



HAL
open science

Etude de la communication de l'hypothalamus avec la périphérie chez l'Homme : répercussions sur l'activité métabolique cérébrale et le contrôle de l'homéostasie énergétique

Vincent Florent

► To cite this version:

Vincent Florent. Etude de la communication de l'hypothalamus avec la périphérie chez l'Homme : répercussions sur l'activité métabolique cérébrale et le contrôle de l'homéostasie énergétique. Médecine humaine et pathologie. Université de Lille, 2020. Français. NNT : 2020LILUS031 . tel-04117239

HAL Id: tel-04117239

<https://theses.hal.science/tel-04117239v1>

Submitted on 5 Jun 2023

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.

UNIVERSITE DE LILLE
ECOLE DOCTORALE BIOLOGIE SANTE
ANNEE : 2020

THESE POUR L'OBTENTION DU GRADE DE
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LILLE

**ETUDE DE LA COMMUNICATION DE L'HYPOTHALAMUS
AVEC LA PERIPHERIE CHEZ L'HOMME :
REPERCUSSIONS SUR L'ACTIVITE METABOLIQUE CEREBRALE
ET LE CONTROLE DE L'HOMEOSTASIE ENERGETIQUE**

Présentée et soutenue publiquement le 22 juin 2020
Par Vincent FLORENT

JURY

Président :

Professeur M-C. VANTYGHM, *INSERM U1190, Service d'endocrinologie, CHRU Lille*

Rapporteurs :

Professeur F. JOLY, *INSERM U1149, Service de gastroentérologie, APHP*

Professeur C. MAGNAN, *CNRS UMR8251, Université Paris Diderot*

Examineur :

Professor M. PIGEYRE, *Mc Master University, Hamilton Canada*

Directeur et Co-directeur de thèse :

Docteur M. BARONCINI, *INSERM U1172, Service de neurochirurgie, CHRU Lille*

Docteur V. PREVOT, *Directeur d'unité INSERM U1172, Centre de recherche JPArc, Lille*

à J.L. and co.

REMERCIEMENTS

A MES MAITRES ET JUGES :

Mesdames les Professeures Vantghem et Joly, Monsieur le Professeur Magnan

Je vous suis particulièrement reconnaissant d'avoir accepté d'être les rapporteurs et examinateurs de ce manuscrit. Je vous remercie de siéger à ce jury de soutenance de thèse. Cher Christophe merci pour ta présence et tes conseils lors des comités de suivis de thèse, plus ou moins animés en fonction des années ! Soyez assurés de ma sincère reconnaissance, de mon profond respect et de tous mes remerciements.

A MON MAITRE ET JUGE :

Madame la Professeure Marie PIGEYRE

Chère Marie, reçois ma profonde gratitude, ta participation à ce jury malgré la distance est pour moi un grand honneur. Merci pour le temps passé à accompagner ce travail et nos discussions scientifiques et amicales.

A MES DIRECTEURS DE THESE :

Messieurs les Docteurs Prevot et Baroncini,

Chers amis, je vous remercie tous les deux de l'honneur que vous me faites de diriger cette thèse. Je vous remercie pour votre soutien indéfectible et votre patience qui a permis de mener à bien cette entreprise après 4 ans de travail. Merci Vincent pour les « points thèses » réguliers et tardifs que tu m'as consacré, toutes mes excuses à Sophie qui t'attendait patiemment. Merci pour nos discussions, nos extrapolations « souris / patients » qui promettent encore de belles années de recherches passionnantes. Merci Marc pour ta disponibilité et ton aide précieuse, sans tes talents de neuroanatomiste nous n'aurions pas été bien loin dans cette entreprise.

Soyez assurés de mon éternel respect et de toute mon amitié.

