting Starvation-Induced Protein Degradation in C2C12 Myotubes ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66 (1): 170-76. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04841>.
- Duan, Yehui, Bie Tan, Jianjun Li, Peng Liao, Bo Huang, Fengna Li, Hao Xiao, Yanhong Liu, et Yulong Yin. 2018. « Optimal Branched-Chain Amino Acid Ratio Improves Cell Proliferation and Protein Metabolism of Porcine Enterocytes in Vivo and in Vitro ». *Nutrition* 54 (octobre): 173-81. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2018.03.057>.
- Duan, Yehui, Changbing Zheng, Yinzhaoh Zhong, Bo Song, Zhaoming Yan, Xiangfeng Kong, Jinping Deng, Fengna Li, et Yulong Yin. 2019. « Beta-Hydroxy Beta-Methyl Butyrate Decreases Muscle Protein Degradation via Increased Akt/FoxO3a Signaling and Mitochondrial Biogenesis in Weanling Piglets after Lipopolysaccharide Challenge ». *Food & Function* 10 (8): 5152-65. <https://doi.org/10.1039/c9fo00769e>.
- Duncan, E. L., L. M. Thornton, A. Hinney, M. J. Daly, P. F. Sullivan, E. Zeggini, G. Breen, et C. M. Bulik. 2016. « Genome-Wide Association Study Reveals First Locus for Anorexia Nervosa and Metabolic Correlations ». Preprint. Genomics. <https://doi.org/10.1101/088815>.
- Eddy, Kamryn T., Elizabeth A. Lawson, Christina Meade, Erinne Meenaghan, Sarah E. Horton, Madhusmita Misra, Anne Klibanski, et Karen K. Miller. 2015. « Appetite Regulatory Hormones in Women with Anorexia Nervosa: Binge-Eating/Purging versus Restricting Type ». *The Journal of Clinical Psychiatry* 76 (1): 19-24. <https://doi.org/10.4088/JCP.13m08753>.
- El Ghoch, M., C. Milanese, S. Calugi, M. Pellegrini, N. C. Battistini, et R. Dalle Grave. 2014. « Body Composition, Eating Disorder Psychopathology, and Psychological Distress in Anorexia Nervosa: A Longitudinal Study ». *American Journal of Clinical Nutrition* 99 (4): 771-78. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.078816>.

- El Ghoch, Marwan, Simona Calugi, Silvia Lamburghini, et Riccardo Dalle Grave. 2014. « Anorexia Nervosa and Body Fat Distribution: A Systematic Review ». *Nutrients* 6 (9): 3895-3912. <https://doi.org/10.3390/nu6093895>.
- Elegido, Ana, Montserrat Graell, Patricia Andrés, Alina Gheorghe, Ascensión Marcos, et Esther Nova. 2017. « Increased Naive CD4+ and B Lymphocyte Subsets Are Associated with Body Mass Loss and Drive Relative Lymphocytosis in Anorexia Nervosa Patients ». *Nutrition Research* 39 (mars): 43-50. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2017.02.006>.
- Eng, C. H., K. Yu, J. Lucas, E. White, et R. T. Abraham. 2010. « Ammonia Derived from Glutaminolysis Is a Diffusible Regulator of Autophagy ». *Science Signaling* 3 (119): ra31-ra31. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2000911>.
- Escudero, Carolina A., James E. Potts, Pei-Yoong Lam, Astrid M. De Souza, Gerald J. Mugford, et George G. S. Sandor. 2016. « An Echocardiographic Study of Left Ventricular Size and Cardiac Function in Adolescent Females with Anorexia Nervosa: LV Size and Cardiac Function in AN ». *European Eating Disorders Review* 24 (1): 26-33. <https://doi.org/10.1002/erv.2409>.
- . 2018. « Doppler Echocardiography Assessment of Aortic Stiffness in Female Adolescents with Anorexia Nervosa ». *Journal of the American Society of Echocardiography: Official Publication of the American Society of Echocardiography* 31 (7): 784-90. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2018.01.003>.
- Everard, Amandine, Clara Belzer, Lucie Geurts, Janneke P. Ouwerkerk, Céline Druart, Laure B. Bindels, Yves Guiot, et al. 2013. « Cross-Talk between Akkermansia Muciniphila and Intestinal Epithelium Controls Diet-Induced Obesity ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (22): 9066-71. <https://doi.org/10.1073/pnas.1219451110>.
- Evrard, F., M. Pinto da Cunha, M. Lambert, et O. Devuyst. 2004. « Impaired Osmoregulation in Anorexia Nervosa: A Case-Control Study ». *Nephrology Dialysis Transplantation* 19 (12): 3034-39. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfh507>.
- Facchini, Mario, Luca Sala, Gabriella Malfatto, Renato Bragato, Gabriella Redaelli, et Cecilia Invitti. 2006. « Low-K⁺ Dependent QT Prolongation and Risk for Ventricular Arrhythmia in Anorexia Nervosa ». *International Journal of Cardiology* 106 (2): 170-76. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2005.01.041>.
- File, Sandra E, Paul J Kenny, et Surjit Cheeta. 2000. « The Role of the Dorsal Hippocampal Serotonergic and Cholinergic Systems in the Modulation of Anxiety ». *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 66 (1): 65-72. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(00\)00198-2](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(00)00198-2).
- Foerde, Karin, et Joanna E. Steinglass. 2017. « Decreased Feedback Learning in Anorexia Nervosa Persists after Weight Restoration ». *The International Journal of Eating Disorders* 50 (4): 415-23. <https://doi.org/10.1002/eat.22709>.
- Foitzik, T., M. Kruschewski, A. J. Kroesen, H. G. Hotz, G. Eibl, et H. J. Buhr. 1999. « Does Glutamine Reduce Bacterial Translocation? A Study in Two Animal Models with Impaired Gut Barrier ». *International Journal of Colorectal Disease* 14 (3): 143-49.
- Frank, Guido K. W. 2014. « Could Dopamine Agonists Aid in Drug Development for Anorexia Nervosa? » *Frontiers in Nutrition* 1 (novembre). <https://doi.org/10.3389/fnut.2014.00019>.
- Frank, Guido K.W., Megan E. Shott, Jennifer O. Hagman, Marissa A. Schiel, Marisa Deguzman, et Brogan Rossi. 2017. « The Partial Dopamine D2 Receptor Agonist Aripiprazole is Associated With Weight Gain in Adolescent Anorexia Nervosa ». *The International journal of eating disorders* 50 (4): 447-50. <https://doi.org/10.1002/eat.22704>.

- Franzoni, F, E Mataloni, R Femia, et F Galetta. 2007. « Effect of Oral Potassium Supplementation on QT Dispersion in Anorexia Nervosa ». *Acta Paediatrica* 91 (6): 653-56. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2002.tb03296.x>.
- Fried, David E., Ralph E. Watson, Simon C. Robson, et Brian D. Gulbransen. 2017. « Ammonia Modifies Enteric Neuromuscular Transmission through Glial γ -Aminobutyric Acid Signaling ». *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 313 (6): G570-80. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00154.2017>.
- Frintrop, Linda, Stefanie Trinh, Johanna Liesbrock, Lisa Paulukat, Martien J. Kas, Rene Tolba, Kerstin Konrad, Beate Herpertz-Dahlmann, Cordian Beyer, et Jochen Seitz. 2018. « Establishment of a Chronic Activity-Based Anorexia Rat Model ». *Journal of Neuroscience Methods* 293 (janvier): 191-98. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2017.09.018>.
- Fu, Yu, Yanmei Chen, Liane Li, Yumei Wang, Xiangyang Kong, et Jianhong Wang. 2017. « Food Restriction Affects Y-Maze Spatial Recognition Memory in Developing Mice ». *International Journal of Developmental Neuroscience* 60 (août): 8-15. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2017.03.010>.
- Galmiche, Marie, Pierre Déchelotte, Grégory Lambert, et Marie Pierre Tavalacci. 2019. « Prevalence of Eating Disorders over the 2000–2018 Period: A Systematic Literature Review ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 109 (5): 1402-13. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqy342>.
- Gamrin, Lena, Kerstin Andersson, Eric Hultman, Eva Nilsson, Pia Essén, et Jan Wernerman. 1997. « Longitudinal changes of biochemical parameters in muscle during critical illness ». *Metabolism* 46 (7): 756-62. [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(97\)90119-0](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(97)90119-0).
- Gaudio, Santino, Gaia Olivo, Bruno Beomonte Zobel, et Helgi B. Schiöth. 2018. « Altered cerebellar–insular–parietal–cingular subnetwork in adolescents in the earliest stages of anorexia nervosa: a network–based statistic analysis ». *Translational Psychiatry* 8 (juillet). <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0173-z>.
- Geisler, Daniel, Viola Borchardt, Anton R. Lord, Ilka Boehm, Franziska Ritschel, Johannes Zwipp, Sabine Clas, et al. 2016. « Abnormal functional global and local brain connectivity in female patients with anorexia nervosa ». *Journal of Psychiatry & Neuroscience : JPN* 41 (1): 6-15. <https://doi.org/10.1503/jpn.140310>.
- Generoso, Simone de Vasconcelos, Núbia Moraes Rodrigues, Luísa Martins Trindade, Nivea Carolina Paiva, Valbert Nascimento Cardoso, Cláudia Martins Carneiro, Adaliene Versiani de Matos Ferreira, Ana Maria Caetano Faria, et Tatiani Uceli Maioli. 2015. « Dietary supplementation with omega-3 fatty acid attenuates 5-fluorouracil induced mucositis in mice ». *Lipids in Health and Disease* 14 (juin). <https://doi.org/10.1186/s12944-015-0052-z>.
- Gentile, Maria Gabriella, Paola Pastorelli, Raffaella Ciceri, Giulia Maria Manna, et Simona Collimedaglia. 2010. « Specialized Refeeding Treatment for Anorexia Nervosa Patients Suffering from Extreme Undernutrition ». *Clinical Nutrition* 29 (5): 627-32. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2010.03.008>.
- Germain, Natacha, Bogdan Galusca, Carel W Le Roux, Cecile Bossu, Mohammad A Ghatei, Francois Lang, Stephen R Bloom, et Bruno Estour. 2007. « Constitutional Thinness and Lean Anorexia Nervosa Display Opposite Concentrations of Peptide YY, Glucagon-like Peptide 1, Ghrelin, and Leptin ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 85 (4): 967-71. <https://doi.org/10.1093/ajcn/85.4.967>.
- Ghouzali, Ibtissem, Caroline Lemaitre, Wafa Bahlouli, Saïda Azhar, Christine Bôle-Feysot, Mathieu Meleine, Philippe Ducrotté, Pierre Déchelotte, et Moïse Coëffier. 2017. « Targeting immunoproteasome and glutamine supplementation prevent intestinal