A MES COLLEGUES ET AMIS :

Remerciements à l'ensemble de l'équipe du service de nutrition du CH d'Arras auprès de qui je passe de bonnes journées de travail. Merci Séverine pour tes encouragements qui m'ont permis de voir que mener une activité clinique et de recherche était possible. Dès les premiers jours depuis mon master parisien jusqu'à la fin de la thèse tu m'as permis d'avancer

et je t'en remercie. Merci aux Psy de choc, Bulle et Coralie, pour nos riches discussions, nos débriefs réguliers, pour la thérapie d'affirmation gratuite, pour vos blagues cocasses. Merci à Bulle pour son aide statistique et son rationalisme, tu m'auras devancé de quelques mois avec ton doctorat mais c'est tout à ton honneur. Sans toi j'aurais pensé toute ma vie que les psychologues sont toutes « psy ». Merci à Françoise qui a patienté jusqu'à la thèse pour prendre sa retraite (comment ça c'est un hasard ?), merci pour nos fous rires et le temps passé en consultations ensemble, merci pour ton enseignement très riche et ton grand pragmatisme. Merci à Aude la « médpsychodiet » pour son investissement quotidien auprès des patients, Nicole, Lindsay, Yoanne, Elie, Julie, Claire, Marguerite et toute l'équipe diététique de l'UTN qui complètent de manière indispensable notre team et sans qui les journées ne seraient pas les mêmes.

Merci à l'équipe de recherche du CH Arras, rien n'est possible sans vous, Kathleen, Véronique, Laura et Lydie.

Je tiens à remercier l'ensemble des investigateurs des études HYPOANO et LEPTOB qui m'ont permis de participer à ce projet formidable : le Docteur P. Jissendi, le Docteur J. Vignau, le Docteur D. Guardia, le Professeur D. Dewailly, V. Prevot, O. Viltart, I. Nilsson, J. Johansen, G.Kuschinski. Merci aux manipulateurs radio et aux ingénieurs de l'IRM 3T de l'hôpital Roger Salengro pour leur aide précieuse.

Merci au promoteur du GHICL pour les nombreuses discussions autour de l'amélioration du protocole. Merci à la direction du CH Arras pour le soutien apporté pour les diverses études du service.

Merci à la team Armentières et la team St Vincent pour votre gentillesse, pour tous les bons moments passés en votre compagnie et ceux à venir.

A MA FAMILLE :

Merci à mes parents pour tout... Sans votre aide du quotidien, passée, présente et future, je n'en serai pas arrivé là. Soyez bien conscient de tout l'amour que je vous porte. Merci à ma sœur Claire que j'aime de tout mon cœur, à Anthony, à ma filleul Camille et à Alice, mes deux magnifiques nièces.

Merci infiniment Joachim pour le temps sacrifié, pour le dos rond en période d'anxiété ambiante. Merci pour ta flexibilité et ton impatience, pour ton imagination et ton désordre, pour ton flegme et tes sauts d'humeur. Merci pour ton soutien et ta bienveillance, pour tes encouragements depuis l'internat (10 years ago), sois assuré de mon éternelle reconnaissance et de mon amour indéfectible.

Ce travail vous est dédié ...

RESUME

Titre : Etude de la communication de l'hypothalamus avec la périphérie chez l'Homme : répercussions sur l'activité métabolique cérébrale et le contrôle de l'homéostasie énergétique

Mots Clefs : Hypothalamus, anorexie, obésité, tanocytes, IRM, homéostasie énergétique

Le comportement alimentaire et l'homéostasie énergétique dépendent de l'intégration hypothalamique de signaux périphériques de différentes natures : métaboliques, hormonales. Ce dialogue continu entre la périphérie et le cerveau est indispensable pour le maintien de l'homéostat énergétique et permet ainsi une adéquation entre apports et dépenses caloriques. Malgré ce système finement régulé, des variations significatives de poids peuvent survenir et on observe alors un déséquilibre de la balance énergétique. L'origine de ce désordre est complexe, multifactorielle, avec une composante comportementale expliquant le trouble des conduites alimentaires. L'implication de l'hypothalamus dans ces pathologies est peu étudiée et notamment sa communication avec la périphérie. En effet les mécanismes de transport des signaux hormonaux au travers de l'éminence médiane, véritable porte d'entrée du cerveau, sont défaillants chez le sujet obèse. Le rôle des tanocytes dans le transport de ces signaux dont la leptine est aujourd'hui bien démontrée. Ces cellules gliales spécialisées forment un pont entre les vaisseaux sanguins et le système nerveux central et contrôlent l'accès des hormones périphériques. Or des données récentes montrent qu'une voie de transport au sein des tanocytes est défaillante, pouvant être à l'origine d'une résistance au passage de ces signaux, et mener à un éventuel trouble du comportement alimentaire, de l'anorexie à l'obésité.