- hyperpermeability ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1861 (1, Part A): 3278-88. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.08.010>.
- Giollo, Alessandro, Luca Idolazzi, Cristian Caimmi, Angelo Fassio, Francesco Bertoldo, Riccardo Dalle Grave, Marwan El Ghoch, et al. 2017. « Vitamin D Levels Strongly Influence Bone Mineral Density and Bone Turnover Markers during Weight Gain in Female Patients with Anorexia Nervosa: GIOLLO et Al. » *International Journal of Eating Disorders* 50 (9): 1041-49. <https://doi.org/10.1002/eat.22731>.
- Godart, N.T., M.F. Flament, Y. Lecrubier, et P. Jeammet. 2000. « Anxiety Disorders in Anorexia Nervosa and Bulimia Nervosa: Co-Morbidity and Chronology of Appearance ». *European Psychiatry* 15 (1): 38-45. [https://doi.org/10.1016/S0924-9338\(00\)00212-1](https://doi.org/10.1016/S0924-9338(00)00212-1).
- Goichon, Alexis, Philippe Chan, Stéphane Lecleire, Aude Coquard, Anne-Françoise Cailleux, Stéphane Walrand, Eric Lerebours, David Vaudry, Pierre Déchelotte, et Moïse Coëffier. 2013. « An enteral leucine supply modulates human duodenal mucosal proteome and decreases the expression of enzymes involved in fatty acid beta-oxidation ». *Journal of Proteomics* 78 (Supplement C): 535-44. <https://doi.org/10.1016/j.jpro.2012.10.024>.
- Gourcerol, G., D.H. St-Pierre, et Y. Taché. 2007. « Lack of Obestatin Effects on Food Intake: Should Obestatin Be Renamed Ghrelin-Associated Peptide (GAP)? » *Regulatory Peptides* 141 (1-3): 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2006.12.023>.
- Grice, D. E., K. A. Halmi, M. M. Fichter, M. Strober, D. B. Woodside, J. T. Treasure, A. S. Kaplan, et al. 2002. « Evidence for a Susceptibility Gene for Anorexia Nervosa on Chromosome 1 ». *American Journal of Human Genetics* 70 (3): 787-92.
- Gualano, A. B., T. Bozza, P. Lopes De Campos, H. Roschel, A. Dos Santos Costa, M. Luiz Marquezi, F. Benatti, et A. Herbert Lancha Junior. 2011. « Branched-Chain Amino Acids Supplementation Enhances Exercise Capacity and Lipid Oxidation during Endurance Exercise after Muscle Glycogen Depletion ». *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness* 51 (1): 82-88.
- Haas, Verena, Dorothea Kent, Michael R Kohn, Sloane Madden, Simon Clarke, Julie Briody, Felix Fischer, Manfred J Müller, et Kevin Gaskin. 2018. « Incomplete Total Body Protein Recovery in Adolescent Patients with Anorexia Nervosa ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 107 (3): 303-12. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqx061>.
- Haleem, Darakhshan Jabeen. 2012. « Serotonin Neurotransmission in Anorexia Nervosa »: *Behavioural Pharmacology* 23 (5 and 6): 478-95. <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e328357440d>.
- . 2017. « Improving Therapeutics in Anorexia Nervosa with Tryptophan ». *Life Sciences* 178 (juin): 87-93. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.04.015>.
- Haleem, J, Bushra Jabeen, et Tahira Parveen. 1998. « INHIBITION OF RESTRAINT-INDUCED ANOREXIA BY INJECTED TRYPTOPHAN » 63 (14): 8.
- Han, Jun, Qingyang Meng, Lei Shen, et Guohao Wu. 2018. « Interleukin-6 Induces Fat Loss in Cancer Cachexia by Promoting White Adipose Tissue Lipolysis and Browning ». *Lipids in Health and Disease* 17 (1): 14. <https://doi.org/10.1186/s12944-018-0657-0>.
- Hanachi, Mouna, Chaysavanh Manichanh, Andreu Schoenenberger, Victoria Pascal, Florence Levenez, Nicole Cournède, Joël Doré, et Jean-Claude Melchior. 2018. « Altered Host-Gut Microbes Symbiosis in Severely Malnourished Anorexia Nervosa (AN) Patients Undergoing Enteral Nutrition: An Explicative Factor of Functional Intestinal Disorders? » *Clinical Nutrition*, octobre, S0261561418324749. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.10.004>.
- Hanachi, Mouna, Jean Claude Melchior, et Pascal Crenn. 2013. « Hypertransaminasemia in Severely Malnourished Adult Anorexia Nervosa Patients: Risk Factors and Evolution

- under Enteral Nutrition ». *Clinical Nutrition* 32 (3): 391-95. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2012.08.020>.
- Hasler, J. F. 1982. « Parotid Enlargement: A Presenting Sign in Anorexia Nervosa ». *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology* 53 (6): 567-73. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(82\)90341-3](https://doi.org/10.1016/0030-4220(82)90341-3).
- Hector, Amy J., Chris McGlory, Felipe Damas, Nicole Mazara, Steven K. Baker, et Stuart M. Phillips. 2018. « Pronounced Energy Restriction with Elevated Protein Intake Results in No Change in Proteolysis and Reductions in Skeletal Muscle Protein Synthesis That Are Mitigated by Resistance Exercise ». *The FASEB Journal* 32 (1): 265-75. <https://doi.org/10.1096/fj.201700158RR>.
- Heruc, Gabriella A., Tanya J. Little, Michael Kohn, Sloane Madden, Simon Clarke, Michael Horowitz, et Christine Feinle-Bisset. 2018. « Appetite Perceptions, Gastrointestinal Symptoms, Ghrelin, Peptide YY and State Anxiety Are Disturbed in Adolescent Females with Anorexia Nervosa and Only Partially Restored with Short-Term Refeeding ». *Nutrients* 11 (1). <https://doi.org/10.3390/nu11010059>.
- Heyland, Daren, John Muscedere, Paul E. Wischmeyer, Deborah Cook, Gwynne Jones, Martin Albert, Gunnar Elke, Mette M. Berger, Andrew G. Day, et Canadian Critical Care Trials Group. 2013. « A Randomized Trial of Glutamine and Antioxidants in Critically Ill Patients ». *The New England Journal of Medicine* 368 (16): 1489-97. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1212722>.
- Hiraoka, Atsushi, Kojiro Michitaka, Daisuke Kiguchi, Hirofumi Izumoto, Hidetaro Ueki, Miho Kaneto, Shogo Kitahata, et al. 2017. « Efficacy of Branched-Chain Amino Acid Supplementation and Walking Exercise for Preventing Sarcopenia in Patients with Liver Cirrhosis ». *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 29 (12): 1416-23. <https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000000986>.
- Holeček, Milan. 2017. « Beta-Hydroxy-Beta-Methylbutyrate Supplementation and Skeletal Muscle in Healthy and Muscle-Wasting Conditions: HMB Supplementation and Muscle ». *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle* 8 (4): 529-41. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12208>.
- . 2018. « Branched-chain amino acids in health and disease: metabolism, alterations in blood plasma, and as supplements ». *Nutrition & Metabolism* 15 (mai). <https://doi.org/10.1186/s12986-018-0271-1>.
- Holeček, Milan, Tomas Muthny, Miroslav Kovarik, et Ludek Sispera. 2006. « Simultaneous Infusion of Glutamine and Branched-Chain Amino Acids (BCAA) to Septic Rats Does Not Have More Favorable Effect on Protein Synthesis in Muscle, Liver, and Small Intestine Than Separate Infusions ». *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 30 (6): 467-73. <https://doi.org/10.1177/0148607106030006467>.
- Holt, S., M. J. Ford, S. Grant, et R. C. Heading. 1981. « Abnormal Gastric Emptying in Primary Anorexia Nervosa ». *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science* 139 (décembre): 550-52. <https://doi.org/10.1192/bjp.139.6.550>.
- Huang, Dandan, Dan Liu, Jianzhong Yin, Tianyi Qian, Susan Shrestha, et Hongyan Ni. 2017. « Glutamate-Glutamine and GABA in Brain of Normal Aged and Patients with Cognitive Impairment ». *European Radiology* 27 (7): 2698-2705. <https://doi.org/10.1007/s00330-016-4669-8>.
- Hutson, W. R., et A. Wald. 1990. « Gastric Emptying in Patients with Bulimia Nervosa and Anorexia Nervosa ». *The American Journal of Gastroenterology* 85 (1): 41-46.
- Ilyin, Sergey E, Dave Gayle, Mark C Flynn, et Carlos R Plata-Salamán. 1998. « Interleukin-1 β System (Ligand, Receptor Type I, Receptor Accessory Protein and Receptor Antagonist), TNF- α , TGF- β 1 and Neuropeptide Y mRNAs in Specific Brain Regions

- During Bacterial LPS-Induced Anorexia ». *Brain Research Bulletin* 45 (5): 507-15. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(97\)00437-1](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(97)00437-1).
- Iwahashi, H., T. Funahashi, N. Kurokawa, K. Sayama, E. Fukuda, K. Okita, A. Imagawa, et al. 2003. « Plasma Adiponectin Levels in Women with Anorexia Nervosa ». *Hormone and Metabolic Research = Hormon- Und Stoffwechselforschung = Hormones Et Metabolisme* 35 (9): 537-40. <https://doi.org/10.1055/s-2003-42655>.
- Jeong, Soo-Yeon, Yoo Na Im, Ji Young Youm, Hern-Ku Lee, et Suhn-Young Im. 2018. « L-Glutamine Attenuates DSS-Induced Colitis via Induction of MAPK Phosphatase-1 ». *Nutrients* 10 (3). <https://doi.org/10.3390/nu10030288>.
- Jésus, Pierre, Wassila Ouelaa, Marie François, Lina Riachy, Charlène Guérin, Moutaz Aziz, Jean-Claude Do Rego, Pierre Déchelotte, Sergueï O. Fetissov, et Moïse Coëffier. 2014. « Alteration of intestinal barrier function during activity-based anorexia in mice ». *Clinical Nutrition* 33 (6): 1046-53. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2013.11.006>.
- Johansen, Jeanette E, Christian Broberger, Catharina Lavebratt, Carolina Johansson, Michael J Kuhar, Tomas Hökfelt, et Martin Schalling. 2000. « Hypothalamic CART and Serum Leptin Levels Are Reduced in the Anorectic (Anx/Anx) Mouse ». *Molecular Brain Research* 84 (1-2): 97-105. [https://doi.org/10.1016/S0169-328X\(00\)00228-X](https://doi.org/10.1016/S0169-328X(00)00228-X).
- Kahl, Kai G, Nils Kruse, Peter Rieckmann, et Martin H Schmidt. 2004. « Cytokine mRNA Expression Patterns in the Disease Course of Female Adolescents with Anorexia Nervosa ». *Psychoneuroendocrinology* 29 (1): 13-20. [https://doi.org/10.1016/S0306-4530\(02\)00131-2](https://doi.org/10.1016/S0306-4530(02)00131-2).
- Kalla, A, P Krishnamoorthy, A Gopalakrishnan, J Garg, N.C. Patel, et V.M. Figueredo. 2017. « Gender and Age Differences in Cardiovascular Complications in Anorexia Nervosa Patients ». *International Journal of Cardiology* 227 (janvier): 55-57. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.11.209>.
- Kalueff, Allan V., et David J. Nutt. 2007. « Role of GABA in Anxiety and Depression ». *Depression and Anxiety* 24 (7): 495-517. <https://doi.org/10.1002/da.20262>.
- Kamal, Neel, Tawfik Chami, Arnold Andersen, Felicity A. Rosell, Marvin M. Schuster, et William E. Whitehead. 1991. « Delayed Gastrointestinal Transit Times in Anorexia Nervosa and Bulimia Nervosa ». *Gastroenterology* 101 (5): 1320-24. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(91\)90083-W](https://doi.org/10.1016/0016-5085(91)90083-W).
- Kanbur, Nuray, Lütfiye Mesci, Orhan Derman, Tuğba Turul, Füsün Cuhadaroglu, Tezer Kutluk, et Ilhan Tezcan. 2008. « Tumor Necrosis Factor Alpha-308 Gene Polymorphism in Patients with Anorexia Nervosa ». *The Turkish Journal of Pediatrics* 50 (3): 219-22.
- Karczewska-Kupczewska, Monika, Agnieszka Adamska, Agnieszka Nikolajuk, Elżbieta Otziomek, Maria Górka, Irina Kowalska, et Marek Strączkowski. 2013. « Circulating Interleukin 6 and Soluble Forms of Its Receptors in Relation to Resting Energy Expenditure in Women with Anorexia Nervosa ». *Clinical Endocrinology* 79 (6): 812-16. <https://doi.org/10.1111/cen.12118>.
- Kennett, G. A., et M. H. Joseph. 1981. « The Functional Importance of Increased Brain Tryptophan in the Serotonergic Response to Restraint Stress ». *Neuropharmacology* 20 (1): 39-43.
- Kern, Andras, Rosie Albarran-Zeckler, Heidi E. Walsh, et Roy G. Smith. 2012. « Apo-Ghrelin Receptor Forms Heteromers with DRD2 in Hypothalamic Neurons and Is Essential for Anorexigenic Effects of DRD2 Agonism ». *Neuron* 73 (2): 317-32. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.10.038>.
- Kheloufi, Marouane, Chantal M. Boulanger, François Durand, et Pierre-Emmanuel Rautou. 2014. « Liver Autophagy in Anorexia Nervosa and Acute Liver Injury ». *BioMed Research International* 2014: 701064. <https://doi.org/10.1155/2014/701064>.