Au cours de ma thèse j'ai d'abord examiné comment évoluait *in vivo* l'activation de certaines régions hypothalamiques impliquées dans la régulation de la prise alimentaire en réponse à la faim chez une population de patientes souffrant d'anorexie mentale de type restrictif ou chez des patientes maigres constitutionnelles grâce à des techniques d'IRM métaboliques. Nous avons pu mettre en évidence une inversion de la réponse glutamatergique à la prise alimentaire chez la patiente anorexique associée à un seuil basal plus élevé que les témoins dans la condition de jeûne alors même que l'activation de neurones glutamatergiques dans le noyau arqué hypothalamique et l'aire hypothalamique latérale, deux régions indispensables à la régulation de la prise alimentaire, provoque une perte d'appétit chez la souris nourrie *ad libitum*. De plus nous avons pu montrer que le nombre de fibres nerveuses passant à travers le noyau arqué hypothalamique était considérablement réduit chez la patiente anorexique et mince constitutive reflétant un caractère spécifique au phénotype de la maigreur, ce noyau étant considéré comme le chef d'orchestre de la régulation homéostatique. A l'inverse, l'aire hypothalamique latérale contient plus de fibres nerveuses chez les patientes anorexiques. Enfin des analyses de volumétrie ont permis de constater des variations dans l'ultrastructure hypothalamiques, variations corrélées au poids des sujets.

Ensuite, en miroir de l'anorexie, nous avons souhaité mieux comprendre le phénomène de résistance hormonale à la leptine du sujet obèse. Pour cela j'ai conçu une étude ayant pour objectif de mettre en évidence à la fois des modifications d'imagerie comme dans l'anorexie mais également neuro-hormonales, de métabolisme, et de comportement alimentaire chez le sujet obèse, à l'issue d'un traitement par metformine. Ce traitement améliore en effet le passage de la leptine dans les tanocytes de l'hypothalamus médio-basal dans un modèle de souris obèses. Les recrutements pour cette seconde étude sont en cours.

L'ensemble de ces données démontrent pour la première fois des anomalies structurelles et fonctionnelles de l'ultrastructure hypothalamique *in vivo* chez la patiente anorexique mentale, avec nous l'espérons, la mise en évidence future de ces anomalies chez le sujet obèse afin de permettre une meilleure compréhension du mécanisme de leptinorésistance chez ces patients.

ABSTRACT

Title: Study of the hypothalamic communication with the periphery in humans: effects on brain metabolic activity and on the control of energy homeostasis

Key Words: Hypothalamus, anorexia nervosa, obesity, tanycytes, MRI, energy homeostasis

Eating behavior and energy homeostasis depend on the hypothalamic integration of peripheral signals of different natures, metabolic and hormonal. This continuous dialogue between the periphery and the brain is essential for maintaining the energy homeostasis and thus allows a balance between caloric intake and energy expenditure. Despite this regulated system, significant variations in weight can occur and there is then an imbalance in the energy balance. The origin of this disorder is complex, multifactorial, with a behavioral component explaining the eating disorder. The implication of the hypothalamus in these pathologies is little studied and in particular its communication with the periphery. In fact, the mechanisms for hormonal transport through the median eminence, the real gateway to the brain, are faulty in the obese subject. The role of tanycytes in the transport of these signals, like leptin, is now well demonstrated. These specialized glial cells form a bridge between the blood vessels and the central nervous system and control the access of peripheral hormones. However, recent data show that a transport route within the tanycytes is faulty, which can be the source of resistance to the passage of these signals, and lead to a possible eating disorder, from anorexia to obesity.

During my thesis, I first examined how the activation of certain hypothalamic regions involved in the regulation of food intake in response to hunger evolved in a population of patients suffering from restrictive anorexia nervosa or in lean constitutional patients using metabolic MRI techniques. We were able to demonstrate that the glutamatergic tonus was altered in the anorexic patient even though the activation of glutamatergic neurons in the hypothalamic arcuate nucleus and the lateral hypothalamic area, two regions essential for the regulation of food intake, causes a loss of appetite in mice fed ad libitum. In addition, we were able to show that the number of nerve fibers passing through the hypothalamic arcuate nucleus was considerably reduced in the anorexic patient, this nucleus being considered as the leader of homeostatic regulation. Conversely, the lateral hypothalamic area contains much less nerve fibers in thin constitutive and anorexic patients reflecting a character specific to the leanness phenotype. Finally, volume analyzes revealed variations in the hypothalamic ultrastructure, variations correlated with the weight of the subjects.