- Kiezebrink, Kirsty, Evleen T. Mann, Sarah R. Bujac, Michael J. Stubbins, David A. Campbell, et John E. Blundell. 2010. « Evidence of Complex Involvement of Serotonergic Genes with Restrictive and Binge Purge Subtypes of Anorexia Nervosa ». *The World Journal of Biological Psychiatry* 11 (6): 824-33. <https://doi.org/10.3109/15622975.2010.484550>.
- Kim, Min-Hyun, et Hyeyoung Kim. 2017. « The Roles of Glutamine in the Intestine and Its Implication in Intestinal Diseases ». *International Journal of Molecular Sciences* 18 (5). <https://doi.org/10.3390/ijms18051051>.
- Kleiman, Susan C., Hunna J. Watson, Emily C. Bulik-Sullivan, Eun Young Huh, Lisa M. Tarantino, Cynthia M. Bulik, et Ian M. Carroll. 2015. « The Intestinal Microbiota in Acute Anorexia Nervosa and During Renourishment: Relationship to Depression, Anxiety, and Eating Disorder Psychopathology ». *Psychosomatic Medicine* 77 (9): 969-81. <https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000247>.
- Kontis, Dimitrios, et Eirini Theochari. 2012. « Dopamine in Anorexia Nervosa: A Systematic Review ». *Behavioural Pharmacology* 23 (5 and 6): 496-515. <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e328357e115>.
- Kraft, Michael D., Imad F. Btaiche, et Gordon S. Sacks. 2005. « Review of the Refeeding Syndrome ». *Nutrition in Clinical Practice* 20 (6): 625-33. <https://doi.org/10.1177/0115426505020006625>.
- Krantz, Mori J., Allison L. Sabel, Utpal Sagar, Carlin S. Long, Jean T. Barbey, Kenneth V. White, Jennifer L. Gaudiani, et Philip S. Mehler. 2012. « Factors Influencing QT Prolongation in Patients Hospitalized with Severe Anorexia Nervosa ». *General Hospital Psychiatry* 34 (2): 173-77. <https://doi.org/10.1016/j.genhosppsych.2011.08.003>.
- Krogulska, Aneta, Dominika Nowicka, Zbigniew Nowicki, Monika Parzęcka, Agnieszka Sakson-Słomińska, et Renata Kuczyńska. 2019. « A Loss of Consciousness in a Teenage Girl with Anorexia Nervosa, Due to Polydipsia: Case Report and a Minireview ». *Eating and Weight Disorders: EWD*, février. <https://doi.org/10.1007/s40519-018-00636-x>.
- Kulikov, Alexander V., et Nina K. Popova. 2015. « Tryptophan Hydroxylase 2 in Seasonal Affective Disorder: Underestimated Perspectives? » *Reviews in the Neurosciences* 26 (6): 679-90. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2015-0013>.
- Lai, Chia-Wei, He-Jiun Jiang, et Pi-Jung Hsiao. 2017. « Manifestation of Hyperaldosteronism Related Hypokalemia in a Case of Anorexia Nervosa ». *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences* 33 (10): 533-34. <https://doi.org/10.1016/j.kjms.2017.06.004>.
- Lalia, Antigoni Z., Surendra Dasari, Matthew M. Robinson, Hinnah Abid, Dawn M. Morse, Katherine A. Klaus, et Ian R. Lanza. 2017. « Influence of omega-3 fatty acids on skeletal muscle protein metabolism and mitochondrial bioenergetics in older adults ». *Aging (Albany NY)* 9 (4): 1096-1115. <https://doi.org/10.18632/aging.101210>.
- Lao-Kaim, Nick P., Leon Fonville, Vincent P. Giampietro, Steven C. R. Williams, Andrew Simmons, et Kate Tchanturia. 2015. « Aberrant Function of Learning and Cognitive Control Networks Underlie Inefficient Cognitive Flexibility in Anorexia Nervosa: A Cross-Sectional fMRI Study ». *PLoS ONE* 10 (5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124027>.
- Lawson, Elizabeth A., Pouneh K. Fazeli, Genevieve Calder, Hannah Putnam, Madhusmita Misra, Erinne Meenaghan, Karen K. Miller, et Anne Klibanski. 2012. « Plasma Sodium Level Is Associated with Bone Loss Severity in Women with Anorexia Nervosa: A Cross-Sectional Study ». *The Journal of Clinical Psychiatry* 73 (11): e1379-1383. <https://doi.org/10.4088/JCP.12m07919>.

- Le Bacquer, Olivier, Hassan Nazih, Hervé Blotti re, Dominique Meynial-Denis, Christian Labois e, et Dominique Darmaun. 2001. « Effects of Glutamine Deprivation on Protein Synthesis in a Model of Human Enterocytes in Culture ». *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 281 (6): G1340-47. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.2001.281.6.G1340>.
- Lee, Michelle D., Elizabeth M. Somerville, Guy A. Kennett, Colin T. Dourish, et Peter G. Clifton. 2004. « Reduced Hypophagic Effects of D-Fenfluramine and the 5-HT_{2C} Receptor Agonist MCPP in 5-HT_{1B} Receptor Knockout Mice ». *Psychopharmacology* 176 (1): 39-49. <https://doi.org/10.1007/s00213-004-1864-0>.
- Leehr, Elisabeth J., Nils Opel, Janina Werner, Ronny Redlich, Jonathan Repple, Dominik Grotegerd, Katharina Dohm, et al. 2019. « Evidence for a Sex-Specific Contribution of Polygenic Load for Anorexia Nervosa to Body Weight and Prefrontal Brain Structure in Nonclinical Individuals ». *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, juillet. <https://doi.org/10.1038/s41386-019-0461-1>.
- Leppanen, Jenni, Valentina Cardi, Kah Wee Ng, Yannis Paloyelis, Daniel Stein, Kate Tchanturia, et Janet Treasure. 2017. « The Effects of Intranasal Oxytocin on Smoothie Intake, Cortisol and Attentional Bias in Anorexia Nervosa ». *Psychoneuroendocrinology* 79 (mai): 167-74. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2017.01.017>.
- L'Huillier, Clément, Marine Jarbeau, Najate Achamrah, Liliana Belmonte, Asma Amamou, Séverine Nobis, Alexis Goichon, et al. 2019. « Glutamine, but Not Branched-Chain Amino Acids, Restores Intestinal Barrier Function during Activity-Based Anorexia ». *Nutrients* 11 (6): 1348. <https://doi.org/10.3390/nu11061348>.
- Lian, Gaojian, Jn Rashida Gnanaprakasam, Tingting Wang, Ruohan Wu, Xuyong Chen, Lingling Liu, Yuqing Shen, et al. 2018. « Glutathione de Novo Synthesis but Not Recycling Process Coordinates with Glutamine Catabolism to Control Redox Homeostasis and Directs Murine T Cell Differentiation ». *ELife* 7. <https://doi.org/10.7554/eLife.36158>.
- Liew, V. P., K. W. Frisken, S. W. Touyz, P. J. V. Beumont, et H. Williams. 1991. « Clinical and Microbiological Investigations of Anorexia Nervosa ». *Australian Dental Journal* 36 (6): 435-41. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.1991.tb04722.x>.
- Lima, Denise Sandrelly Cavalcanti de, Elian da Silva Francisco, C ssia Borges Lima, et Rubem Carlos Araújo Guedes. 2017. « Neonatal L-Glutamine Modulates Anxiety-like Behavior, Cortical Spreading Depression, and Microglial Immunoreactivity: Analysis in Developing Rats Suckled on Normal Size- and Large Size Litters ». *Amino Acids* 49 (2): 337-46. <https://doi.org/10.1007/s00726-016-2365-2>.
- Limone, P., A. Biglino, F. Bottino, B. Forno, P. Calvelli, S. Fassino, C. Berardi, et al. 2000. « Evidence for a Positive Correlation between Serum Cortisol Levels and IL-1 β Production by Peripheral Mononuclear Cells in Anorexia Nervosa ». *Journal of Endocrinological Investigation* 23 (7): 422-27.
- Lindfors, Charlotte, Abram Katz, Lars Selander, Jeanette E. Johansen, Giulia Marconi, Martin Schalling, Tomas Hökfelt, Per-Olof Berggren, Sergei Zaitsev, et Ida A. K. Nilsson. 2015. « Glucose intolerance and pancreatic β -cell dysfunction in the anorectic anx/anx mouse ». *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 309 (4): E418-27. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00081.2015>.
- Lo, David Y., Julia L. Yen, et Michael P. Jones. 2004. « Massive Gastric Dilation and Necrosis in Anorexia Nervosa: Cause or Effect? » *Nutrition in Clinical Practice* 19 (4): 409-12. <https://doi.org/10.1177/0115426504019004409>.

- Loh, Kim, Lei Zhang, Amanda Brandon, Qiaoping Wang, Denovan Begg, Yue Qi, Melissa Fu, et al. 2017. « Insulin Controls Food Intake and Energy Balance via NPY Neurons ». *Molecular Metabolism* 6 (6): 574-84. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.03.013>.
- Lopez-Siles, Mireia, Núria Enrich-Capó, Xavier Aldeguer, Miriam Sabat-Mir, Sylvia H. Duncan, L. Jesús Garcia-Gil, et Margarita Martinez-Medina. 2018. « Alterations in the Abundance and Co-Occurrence of Akkermansia Muciniphila and Faecalibacterium Prausnitzii in the Colonic Mucosa of Inflammatory Bowel Disease Subjects ». *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 8: 281. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00281>.
- Lowinger, Kitty, Rosalyn A Griffiths, Pierre J V Beumont, Helen Scicluna, et Stephen W Touyz. s. d. « Fluid Restriction in Anorexia Nervosa: A Neglected Symptom or New Phenomenon? », 5.
- Lucas, José J., Ai Yamamoto, Kimberly Searce-Levie, Frédéric Saudou, et René Hen. 1998. « Absence of Fenfluramine-Induced Anorexia and Reduced c-Fos Induction in the Hypothalamus and Central Amygdaloid Complex of Serotonin 1B Receptor Knock-Out Mice ». *The Journal of Neuroscience* 18 (14): 5537-44. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-14-05537.1998>.
- Lv, Dinghong, Xia Xiong, Huansheng Yang, Meiwei Wang, Yijie He, Yanhong Liu, et Yulong Yin. 2018. « Effect of Dietary Soy Oil, Glucose, and Glutamine on Growth Performance, Amino Acid Profile, Blood Profile, Immunity, and Antioxidant Capacity in Weaned Piglets ». *Science China. Life Sciences* 61 (10): 1233-42. <https://doi.org/10.1007/s11427-018-9301-y>.
- MacDonald, Leah, Morgan Radler, Antonio G. Paolini, et Stephen Kent. 2011. « Calorie Restriction Attenuates LPS-Induced Sickness Behavior and Shifts Hypothalamic Signaling Pathways to an Anti-Inflammatory Bias ». *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 301 (1): R172-184. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00057.2011>.
- Mack, Isabelle, Ulrich Cuntz, Claudia Grämer, Sabrina Niedermaier, Charlotte Pohl, Andreas Schwiertz, Kurt Zimmermann, Stephan Zipfel, Paul Enck, et John Penders. 2016. « Weight Gain in Anorexia Nervosa Does Not Ameliorate the Faecal Microbiota, Branched Chain Fatty Acid Profiles, and Gastrointestinal Complaints ». *Scientific Reports* 6: 26752. <https://doi.org/10.1038/srep26752>.
- Maïmoun, Laurent, Sébastien Guillaume, Patrick Lefebvre, Pascal Philibert, Helena Bertet, Marie-Christine Picot, Laura Gaspari, et al. 2014. « Role of Sclerostin and Dickkopf-1 in the Dramatic Alteration in Bone Mass Acquisition in Adolescents and Young Women With Recent Anorexia Nervosa ». *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 99 (4): E582-90. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-2565>.
- Makino, Maria, Koji Tsuboi, et Lorraine Dennerstein. 2004. « Prevalence of Eating Disorders: A Comparison of Western and Non-Western Countries ». *Medscape General Medicine* 6 (3). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1435625/>.
- Maltais, Lois J., Priscilla W. Lane, et Wesley G. Beamer. 1984. « Anorexia, a Recessive Mutation Causing Starvation in Preweanling Mice ». *Journal of Heredity* 75 (6): 468-72. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a109987>.
- Mao, Xiangbing, Haiyan Hu, Jun Tang, Daiwen Chen, et Bing Yu. 2016. « Leucine Increases Mucin 2 and Occludin Production in LS174T Cells Partially via PI3K-Akt-MTOR Pathway ». *Animal Nutrition* 2 (3): 218-24. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2016.05.004>.
- Martin Monzon, Beatriz, Luke A. Henderson, Sloane Madden, Vaughan G. Macefield, Stephen Touyz, Michael R. Kohn, Simon Clarke, Nasim Foroughi, et Phillipa Hay. 2017. « Grey Matter Volume in Adolescents with Anorexia Nervosa and Associated Eating Disorder

- Symptoms ». *European Journal of Neuroscience* 46 (7): 2297-2307. <https://doi.org/10.1111/ejn.13659>.
- Martínez-Olmos, Miguel Angel, Roberto Peinó, Alma Prieto-Tenreiro, Mary Lage, Laura Nieto, Teresa Lord, Esther Molina-Pérez, Juan Enrique Domínguez-Muñoz, et Felipe F. Casanueva. 2013. « Intestinal Absorption and Pancreatic Function Are Preserved in Anorexia Nervosa Patients in Both a Severely Malnourished State and After Recovery ». *European Eating Disorders Review* 21 (3): 247-51. <https://doi.org/10.1002/erv.2223>.
- Matsumoto, Junko, Yoshiyuki Hirano, Kenji Hashimoto, Tamaki Ishima, Nobuhisa Kanahara, Tomihisa Niitsu, Akihiro Shiina, et al. 2017. « Altered Serum Level of Matrix Metalloproteinase-9 and Its Association with Decision-Making in Eating Disorders ». *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 71 (2): 124-34. <https://doi.org/10.1111/pcn.12490>.
- McCarthy, Donna O. 2000. « Tumor Necrosis Factor Alpha and Interleukin-6 Have Differential Effects on Food Intake and Gastric Emptying in Fasted Rats ». *Research in Nursing & Health* 23 (3): 222-28. [https://doi.org/10.1002/1098-240X\(200006\)23:3<222::AID-NUR6>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/1098-240X(200006)23:3<222::AID-NUR6>3.0.CO;2-3).
- McCormick, Laurie M., Pamela K. Keel, Michael C. Brumm, Wayne Bowers, Victor Swayze, Arnold Andersen, et Nancy Andreasen. 2008. « Implications of Starvation-Induced Change in Right Dorsal Anterior Cingulate Volume in Anorexia Nervosa ». *The International journal of eating disorders* 41 (7): 602-10. <https://doi.org/10.1002/eat.20549>.
- Méquinion, Mathieu, Christophe Chauveau, et Odile Viltart. 2015. « The Use of Animal Models to Decipher Physiological and Neurobiological Alterations of Anorexia Nervosa Patients ». *Frontiers in Endocrinology* 6 (mai). <https://doi.org/10.3389/fendo.2015.00068>.
- Mercader, Josep M., Juan R. González, Juan José Lozano, Mads Bak, Sakari Kauppinen, Lauro Sumoy, Mara Dierssen, et al. 2012. « Aberrant Brain MicroRNA Target and MiRISC Gene Expression in the Anx/Anx Anorexia Mouse Model ». *Gene* 497 (2): 181-90. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.01.057>.
- Misra, Madhusmita, Karen K. Miller, David B. Herzog, Kavitha Ramaswamy, Avichal Aggarwal, Cecilia Almazan, Gregory Neubauer, Jeffrey Breu, et Anne Klibanski. 2004. « Growth Hormone and Ghrelin Responses to an Oral Glucose Load in Adolescent Girls with Anorexia Nervosa and Controls ». *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 89 (4): 1605-12. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-031861>.
- Misra, Madhusmita, Karen K. Miller, Patrika Tsai, Katie Gallagher, Alvin Lin, Noel Lee, David B. Herzog, et Anne Klibanski. 2006. « Elevated Peptide YY Levels in Adolescent Girls with Anorexia Nervosa ». *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 91 (3): 1027-33. <https://doi.org/10.1210/jc.2005-1878>.
- Missale, Cristina, S. Russel Nash, Susan W. Robinson, Mohamed Jaber, et Marc G. Caron. 1998. « Dopamine Receptors: From Structure to Function ». *Physiological Reviews* 78 (1): 189-225. <https://doi.org/10.1152/physrev.1998.78.1.189>.
- Mizuno, O., H. Tamai, M. Fujita, N. Kobayashi, G. Komaki, S. Matsubayashi, et T. Nakagawa. 1992. « Aldosterone Responses to Angiotensin II in Anorexia Nervosa ». *Acta Psychiatrica Scandinavica* 86 (6): 450-54. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.1992.tb03296.x>.
- Mocking, R J T, I Harmsen, J Assies, M W J Koeter, H G Ruhé, et A H Schene. 2016. « Meta-analysis and meta-regression of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation for major depressive disorder ». *Translational Psychiatry* 6 (3): e756. <https://doi.org/10.1038/tp.2016.29>.

- Moine, Luciana, Adriana Pérez, Cristina Maldonado, Nori Tolosa de Talamonia, et Díaz de Barboza Gabriela. 2019. « Glutamine Protects Both Transcellular and Paracellular Pathways of Chick Intestinal Calcium Absorption under Oxidant Conditions ». *Comparative Biochemistry and Physiology*, août, 8. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.110553>.
- Monteleone, Alessio Maria, Palmiero Monteleone, Riccardo Dalle Grave, Massimiliano Nigro, Marwan El Ghoch, Simona Calugi, Monica Cimino, et Mario Maj. 2016. « Ghrelin Response to Hedonic Eating in Underweight and Short-Term Weight Restored Patients with Anorexia Nervosa ». *Psychiatry Research* 235 (janvier): 55-60. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2015.12.001>.
- Monteleone, Alessio Maria, Palmiero Monteleone, Ismene Serino, Pasquale Scognamiglio, Monica Di Genio, et Mario Maj. 2015. « Childhood Trauma and Cortisol Awakening Response in Symptomatic Patients with Anorexia Nervosa and Bulimia Nervosa: Childhood Trauma and HPA Axis in Eating Disorders ». *International Journal of Eating Disorders* 48 (6): 615-21. <https://doi.org/10.1002/eat.22375>.
- Monteleone, P, R Carratù, M Cartenì, M Generoso, M Lamberti, L De Magistris, F Brambilla, B Colurcio, M Secondulfo, et M Maj. 2004. « Intestinal Permeability Is Decreased in Anorexia Nervosa ». *Molecular Psychiatry* 9 (1): 76-80. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001374>.
- Morita, Chihiro, Hirokazu Tsuji, Tomokazu Hata, Motoharu Gondo, Shu Takakura, Keisuke Kawai, Kazufumi Yoshihara, et al. 2015. « Gut Dysbiosis in Patients with Anorexia Nervosa ». *PloS One* 10 (12): e0145274. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145274>.
- Mörkl, S., S. Lackner, A. Meinitzer, H. Mangge, M. Lehofer, B. Halwachs, G. Gorkiewicz, et al. 2018. « Gut microbiota, dietary intakes and intestinal permeability reflected by serum zonulin in women ». *European Journal of Nutrition* 57 (8): 2985-97. <https://doi.org/10.1007/s00394-018-1784-0>.
- Mörkl, Sabrina, Sonja Lackner, Wolfram Müller, Gregor Gorkiewicz, Karl Kashofer, Andreas Oberascher, Annamaria Painold, et al. 2017. « Gut Microbiota and Body Composition in Anorexia Nervosa Inpatients in Comparison to Athletes, Overweight, Obese, and Normal Weight Controls ». *The International Journal of Eating Disorders* 50 (12): 1421-31. <https://doi.org/10.1002/eat.22801>.
- Moroni, Flavio. 1999. « Tryptophan Metabolism and Brain Function: Focus on Kynurenine and Other Indole Metabolites ». *European Journal of Pharmacology* 375 (1-3): 87-100. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(99\)00196-X](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(99)00196-X).
- Morris, Reshmi, Aparna Prasad, Joseph Asaro, Marla Guzman, Leslie Sanders, Amanda Hauck, Gautam K. Singh, et Philip T. Levy. 2017. « Markers of Cardiovascular Dysfunction in Adolescents With Anorexia Nervosa ». *Global Pediatric Health* 4: 2333794X17727423. <https://doi.org/10.1177/2333794X17727423>.
- Moskowitz, Lindsay, et Eric Weiselberg. 2017. « Anorexia Nervosa/Atypical Anorexia Nervosa ». *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care* 47 (4): 70-84. <https://doi.org/10.1016/j.cppeds.2017.02.003>.
- Moyano, Dolores, Cristina Sierra, Nuria Brandi, Rafael Artuch, Aurea Mira, et Santiago Garcia-Tornel. s. d. « Antioxidant Status in Anorexia Nervosa », 5.
- Mühlau, Mark, Christian Gaser, Rüdiger Ilg, Bastian Conrad, Carl Leibl, Marian H. Cebulla, Herbert Backmund, et al. 2007. « Gray Matter Decrease of the Anterior Cingulate Cortex in Anorexia Nervosa ». *American Journal of Psychiatry* 164 (12): 1850-57. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2007.06111861>.
- Mustafa, A., A. Ward, J. Treasure, et M. Peakman. 1997. « T Lymphocyte Subpopulations in Anorexia Nervosa and Refeeding ». *Clinical Immunology and Immunopathology* 82 (3): 282-89. <https://doi.org/10.1006/clin.1996.4310>.

- Nagata, Jason M., K.T. Park, Kelley Colditz, et Neville H. Golden. 2015. « Associations of Elevated Liver Enzymes among Hospitalized Adolescents with Anorexia Nervosa ». *The Journal of Pediatrics* 166 (2): 439-443.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2014.10.048>.
- Nakagawa, Nobuaki, Masahiko Kinosaki, Kyoji Yamaguchi, Nobuyuki Shima, Hisataka Yasuda, Kazuki Yano, Tomonori Morinaga, et Kanji Higashio. 1998. « RANK Is the Essential Signaling Receptor for Osteoclast Differentiation Factor in Osteoclastogenesis ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 253 (2): 395-400. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1998.9788>.
- Nakahara, Toshihiro, Shinya Kojima, Muneki Tanaka, Daisuke Yasuhara, Toshiro Harada, Ken-ichiro Sagiya, Tetsuro Muranaga, et al. 2007. « Incomplete Restoration of the Secretion of Ghrelin and PYY Compared to Insulin after Food Ingestion Following Weight Gain in Anorexia Nervosa ». *Journal of Psychiatric Research* 41 (10): 814-20. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2006.07.021>.
- Nakazato, Michiko, Kenji Hashimoto, Ulrike Schmidt, Kate Tchanturia, Iain C Campbell, David A Collier, Masaomi Iyo, et Janet Treasure. 2010. « Serum glutamine, set-shifting ability and anorexia nervosa ». *Annals of General Psychiatry* 9 (juin): 29. <https://doi.org/10.1186/1744-859X-9-29>.
- Nissen, Steven L, et Rick L Sharp. 2003. « Effect of Dietary Supplements on Lean Mass and Strength Gains with Resistance Exercise: A Meta-Analysis ». *J Appl Physiol* 94 (2): 9.
- Nobis, A. Morin, N. Achamrah, L. Belmonte, R. Legrand, P. Chan, J.-L. do Rego, et al. 2018. « Delayed Gastric Emptying and Altered Antrum Protein Metabolism during Activity-Based Anorexia ». *Neurogastroenterology & Motility* 30 (7): e13305. <https://doi.org/10.1111/nmo.13305>.
- Nobis, Séverine, Najate Achamrah, Alexis Goichon, Clément L'Huillier, Aline Morin, Charlene Guérin, Philippe Chan, et al. 2018. « Colonic Mucosal Proteome Signature Reveals Reduced Energy Metabolism and Protein Synthesis but Activated Autophagy during Anorexia-Induced Malnutrition in Mice ». *PROTEOMICS* 18 (15): 1700395. <https://doi.org/10.1002/pmic.201700395>.
- Nobis, Séverine, Alexis Goichon, Najate Achamrah, Charlene Guérin, Saida Azhar, Philippe Chan, Aline Morin, et al. 2018. « Alterations of Proteome, Mitochondrial Dynamic and Autophagy in the Hypothalamus during Activity-Based Anorexia ». *Scientific Reports* 8 (1): 7233. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25548-9>.
- Noda, K., et K. Chikamori. 1976. « Effect of Ammonia via Prepyriform Cortex on Regulation of Food Intake in the Rat ». *The American Journal of Physiology* 231 (4): 1263-66. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1976.231.4.1263>.
- Noth, Rainer, Robert Häsler, Eckhard Stüber, Mark Ellrichmann, Heiner Schäfer, Claudia Geismann, Jochen Hampe, et al. 2013. « Oral Glutamine Supplementation Improves Intestinal Permeability Dysfunction in a Murine Acute Graft-vs.-Host Disease Model ». *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 304 (7): G646-654. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00246.2012>.
- Nova, Esther, Sonia Gómez-Martínez, Gonzalo Morandé, et Ascensión Marcos. 2002. « Cytokine Production by Blood Mononuclear Cells from In-Patients with Anorexia Nervosa ». *British Journal of Nutrition* 88 (2): 183-88. <https://doi.org/10.1079/BJN2002608>.
- Obeid, Omar A., Sabrina T. Bittar, Nahla Hwalla, et Peter W. Emery. 2005. « Effect of Diet Supplementation with Glutamine, Dihydroxyacetone, and Leucine on Food Intake, Weight Gain, and Postprandial Glycogen Metabolism of Rats ». *Nutrition* 21 (2): 224-29. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2004.03.026>.