Then, mirroring anorexia, we wanted to better understand the phenomenon of hormonal resistance to leptin in the obese subject. For this I designed a study with the aim of highlighting both changes in imaging as in anorexia nervosa, but also neuro-hormonal, metabolism, and eating behavior in the obese subject, in the resulting from metformin treatment. This treatment improves the passage of leptin through the tanycytes of the mid-basal hypothalamus in an obese mouse model. Recruitment for this second study is underway.

All of these data demonstrate for the first time structural and functional anomalies of the hypothalamic ultrastructure in vivo in the anorexic mental patient, with hopefully the future demonstration of these anomalies in the obese subject in order to allow a better understanding of the mechanism of leptin resistance in these patients.

SOMMAIRE

Remerciements	- 3 -
Résumé	- 5 -
Abstract	- 6 -
Sommaire	- 7 -
Table des illustrations	- 10 -
Liste des abréviations	- 12 -
Avant-propos	- 14 -
Introduction	- 16 -
I. Anorexie mentale, maigreur constitutive et troubles du comportement alimentaires dans l'obésité :.....	- 17 -
A. Anorexie mentale :	- 18 -
a. Définition :	- 19 -
b. Epidémiologie :	- 19 -
c. Facteurs étiopathogéniques :	- 19 -
d. Formes cliniques :.....	- 21 -
e. Conclusion :	- 23 -
B. La maigreur constitutionnelle :	- 23 -
a. Introduction :.....	- 23 -
b. Anthropométrie :	- 23 -
c. Particularités biologiques :.....	- 24 -
d. Particularités génétiques :	- 25 -
e. Bilan énergétique :	- 25 -
f. Conclusion :	- 25 -
C. Obésité :	- 26 -
a. Introduction, épidémiologie, conséquences :.....	- 26 -
b. Anthropométrie :	- 27 -
c. Facteurs étiologiques :.....	- 28 -
d. Troubles du comportement alimentaire du sujet obèse :	- 29 -
e. Conclusion :	- 29 -
II. Régulation de l'homéostasie énergétique :.....	- 31 -
A. Contrôle central hypothalamique de la prise alimentaire :.....	- 31 -
a. Anatomie générale :	- 32 -
b. Le noyau arqué hypothalamique (ARH) :.....	- 32 -
c. Le noyau paraventriculaire (PVN) :	- 34 -
d. L'aire hypothalamique latérale (LHA) :.....	- 34 -
B. Contrôle central extra-hypothalamique de la prise alimentaire :	- 36 -
a. Le noyau du tractus solitaire (NTS) :	- 36 -
b. Le cortex orbitofrontal (COF) :.....	- 36 -
c. Système cognitif et limbique :	- 36 -
d. Autres :	- 37 -
C. Signalisation périphérique de la prise alimentaire :	- 37 -
a. La régulation à court terme (Figure 8):	- 39 -
b. La régulation à long terme :.....	- 42 -
D. Facteurs environnementaux modulant la prise alimentaire :.....	- 47 -
a. Contrôle cognitif :	- 47 -