- Obeid, Omar A., Zeina M. Jamal, Nahla Hwalla, et Peter W. Emery. 2006. « The Effect of Glutamine and Dihydroxyacetone Supplementation on Food Intake, Weight Gain, and Postprandial Glycogen Synthesis in Female Zucker Rats ». *Nutrition* 22 (7-8): 794-801. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2006.04.004>.
- Omodei, Daniela, Valentina Pucino, Giuseppe Labruna, Claudio Procaccini, Mario Galgani, Francesco Perna, Daniele Pirozzi, et al. 2015. « Immune-Metabolic Profiling of Anorexic Patients Reveals an Anti-Oxidant and Anti-Inflammatory Phenotype ». *Metabolism* 64 (3): 396-405. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.10.025>.
- Orphanidou, C I, L J McCargar, C L Birmingham, et A S Belzberg. 1997. « Changes in Body Composition and Fat Distribution after Short-Term Weight Gain in Patients with Anorexia Nervosa ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 65 (4): 1034-41. <https://doi.org/10.1093/ajcn/65.4.1034>.
- Palova, S, J Charvat, J Masopust, E Klapkova, et M Kvapil. 2007. « Changes in the Plasma Amino Acid Profile in Anorexia Nervosa ». *Journal of International Medical Research* 35 (3): 389-94. <https://doi.org/10.1177/147323000703500314>.
- Panico, Rene, Eduardo Piemonte, Jerónimo Lazos, Gerardo Gilligan, Anibal Zampini, et Héctor Lanfranchi. 2018. « Oral Mucosal Lesions in Anorexia Nervosa, Bulimia Nervosa and EDNOS ». *Journal of Psychiatric Research* 96 (janvier): 178-82. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2017.09.022>.
- Papageorgiou, Ismini E., Nektarios A. Valous, Bernd Lahrmann, Hana Janova, Zin-Juan Kluft, Arend Koch, Ulf C. Schneider, et al. 2018. « Astrocytic Glutamine Synthetase Is Expressed in the Neuronal Somatic Layers and Down-Regulated Proportionally to Neuronal Loss in the Human Epileptic Hippocampus ». *Glia* 66 (5): 920-33. <https://doi.org/10.1002/glia.23292>.
- Papathanassiou, Adonia E., Jeong-Hun Ko, Martha Imprialou, Marta Bagnati, Prashant K. Srivastava, Hong A. Vu, Danilo Cucchi, et al. 2017. « BCAT1 Controls Metabolic Reprogramming in Activated Human Macrophages and Is Associated with Inflammatory Diseases ». *Nature Communications* 8: 16040. <https://doi.org/10.1038/ncomms16040>.
- Paszynska, E., M. Dmitrzak-Weglarz, M. Tyszkiewicz-Nwafor, et A. Slopian. 2016. « Salivary Alpha-Amylase, Secretory IgA and Free Cortisol as Neurobiological Components of the Stress Response in the Acute Phase of Anorexia Nervosa ». *The World Journal of Biological Psychiatry* 17 (4): 266-73. <https://doi.org/10.3109/15622975.2016.1163419>.
- Paszynska, Elzbieta, Nadine Schlueter, Agnieszka Slopian, Monika Dmitrzak-Weglarz, Marta Dyszkiewicz-Konwinska, et Christian Hannig. 2015. « Salivary Enzyme Activity in Anorexic Persons—a Controlled Clinical Trial ». *Clinical Oral Investigations* 19 (8): 1981-89. <https://doi.org/10.1007/s00784-015-1442-3>.
- Paszynska, Elzbieta, Agnieszka Slopian, Monika Dmitrzak-Weglarz, et Christian Hannig. 2017. « Enzyme Activities in Parotid Saliva of Patients with the Restrictive Type of Anorexia Nervosa ». *Archives of Oral Biology* 76 (avril): 7-13. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.12.012>.
- Patel, Hetal J., et Bhoomika M. Patel. 2017. « TNF- α and Cancer Cachexia: Molecular Insights and Clinical Implications ». *Life Sciences* 170 (février): 56-63. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.11.033>.
- Peng, Sufang, Shunying Yu, Qian Wang, Qing Kang, Yanxia Zhang, Ran Zhang, Wenhui Jiang, et al. 2016. « Dopamine Receptor D2 and Catechol-O-Methyltransferase Gene Polymorphisms Associated with Anorexia Nervosa in Chinese Han Population ». *Neuroscience Letters* 616 (mars): 147-51. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.01.036>.
- Perry, Richard A., Lemuel A. Brown, David E. Lee, Jacob L. Brown, Jamie I. Baum, Nicholas P. Greene, et Tyrone A. Washington. 2016. « Differential Effects of Leucine

- Supplementation in Young and Aged Mice at the Onset of Skeletal Muscle Regeneration ». *Mechanisms of Ageing and Development* 157 (juillet): 7-16. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2016.05.007>.
- Pines, A., N. Kaplinsky, D. Olchovsky, O. Frankl, D. Goldfarb, et A. Iaina. 1985. « Anorexia Nervosa, Laxative Abuse, Hypopotassemia and Distal Renal Tubular Acidosis ». *Israel Journal of Medical Sciences* 21 (1): 50-52.
- Pisetsky, D. S., S. E. Trace, K. A. Brownley, R. M. Hamer, N. L. Zucker, P. Roux-Lombard, J.-M. Dayer, et C. M. Bulik. 2014. « The Expression of Cytokines and Chemokines in the Blood of Patients with Severe Weight Loss from Anorexia Nervosa: An Exploratory Study ». *Cytokine* 69 (1): 110-15. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2014.05.018>.
- Platt, Kristen M., Richard J. Charnigo, Howard G. Shertzer, et Kevin J. Pearson. 2016. « Branched-Chain Amino Acid Supplementation in Combination with Voluntary Running Improves Body Composition in Female C57BL/6 Mice ». *Journal of dietary supplements* 13 (5): 473-86. <https://doi.org/10.3109/19390211.2015.1112866>.
- Plovier, Hubert, Amandine Everard, Céline Druart, Clara Depommier, Matthias Van Hul, Lucie Geurts, Julien Chilloux, et al. 2017. « A Purified Membrane Protein from Akkermansia Muciniphila or the Pasteurized Bacterium Improves Metabolism in Obese and Diabetic Mice ». *Nature Medicine* 23 (1): 107-13. <https://doi.org/10.1038/nm.4236>.
- Qu, Na, Yanlin He, Chunmei Wang, Pingwen Xu, Yongjie Yang, Xing Cai, Hesong Liu, et al. 2019. « A POMC-Originated Circuit Regulates Stress-Induced Hypophagia, Depression, and Anhedonia ». *Molecular Psychiatry*, septembre. <https://doi.org/10.1038/s41380-019-0506-1>.
- Rautou, Pierre-Emmanuel, Dominique Cazals-Hatem, Richard Moreau, Claire Francoz, Gérard Feldmann, Didier Lebrec, Éric Ogier-Denis, Pierre Bedossa, Dominique Valla, et François Durand. 2008. « Acute Liver Cell Damage in Patients With Anorexia Nervosa: A Possible Role of Starvation-Induced Hepatocyte Autophagy ». *Gastroenterology* 135 (3): 840-848.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.05.055>.
- Raymond, Nancy C, Maurice Dysken, Kris Bettin, Elke D Eckert, Scott J Crow, Kristy Markus, et Claire Pomeroy. 1999. « Cytokine Production in Patients with Anorexia Nervosa, Bulimia Nervosa, and Obesity ». *Cytokines in Eating Disorders*, octobre, 10.
- Reunanen, Justus, Veera Kainulainen, Laura Huuskonen, Noora Ottman, Clara Belzer, Heikki Huhtinen, Willem M. de Vos, et Reetta Satokari. 2015. « Akkermansia Muciniphila Adheres to Enterocytes and Strengthens the Integrity of the Epithelial Cell Layer ». *Applied and Environmental Microbiology* 81 (11): 3655-62. <https://doi.org/10.1128/AEM.04050-14>.
- Rigamonti, Antonello E., Silvano G. Cella, Sara M. Bonomo, Giuseppe Mancia, Guido Grassi, Mario Perotti, Fiorenza Agosti, Alessandro Sartorio, Eugenio E. Müller, et Angela I. Pincelli. 2011. « Effect of Somatostatin Infusion on Peptide YY Secretion: Studies in the Acute and Recovery Phase of Anorexia Nervosa and in Obesity ». *European Journal of Endocrinology* 165 (3): 421-27. <https://doi.org/10.1530/EJE-11-0312>.
- Rigaud, Daniel, Bruno Verges, Nicole Colas-Linhart, Anne Petiet, Myriam Moukkaddem, Virginie Van Wymelbeke, et Laurent Brondel. 2007. « Hormonal and Psychological Factors Linked to the Increased Thermic Effect of Food in Malnourished Fasting Anorexia Nervosa ». *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 92 (5): 1623-29. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-1319>.
- Rizzo, Saara M., Joy W. Douglas, et Jeannine C. Lawrence. 2019. « Enteral Nutrition via Nasogastric Tube for Refeeding Patients With Anorexia Nervosa: A Systematic Review ». *Nutrition in Clinical Practice* 34 (3): 359-70. <https://doi.org/10.1002/ncp.10187>.

- Robinson, P. H., M. Clarke, et J. Barrett. 1988. « Determinants of Delayed Gastric Emptying in Anorexia Nervosa and Bulimia Nervosa ». *Gut* 29 (4): 458-64. <https://doi.org/10.1136/gut.29.4.458>.
- Rosen, Elissa, Allison L. Sabel, John T. Brinton, Brittany Catanach, Jennifer L. Gaudiani, et Philip S. Mehler. 2016. « Liver Dysfunction in Patients with Severe Anorexia Nervosa: Liver Dysfunction in Severe Anorexia Nervosa ». *International Journal of Eating Disorders* 49 (2): 151-58. <https://doi.org/10.1002/eat.22436>.
- Ross, Rachel A., Yael Mandelblat-Cerf, et Anne M.J. Versteegen. 2016. « Interacting Neural Processes of Feeding, Hyperactivity, Stress, Reward, and the Utility of the Activity-Based Anorexia Model of Anorexia Nervosa ». *Harvard Review of Psychiatry* 24 (6): 416-36. <https://doi.org/10.1097/HRP.0000000000000111>.
- Routtenberg, Aryeh, et Abby W. Kuznesof. 1967. « Self-Starvation of Rats Living in Activity Wheels on a Restricted Feeding Schedule. » *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 64 (3): 414-21. <https://doi.org/10.1037/h0025205>.
- Russell, D. M., M. L. Freedman, D. H. Feiglin, K. N. Jeejeebhoy, R. P. Swinson, et P. E. Garfinkel. 1983. « Delayed Gastric Emptying and Improvement with Domperidone in a Patient with Anorexia Nervosa ». *The American Journal of Psychiatry* 140 (9): 1235-36. <https://doi.org/10.1176/ajp.140.9.1235>.
- Russell, Janice, Louise A Baur, Peter J.V Beumont, Suzanne Byrnes, Gaby Gross, Stephen Touyz, Suzanne Abraham, et Stephan Zipfel. 2001. « Altered Energy Metabolism in Anorexia Nervosa ». *Psychoneuroendocrinology* 26 (1): 51-63. [https://doi.org/10.1016/S0306-4530\(00\)00036-6](https://doi.org/10.1016/S0306-4530(00)00036-6).
- Russell, Janice, Sarah Maguire, Glenn E. Hunt, Alice Kesby, Anastasia Suraev, Jordyn Stuart, Jessica Booth, et Iain S. McGregor. 2018. « Intranasal Oxytocin in the Treatment of Anorexia Nervosa: Randomized Controlled Trial during Re-Feeding ». *Psychoneuroendocrinology* 87 (janvier): 83-92. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2017.10.014>.
- Ryle, John A. 1939. « Anorexia Nervosa ». *Proceedings of the Royal Society of Medicine* 32 (7): 735-46.
- Sachs, Katherine V., Ben Harnke, Philip S. Mehler, et Mori J. Krantz. 2016. « Cardiovascular Complications of Anorexia Nervosa: A Systematic Review: CARDIOVASCULAR COMPLICATIONS OF ANOREXIA NERVOSA ». *International Journal of Eating Disorders* 49 (3): 238-48. <https://doi.org/10.1002/eat.22481>.
- Salvalaggio, Paolo R. O., Clementino Zeni Neto, André R. D. Tolazzi, Emerson L. Gasparetto, Júlio C. U. Coelho, et Antonio C. L. Campos. 2002. « Oral Glutamine Does Not Prevent Bacterial Translocation in Rats Subjected to Intestinal Obstruction and Escherichia Coli Challenge but Reduces Systemic Bacteria Spread ». *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)* 18 (4): 334-37.
- Salvo Romero, Eloisa, Carmen Alonso Cotoner, Cristina Pardo Camacho, Maite Casado Bedmar, et Maria Vicario. 2015. « The Intestinal Barrier Function and Its Involvement in Digestive Disease ». *Revista Española de Enfermedades Digestivas* 108. <https://doi.org/10.17235/reed.2015.3846/2015>.
- Sansone, Randy A., et John L. Levitt. 2002. « Self-Harm Behaviors among Those with Eating Disorders: An Overview ». *Eating Disorders* 10 (3): 205-13. <https://doi.org/10.1080/10640260290081786>.
- Sansone, Randy A., et Lori A. Sansone. 2011. « Personality Pathology and Its Influence on Eating Disorders ». *Innovations in Clinical Neuroscience* 8 (3): 14-18.
- Schalla, Martha A., et Andreas Stengel. 2019. « Gastrointestinal Alterations in Anorexia Nervosa - A Systematic Review ». *European Eating Disorders Review*, mai. <https://doi.org/10.1002/erv.2679>.

- Scherma, Maria, Valentina Satta, Roberto Collu, Maria Francesca Boi, Paolo Usai, Walter Fratta, et Paola Fadda. 2017. « Cannabinoid CB1/CB2 receptor agonists attenuate hyperactivity and body weight loss in a rat model of activity-based anorexia ». *British Journal of Pharmacology* 174 (16): 2682-95. <https://doi.org/10.1111/bph.13892>.
- Scheutzel, P., et U. Gerlach. 1991. « [Alpha-amylase isoenzymes in serum and saliva of patients with anorexia and bulimia nervosa] ». *Zeitschrift Fur Gastroenterologie* 29 (7): 339-45.
- Schmelkin, Cindy, Franziska Plessow, Jennifer J. Thomas, Emily K. Gray, Dean A. Marengi, Reitumetse Pulumo, Liseth Silva, et al. 2017. « Low Oxytocin Levels Are Related to Alexithymia in Anorexia Nervosa ». *International Journal of Eating Disorders* 50 (11): 1332-38. <https://doi.org/10.1002/eat.22784>.
- Schnuck, Jamie K., Michele A. Johnson, Lacey M. Gould, Nicholas P. Gannon, et Roger A. Vaughan. 2016. « Acute β -Hydroxy- β -Methyl Butyrate Suppresses Regulators of Mitochondrial Biogenesis and Lipid Oxidation While Increasing Lipid Content in Myotubes ». *Lipids* 51 (10): 1127-36. <https://doi.org/10.1007/s11745-016-4193-2>.
- Schnuck, Jamie K., Kyle L. Sunderland, Nicholas P. Gannon, Matthew R. Kuennen, et Roger A. Vaughan. 2016. « Leucine stimulates PPAR β/δ -dependent mitochondrial biogenesis and oxidative metabolism with enhanced GLUT4 content and glucose uptake in myotubes ». *Biochimie* 128-129 (septembre): 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.06.009>.
- Schorr, Melanie, et Karen K. Miller. 2017. « The Endocrine Manifestations of Anorexia Nervosa: Mechanisms and Management ». *Nature Reviews Endocrinology* 13 (3): 174-86. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.175>.
- Schorr, Melanie, Jennifer J. Thomas, Kamryn T. Eddy, Laura E. Dichtel, Elizabeth A. Lawson, Erinne Meenaghan, Margaret Lederfine Paskal, et al. 2017. « Bone density, body composition, and psychopathology of anorexia nervosa spectrum disorders in DSM-IV vs DSM-5 ». *The International journal of eating disorders* 50 (4): 343-51. <https://doi.org/10.1002/eat.22603>.
- Schwimmer, Jeffrey B., Looi Ee, Shuqin Zheng, et Patrick Tso. 2002. « Glutamine Promotes Triglyceride Absorption in a Dose-Dependent Manner ». *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 282 (2): G317-23. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.2002.282.2.G317>.
- Sekar, R., K. Singh, A. W. R. Arokiaraj, et B. K. C. Chow. 2016. « Chapter Seven - Pharmacological Actions of Glucagon-Like Peptide-1, Gastric Inhibitory Polypeptide, and Glucagon ». In *International Review of Cell and Molecular Biology*, édité par Kwang W. Jeon et Lorenzo Galluzzi, 326:279-341. International Review of Cell and Molecular Biology. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2016.05.002>.
- Shariatpanahi, Zahra Vahdat, Ghazaleh Eslamian, Seyed Hossein Ardehali, et Ahmad-Reza Baghestani. 2019. « Effects of Early Enteral Glutamine Supplementation on Intestinal Permeability in Critically Ill Patients ». *Indian Journal of Critical Care Medicine : Peer-reviewed, Official Publication of Indian Society of Critical Care Medicine* 23 (8): 356-62. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10071-23218>.
- Sharkey, Keith A., et John W. Wiley. 2016. « The Role of the Endocannabinoid System in the Brain-Gut Axis ». *Gastroenterology* 151 (2): 252-66. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.04.015>.
- Shigetomi, Kenta, et Junichi Ikenouchi. 2018. « Regulation of the Epithelial Barrier by Post-Translational Modifications of Tight Junction Membrane Proteins ». *The Journal of Biochemistry* 163 (4): 265-72. <https://doi.org/10.1093/jb/mvx077>.
- Shimomura, Yoshiharu, Taro Murakami, Naoya Nakai, Masaru Nagasaki, et Robert A. Harris. 2004. « Exercise Promotes BCAA Catabolism: Effects of BCAA Supplementation on

- Skeletal Muscle during Exercise ». *The Journal of Nutrition* 134 (6): 1583S-1587S. <https://doi.org/10.1093/jn/134.6.1583S>.
- Shireen, Erum, null Qurrat-ul-Ain, Farhat Batool, Z. S. Saify, et Darakhshan J. Haleem. 2002. « Neurochemical Effects of 8-Hydroxy-2-Di-n-Propylamino Tetralin in Rats Treated with Haloperidol ». *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 15 (1): 71-82.
- Sibley, David R. 1999. « New Insights into Dopaminergic Receptor Function Using Antisense and Genetically Altered Animals ». *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 39 (1): 313-41. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.39.1.313>.
- Sileri, P., L. Franceschilli, A. De Lorenzo, B. Mezzani, P. Todisco, F. Giorgi, A. L. Gaspari, et F. Jacoangeli. 2014. « Defecatory Disorders in Anorexia Nervosa: A Clinical Study ». *Techniques in Coloproctology* 18 (5): 439-44. <https://doi.org/10.1007/s10151-013-1068-x>.
- Simonet, W.S, D.L Lacey, C.R Dunstan, M Kelley, M.-S Chang, R Lüthy, H.Q Nguyen, et al. 1997. « Osteoprotegerin: A Novel Secreted Protein Involved in the Regulation of Bone Density ». *Cell* 89 (2): 309-19. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80209-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80209-3).
- Singhal, Vibha, Madhusmita Misra, et Anne Klibanski. 2014. « Endocrinology of Anorexia Nervosa in Young People: Recent Insights ». *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity* 21 (1): 64-70. <https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000026>.
- Södersten, P., C. Bergh, M. Leon, et M. Zandian. 2016. « Dopamine and Anorexia Nervosa ». *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 60 (janvier): 26-30. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.11.003>.
- Son, Hyeonwi, Ji Hyeong Baek, Bok Soon Go, Doo-hyuk Jung, Sneha B. Sontakke, Hye Jin Chung, Dong Hoon Lee, et al. 2018. « Glutamine Has Antidepressive Effects through Increments of Glutamate and Glutamine Levels and Glutamatergic Activity in the Medial Prefrontal Cortex ». *Neuropharmacology* 143 (décembre): 143-52. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.09.040>.
- Speranza, Enza, Iolanda Cioffi, Lidia Santarpia, Concetta Del Piano, Carmela De Caprio, Marianna Naccarato, Maurizio Marra, Emilia De Filippo, Franco Contaldo, et Fabrizio Pasanisi. 2018. « Fecal Short Chain Fatty Acids and Dietary Intake in Italian Women With Restrictive Anorexia Nervosa: A Pilot Study ». *Frontiers in Nutrition* 5: 119. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00119>.
- Stacher, G., H. Bergmann, S. Wiesnagrotzki, A. Kiss, C. Schneider, G. Mittelbach, G. Gaupmann, et J. Hobart. 1987. « Intravenous Cisapride Accelerates Delayed Gastric Emptying and Increases Antral Contraction Amplitude in Patients With Primary Anorexia Nervosa ». *Gastroenterology* 92 (4): 1000-1006. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(87\)90976-0](https://doi.org/10.1016/0016-5085(87)90976-0).
- Stacher, G., A. Kiss, S. Wiesnagrotzki, H. Bergmann, J. Höbart, et C. Schneider. 1986. « Oesophageal and Gastric Motility Disorders in Patients Categorised as Having Primary Anorexia Nervosa ». *Gut* 27 (10): 1120-26. <https://doi.org/10.1136/gut.27.10.1120>.
- Stacher, Georg, Helmar Bergmann, Stefan Wiesnagrotzki, Gerda Steiner-Mittelbach, Alexander Kiss, et Thalia-Anthi Abatzi. 1992. « Primary Anorexia Nervosa: Gastric Emptying and Antral Motor Activity in 53 Patients ». *International Journal of Eating Disorders*. 1 mars 1992. [https://doi.org/10.1002/1098-108X\(199203\)11:2<163::AID-EAT2260110207>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/1098-108X(199203)11:2<163::AID-EAT2260110207>3.0.CO;2-R).
- Staurengi, Antonio H., Rosa Gabriella Masera, Paolo Prolo, Giulietta Griot, Maria Luisa Sartori, Luigi Ravizza, et Alberto Angeli. 1997. « Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Function, Psychopathological Traits, and Natural Killer (NK) Cell Activity in Anorexia Nervosa ». *Psychoneuroendocrinology* 22 (8): 575-90. [https://doi.org/10.1016/S0306-4530\(97\)00070-X](https://doi.org/10.1016/S0306-4530(97)00070-X).