b.	Impact social et culturel :	- 47 -
c.	Facteurs psychologiques :	- 47 -
d.	Déterminants sensoriels de l'alimentation :	- 48 -
e.	Action pharmacologique :	- 48 -
f.	Etats pathologiques :	- 48 -
E.	Facteurs contrôlant la dépense énergétique :	- 48 -
F.	Conclusion :	- 49 -
III.	Perturbations neuroendocrinologiques des TCA:	- 50 -
A.	Modèles animaux dans les TCA :	- 50 -
a.	Anorexie mentale :	- 50 -
b.	Obésité :	- 51 -
B.	Peptides Centraux chez l'Homme :	- 52 -
a.	AgRP and NPY :	- 52 -
b.	α -MSH et POMC :	- 53 -
C.	Peptides périphériques chez l'Homme :	- 54 -
a.	Leptine.....	- 54 -
b.	Ghréline :	- 54 -
c.	PYY (peptide YY) :	- 55 -
d.	Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) :	- 55 -
IV.	Tanycytes hypothalamiques, barrière hématoencéphalique et rôle dans la	
	régulation de l'homéostasie énergétique :	- 57 -
A.	Balance énergétique, résistance à la leptine et obésité :	- 57 -
B.	Les Tanycytes :	- 58 -
C.	Fonctions de la barrière hémato-encéphalique (BHE) :	- 59 -
D.	Spécificités de l'éminence médiane et des organes circumventriculaires :	- 59 -
E.	Interface sang/cerveau & interface sang/LCS :	- 59 -
F.	Plasticité de l'interface avec le noyau arqué et implication du VEGF :	- 61 -
G.	Impact du dysfonctionnement structurel des barrières :	- 62 -
H.	Mécanismes de la porte d'entrée de la leptine dans le cerveau:	- 63 -
I.	Rôle de la voie de signalisation ERK dans le transport de la leptine et action de l'EGF : -	65 -
a.	Voie de signalisation ERK :	- 65 -
b.	Action de l'EGF sur la voie ERK :	- 66 -
J.	Rôle de la voie de signalisation AMP K dans le transport de la leptine et action de la	
	metformine :	- 68 -
a.	Impact de la metformine sur le poids :	- 69 -
b.	Action de la metformine sur la leptinorésistance via l'AMPK :	- 70 -
K.	Conclusion :	- 72 -
V.	Contributions de l'imagerie cérébrale dans l'étude des TCA :	- 73 -
A.	Généralités sur l'IRM :	- 73 -
a.	IRM morphologique dite « conventionnelle » :	- 75 -
b.	Spectroscopie par résonance magnétique (MR) monovoxel :	- 76 -
c.	IRM de diffusion et tractographie :	- 79 -
B.	Application aux TCA :	- 80 -
a.	IRM morphologique :	- 80 -
b.	Spectroscopie par résonance magnétique :	- 81 -
c.	Tenseur de diffusion et tractographie :	- 81 -
	HYPOTHESES & OBJECTIFS	- 83 -
	Résultats	- 85 -

I. Axe 1 : étude fonctionnelle de l'hypothalamus humain en IRM haute résolution : modifications induites par la prise alimentaire chez l'anorexique mentale :	- 86 -
A. Déséquilibre structurel et fonctionnel hypothalamique chez l'anorexique mentale :	- 87 -
B. Résultats complémentaires :	- 122 -
a. Volumétrie :	- 122 -
b. Analyses de corrélation :	- 127 -
c. Analyses discriminantes :	- 132 -
II. Axe 2 : Etude de la leptinorésistance dans l'obésité : impact de la metformine sur le transport de la leptine dans le liquide cébrospinal de patients obèses :	- 136 -
Discussion	- 189 -
I. Axe 1 : Etude fonctionnelle de l'hypothalamus humain en IRM haute résolution : modifications induites par la prise alimentaire chez l'anorexique mentale :	- 190 -
A. Sujets :	- 190 -
B. Segmentation :	- 191 -
C. Spectroscopie :	- 191 -
D. Tenseur de diffusion et tractographie :	- 192 -
E. Résultats complémentaires :	- 193 -
II. Axe 2 : Etude de la leptinorésistance dans l'obésité : impact de la metformine sur le transport de la leptine dans le liquide cébrospinal de patients obèses :	- 195 -
Conclusion & Perspectives	- 197 -
Bibliographie	- 199 -
Annexes	- 213 -
I. Publications & Communications :	- 214 -
A. Articles correspondant au travail de thèse :	- 214 -
B. Articles hors thématique de thèse :	- 214 -
C. Communications dans des congrès en lien avec la thématique de thèse :	- 215 -
D. Communications dans des congrès hors thématique de thèse :	- 215 -
II. Protocoles de recherche en cours :	- 216 -
A. LEPTOB :	- 216 -
B. SIBOB :	- 216 -
C. VERTEXA :	- 216 -
D. RECOVERY :	- 216 -
E. REVERSE :	- 217 -
Résumé	- 218 -