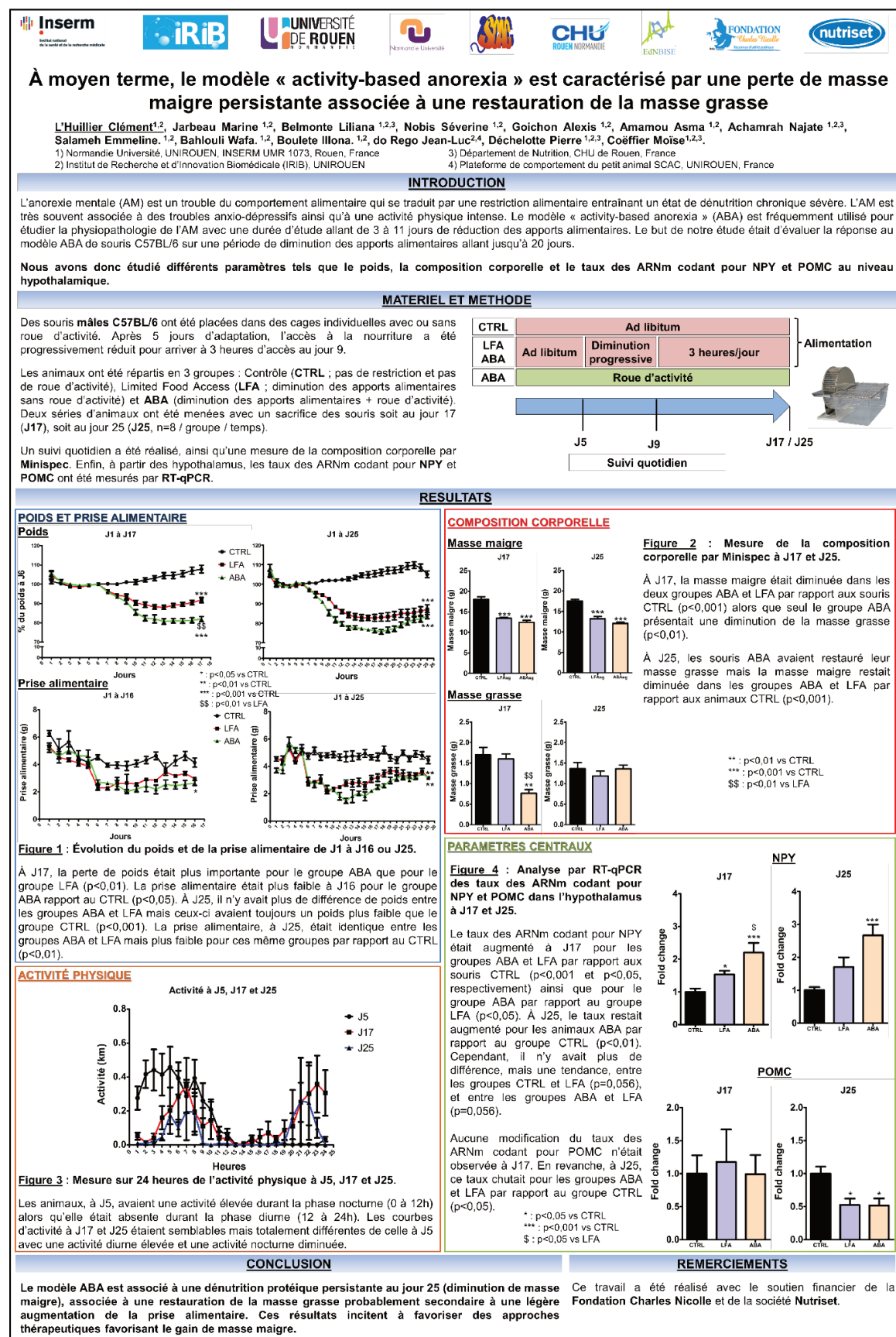
- Stengel, Andreas, et Yvette Taché. 2019. « Central Somatostatin Signaling and Regulation of Food Intake ». *Annals of the New York Academy of Sciences*, juin, n°14178. <https://doi.org/10.1111/nyas.14178>.
- Stheneur, Chantal, Sebastien J. Bergeron, Jean-Yves Frappier, Olivier Jamoulle, Danielle Taddeo, Marc Sznajder, et Anne-Laure Lapeyraque. 2017. « Renal Injury in Pediatric Anorexia Nervosa: A Retrospective Study ». *Eating and Weight Disorders - Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity*, mai. <https://doi.org/10.1007/s40519-017-0401-1>.
- Sun, Xiaocun, et Michael B Zemel. 2007. « Leucine and Calcium Regulate Fat Metabolism and Energy Partitioning in Murine Adipocytes and Muscle Cells ». *Lipids* 42 (4): 297-305. <https://doi.org/10.1007/s11745-007-3029-5>.
- Takechi, Hirokazu, Kazuaki Mawatari, Nagakatsu Harada, Yutaka Nakaya, Megumi Asakura, Mutsumi Aihara, Hiromitsu Takizawa, et al. 2014. « Glutamine Protects the Small Intestinal Mucosa in Anticancer Drug-Induced Rat Enteritis Model ». *The Journal of Medical Investigation: JMI* 61 (1-2): 59-64.
- Takeno, K., H. Tamai, S. Matsubayashi, N. Kobayashi, T. Nakagawa, et N. Yanaihara. 1990. « Human Pancreatic Polypeptide Responsiveness to Insulin-Induced Hypoglycemia in Anorexia Nervosa ». *Hormone Research* 33 (5): 190-93. <https://doi.org/10.1159/000181507>.
- Tanaka, Muneki, Tetsuro Naruo, Daisuke Yasuhara, Yoshiki Tatebe, Nobuatsu Nagai, Tomomi Shiiya, Masamitsu Nakazato, Shigeru Matsukura, et Shin-ichi Nozoe. 2003. « Fasting Plasma Ghrelin Levels in Subtypes of Anorexia Nervosa ». *Psychoneuroendocrinology* 28 (7): 829-35. [https://doi.org/10.1016/S0306-4530\(02\)00066-5](https://doi.org/10.1016/S0306-4530(02)00066-5).
- Tohyama, Shugo, Jun Fujita, Takako Hishiki, Tomomi Matsuura, Fumiyuki Hattori, Rei Ohno, Hideaki Kanazawa, et al. 2016. « Glutamine Oxidation Is Indispensable for Survival of Human Pluripotent Stem Cells ». *Cell Metabolism* 23 (4): 663-74. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.03.001>.
- Tomasik, Przemyslaw J., Krystyna Sztefko, et Jerzy Starzyk. 2004. « Cholecystokinin, Glucose Dependent Insulinotropic Peptide and Glucagon-like Peptide 1 Secretion in Children with Anorexia Nervosa and Simple Obesity ». *Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism: JPEM* 17 (12): 1623-31.
- Tsujimoto, Takae, Kentaro Shimizu, Nobuaki Hata, Tatsuya Takagi, Etsuko Uejima, Hiroshi Ogura, Masafumi Wasa, et Takeshi Shimazu. 2017. « Both High and Low Plasma Glutamine Levels Predict Mortality in Critically Ill Patients ». *Surgery Today* 47 (11): 1331-38. <https://doi.org/10.1007/s00595-017-1511-0>.
- Tyszkiewicz-Nwafor, Marta, Agnieszka Slopian, Monika Dmierzak-Węglarz, et Filip Rybakowski. 2018. « Adiponectin and Resistin in Acutely Ill and Weight-Recovered Adolescent Anorexia Nervosa: Association with Psychiatric Symptoms ». *The World Journal of Biological Psychiatry: The Official Journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*, septembre, 1-9. <https://doi.org/10.1080/15622975.2018.1492735>.
- Venoji, Raghupathy, Gnanaraj Jayakumar Amirtharaj, Archana Kini, Sivakumar Vanaparthi, Aparna Venkatraman, et Anup Ramachandran. 2015. « Enteral Glutamine Differentially Regulates Nrf 2 along the Villus-Crypt Axis of the Intestine to Enhance Glutathione Levels ». *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 30 (12): 1740-47. <https://doi.org/10.1111/jgh.13019>.
- Victor, Victor M., Susana Rovira-Llopis, Vanessa Saiz-Alarcon, Maria C. Sangüesa, Luis Rojo-Bofill, Celia Bañuls, Rosa Falcón, et al. 2014. « Altered Mitochondrial Function and Oxidative Stress in Leukocytes of Anorexia Nervosa Patients ». *PloS One* 9 (9): e106463. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106463>.

- Víctor, Víctor M., Susana Rovira-Llopis, Vanessa Saiz-Alarcón, Maria C. Sangüesa, Luis Rojo-Bofill, Celia Bañuls, Carmen de Pablo, et al. 2015. « Involvement of Leucocyte/Endothelial Cell Interactions in Anorexia Nervosa ». *European Journal of Clinical Investigation* 45 (7): 670-78. <https://doi.org/10.1111/eci.12454>.
- Volpe, Umberto, Alfonso Tortorella, Mirko Manchia, Alessio M. Monteleone, Umberto Albert, et Palmiero Monteleone. 2016. « Eating Disorders: What Age at Onset? » *Psychiatry Research* 238 (avril): 225-27. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2016.02.048>.
- Wable, Gauri S., Jung-Yun Min, Yi-Wen Chen, et Chiye Aoki. 2015. « Anxiety is correlated with running in adolescent female mice undergoing activity-based anorexia ». *Behavioral neuroscience* 129 (2): 170-82. <https://doi.org/10.1037/bne0000040>.
- Wang, Hong-Xing, et Yu-Ping Wang. 2016. « Gut Microbiota-Brain Axis ». *Chinese Medical Journal* 129 (19): 2373-80. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.190667>.
- Wang, S. W. J. 2002. « Effects of Restraint Stress and Serotonin on Macronutrient Selection: A Rat Model of Stress-Induced Anorexia ». *Eating and Weight Disorders: EWD* 7 (1): 23-31.
- Wang, Xinying, Joseph F Pierre, Aaron F Heneghan, Rebecca Busch, et Kenneth A Kudsk. 2015. « Glutamine improves innate immunity and prevents bacterial enteroinvasion during parenteral nutrition ». *JPEN. Journal of parenteral and enteral nutrition* 39 (6): 688-97. <https://doi.org/10.1177/0148607114535265>.
- Weaver, Laurel, et Ronald Liebman. 2011. « Assessment of Anorexia Nervosa in Children and Adolescents ». *Current Psychiatry Reports* 13 (2): 93-98. <https://doi.org/10.1007/s11920-010-0174-y>.
- Westberg, L. 2002. « Association between a Polymorphism of the 5-HT_{2C} Receptor and Weight Loss in Teenage Girls ». *Neuropsychopharmacology* 26 (6): 789-93. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(01\)00417-1](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00417-1).
- Wigley, R. D. 1960. « Potassium Deficiency in Anorexia Nervosa, with Reference to Renal Tubular Vacuolation ». *British Medical Journal* 2 (5192): 110-13. <https://doi.org/10.1136/bmj.2.5192.110>.
- Wu, G. 1998. « Intestinal Mucosal Amino Acid Catabolism ». *The Journal of Nutrition* 128 (8): 1249-52. <https://doi.org/10.1093/jn/128.8.1249>.
- Wu, Miaomiao, Hao Xiao, Gang Liu, Shuai Chen, Bie Tan, Wenkai Ren, Fuller W. Bazer, Guoyao Wu, et Yulong Yin. 2016. « Glutamine promotes intestinal SIgA secretion through intestinal microbiota and IL-13 ». *Molecular Nutrition & Food Research* 60 (7): 1637-48. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600026>.
- Wubetu, Gizachew Yismaw, Tohru Utsunomiya, Daichi Ishikawa, Tetsuya Ikemoto, Shinichiro Yamada, Yuji Morine, Shuichi Iwahashi, et al. 2014. « Branched Chain Amino Acid Suppressed Insulin-Initiated Proliferation of Human Cancer Cells Through Induction of Autophagy ». *Anticancer Research* 34 (9): 4789-96.
- Xiao, Dingfu, Liming Zeng, Kang Yao, Xiangfeng Kong, Guoyao Wu, et Yulong Yin. 2016. « The Glutamine-Alpha-Ketoglutarate (AKG) Metabolism and Its Nutritional Implications ». *Amino Acids* 48 (9): 2067-80. <https://doi.org/10.1007/s00726-016-2254-8>.
- Yahalom, Malka, Marcelo Spitz, Ludmila Sandler, Nawaf Heno, Nathan Roguin, et Yoav Turgeman. 2013. « The Significance of Bradycardia in Anorexia Nervosa ». *The International Journal of Angiology: Official Publication of the International College of Angiology, Inc* 22 (2): 83-94. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1334138>.
- Yamawaki, Yosuke, Hitomi Kimura, Toru Hosoi, et Koichiro Ozawa. 2009. « MyD88 plays a key role in LPS-induced Stat3 activation in the hypothalamus ». *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 298 (2): R403-10. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00395.2009>.

- Yilmaz, Zeynep, J. Andrew Hardaway, et Cynthia M. Bulik. 2015. « Genetics and Epigenetics of Eating Disorders ». *Advances in genomics and genetics* 5: 131-50. <https://doi.org/10.2147/AGG.S55776>.
- Yoon, Mee-Sup. 2016. « The Emerging Role of Branched-Chain Amino Acids in Insulin Resistance and Metabolism ». *Nutrients* 8 (7). <https://doi.org/10.3390/nu8070405>.
- Yoshida, Takuya, Sachika Kakizawa, Yuri Totsuka, Miho Sugimoto, Shinji Miura, et Hiromichi Kumagai. 2017. « Effect of Endurance Training and Branched-Chain Amino Acids on the Signaling for Muscle Protein Synthesis in CKD Model Rats Fed a Low-Protein Diet ». *American Journal of Physiology. Renal Physiology* 313 (3): F805-14. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00592.2015>.
- Zanten, Arthur R. H. van, Rupinder Dhaliwal, Dominique Garrel, et Daren K. Heyland. 2015. « Enteral Glutamine Supplementation in Critically Ill Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis ». *Critical Care (London, England)* 19 (août): 294. <https://doi.org/10.1186/s13054-015-1002-x>.
- Zerwas, Stephanie, Janne Tidselbak Larsen, Liselotte Petersen, Laura M. Thornton, Michela Quaranta, Susanne Vinkel Koch, David Pisetsky, Preben Bo Mortensen, et Cynthia M. Bulik. 2017. « Eating Disorders, Autoimmune, and Autoinflammatory Disease ». *Pediatrics* 140 (6): e20162089. <https://doi.org/10.1542/peds.2016-2089>.
- Zgheib, Sara, Mathieu Méquignon, Stéphanie Lucas, Damien Leterme, Olfa Ghali, Virginie Tolle, Philippe Zizzari, et al. 2014. « Long-Term Physiological Alterations and Recovery in a Mouse Model of Separation Associated with Time-Restricted Feeding: A Tool to Study Anorexia Nervosa Related Consequences ». Édité par Julie A. Chowen. *PLoS ONE* 9 (8): e103775. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103775>.
- Zhang, Bo, Licui Chu, Hong Liu, Chunyuan Xie, Shiyan Qiao, et Xiangfang Zeng. 2017. « Leucine Supplementation in a Chronically Protein-Restricted Diet Enhances Muscle Weight and Postprandial Protein Synthesis of Skeletal Muscle by Promoting the MTOR Pathway in Adult Rats ». *Engineering* 3 (5): 760-65. <https://doi.org/10.1016/J.ENG.2017.03.008>.
- Zhang, Qing Yang, Man Ren, Shiyan Qiao, Pingli He, Defa Li, et Xiangfang Zeng. 2016. « Effects of Isoleucine on Glucose Uptake through the Enhancement of Muscular Membrane Concentrations of GLUT1 and GLUT4 and Intestinal Membrane Concentrations of Na⁺/Glucose Co-Transporter 1 (SGLT-1) and GLUT2 ». *British Journal of Nutrition* 116 (04): 593-602. <https://doi.org/10.1017/S0007114516002439>.
- Zhong, Yinzhaoh, Liming Zeng, Jinping Deng, Yehui Duan, et Fengna Li. 2019. « β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) improves mitochondrial function in myocytes through pathways involving PPAR β/δ and CDK4 ». *Nutrition* 60 (avril): 217-26. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2018.09.032>.
- Zhou, QiQi, Meghan L Verne, Jeremy Z Fields, John J Lefante, Sarpreet Basra, Habeeb Salameh, et G Nicholas Verne. 2018. « Randomised Placebo-Controlled Trial of Dietary Glutamine Supplements for Postinfectious Irritable Bowel Syndrome » Published Online First (Published Online First): 1-7. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-315136>.
- Ziora-Jakutowicz, Karolina, Janusz Zimowski, Katarzyna T. Ziora, Joanna M. Oswiecimska, Elzbieta Swietochowska, Piotr Gorczyca, Małgorzata Bednarska-Makaruk, Dominika Szczesniak, et Filip Rybakowski. 2017. « Genetic Polymorphisms and Serum Concentrations of Adiponectin and Resistin in Anorexia Nervosa and Healthy Controls - Pilot Study ». *Neuro Endocrinology Letters* 38 (3): 215-23.

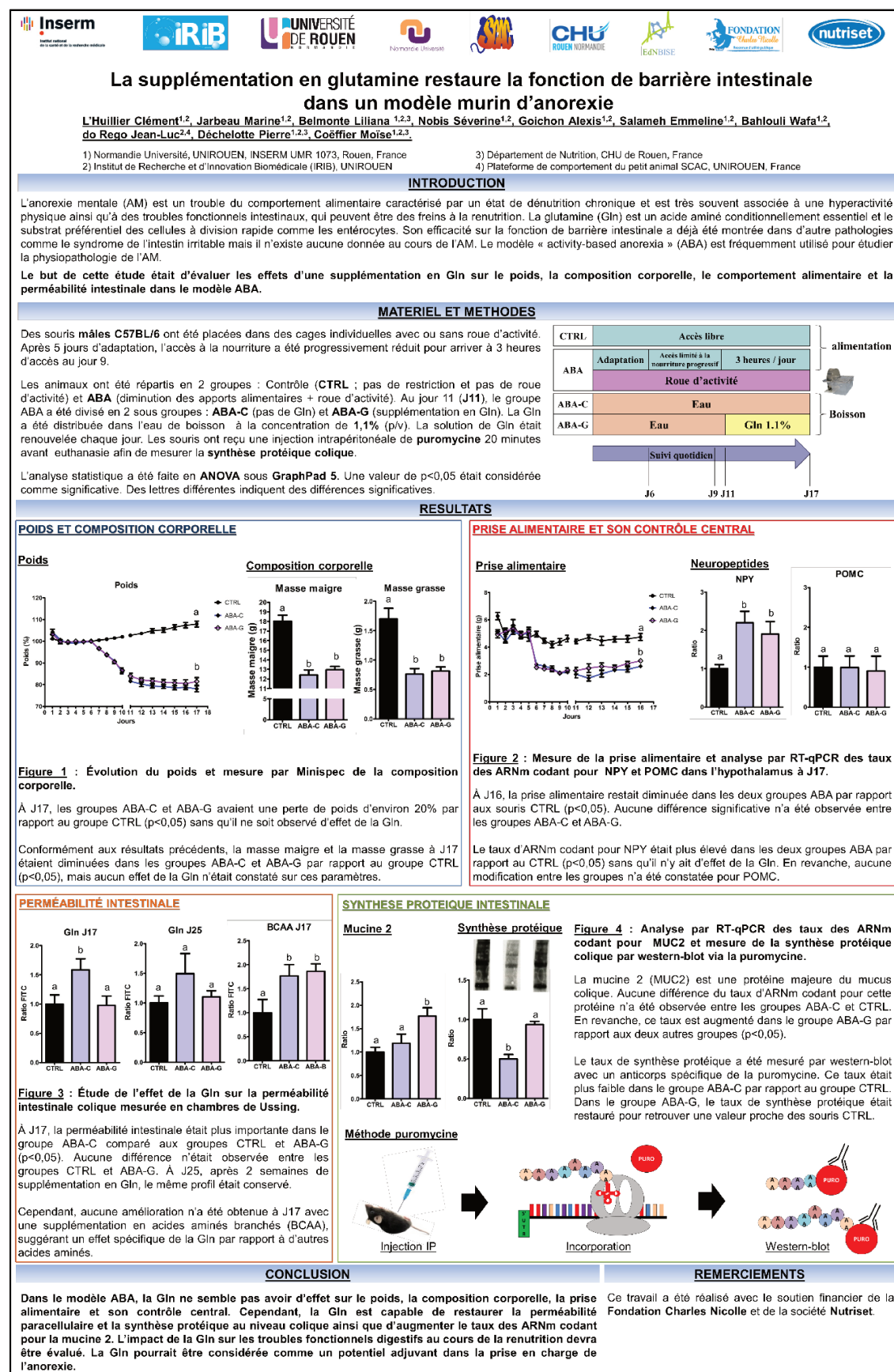
ANNEXE 1 : POSTER JFN 2017

Poster présenté aux Journées Francophones de Nutrition 2017, Nantes, 13 au 15 décembre 2017.



ANNEXE 2 : POSTER JFN 2018

Poster présenté aux Journées Francophones de Nutrition 2018, Nice, 28 au 30 novembre 2018.



ANNEXE 3 : Communications orales

- European Society for Clinical Nutrition and Metabolism (ESPEN), *Madrid, 1^{er} au 4 septembre 2018*
- Journée Normande de la Recherche Biomédicale (JNRB), *Rouen, 21 novembre 2018*
- Journée Francophones de Nutrition (JFN) 2019, *Rennes, 27 au 29 novembre 2019*

ABSTRACT

Anorexia nervosa (AN) is one of the main eating disorders described in DSM-V occurring in female population and characterized by a severe caloric restriction. AN is quite frequently associated with mood disorders, physical hyperactivity and functional digestive disorders. In addition, AN has the highest mortality rate among all mental disorders and high risk of relapse. The aim of this thesis was to assess the effects of amino acids oral supplementations as glutamine (Gln) and branched-chain amino acids (BCAA) in the activity-based anorexia (ABA) mice model. ABA mice share some common features with AN patients as severe weight loss, physical hyperactivity and delayed gastric emptying. When supplied for seven days with Gln, paracellular permeability, total protein synthesis and mucin-2 mRNA level were restored in the ABA mice colon. However, no beneficial effect was found with BCAA which seemed decrease the colonic protein synthesis. Body weight and body composition were not affected by Gln or BCAA and we hypothesized that caloric supply was not enough to induce body weight gain. Thus, we aimed to test our hypothesis with a combination of a progressive refeeding and Gln or BCAA supplementation. Refeeding partially restored body weight and lean mass in ABA mice with a rebound of fat mass but Gln had no additional effect. Nevertheless, BCAA tended to increase fat mass, and then body weight, in comparison to refeeding alone. Plasma leptin was restored in refed mice, without an effect of amino acids supplementation, while only Gln normalized plasma triglycerides. BCAA supplementation tended to increase glycaemia and cholesterolemia. Here, we confirmed the beneficial effects of Gln in the colon observed in our first study. Gln amplified the effects of refeeding on colonic total protein synthesis, p70S6kinase phosphorylation and tight junction proteins as claudin-1 and occludin. Conversely, BCAA appeared to alleviate, or cancel, the benefits of refeeding on these parameters. Given these data, Gln is thought to be of interest in the optimization of refeeding products for anorectic patients and inhibitory effects of BCAA should be further studied.

Keywords: Anorexia nervosa, activity-based anorexia, intestinal permeability, refeeding, glutamine, branched-chain amino acids, protein synthesis, colon.