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Représentation schématique du continuum d'IMC dans les TCA.....	17 -
Figure 2 : Courbes de prévalences cumulées pour l'hyperphagie boulimique (rose), la boulimie (jaune) et l'anorexie mentale (bleu) (6).....	18 -
Tableau 1 : Composition corporelle, profil hormonal de la MC, de l'AM et de témoins(25).....	24 -
Figure 3 : Prévalence de l'obésité par région et son évolution (données OBEPI Roche 2012).....	26 -
Figure 4 : Répartition de la population en fonction de l'IMC (données OBEPI Roche 2012).....	28 -
Figure 5 : Noyaux hypothalamiques, vue schématique traduit de (50)	32 -
Figure 6 : Contrôle hypothalamique de la prise alimentaire.....	35 -
Figure 7 : Voies de régulation physiologiques périphérique de la prise alimentaire.....	38 -
Figure 8 : Voies de régulation à court et long terme de la prise alimentaire (77).....	42 -
Figure 9 : Corrélacion linéaire entre leptinémie et IMC (BMI : body mass index) (97).....	43 -
Figure 10 : Voies de signalisations du récepteur de la leptine	45 -
Tableau 2 : Signaux périphériques et centraux impliqués dans la régulation de la balance énergétique (116) .	47 -
Figure 11 : souris anx/anx comparée à une souris non mutée (135).....	51 -
Figure 12 : Phénotype de souris obèses ob/ob (139).....	52 -
Figure 13 : Possibles altérations des voies de régulation centrales et périphériques chez les patients AM et obèses.....	56 -
Figure 14 : Corrélacion négative entre le ratio leptine LCS / leptinémie et le BMI (174).....	58 -
Figure 15 : Représentation schématique de l'hypothalamus tubéral (B) avec les différentes interfaces sang / cerveau (C).....	61 -
Figure 16 : Western blot (gauche) et comparaison quantitative (droite) (48).....	65 -
Figure 17: Transport de la leptine par les tanocytes (225).....	66 -
Figure 18 : Activation de ERK via l'EGF et restauration du transport de la leptine dans l'hypothalamus médiobasal MBH (48).	67 -
Figure 19 : Le traitement par EGF accélère la restauration de la sensibilité à la leptine chez la souris obèse une fois que le régime alimentaire est revenu à la normale (48).....	68 -
Figure 20 : Effet du traitement par metformine chez des souris sous HFD (Christoffer Schmalz, unpublished data).....	69 -
Figure 21 : Evolution du poids en regard du poids de départ après 6 mois de traitement par metformine .	70 -
Figure 22 : Défaut de transport de la leptine sous régime HFD	70 -
Figure 23 : Amélioration du ratio leptine/STAT3 sous metformine et EGF.....	71 -
Figure 24 : Action de la metformine sur la voie AMPK et sur la sécrétion de la leptine, données non publiées d'Eleonora Deligia	71 -
Figure 25 : Différents scénarios du transport périphérique de la leptine	72 -
Tableau 3 : Signification des séquences morphologiques (254).....	76 -
Tableau 4: Principaux métabolites détectables en SRM (256)	77 -
Figure 26 : Positionnement du voxel (carré rouge) dans la région hypothalamique (A et B coupe frontale) et dans la région thalamique (C et D en coupe sagittale et coronale).....	78 -
Figure 27 : Exemple de spectre de SRM pour le sujet A1 à jeun, zone hypothalamique	79 -
Figure 28: Anorexia nervosa increases the volume of the lateral hypothalamic area and decreased the volume of PaPe	123 -
Tableau 5. T1 imaging showing volumetry analysis with the volume of different regions of interest (ROI) normalized on total hypothalamic volume (except HT total and VL normalized on intracranial volume and intracranial volume without normalization).....	126 -
Figure 29 : Corrélacion (Pearson r) between body weight and tractography (number of fiber).....	128 -
Table 6 : Corrélacion (Pearson r) between body weight and tractography (number of fiber).....	128 -
Figure 30 : Corrélacion (Pearson r) between diffusivity and BMI	129 -
Table 7 : Corrélacion (Pearson r) between diffusivity and BMI.....	130 -

<i>Figure 31 : Correlation (Pearson r) between chromatography and volumetry.....</i>	<i>- 131 -</i>
<i>Table 8 : Correlation (Pearson r) between chromatography and volumetry.....</i>	<i>- 131 -</i>
<i>Figure 32 : Analyse discriminante basée sur les données de spectroscopie.....</i>	<i>- 133 -</i>
<i>Figure 33 : Analyse discriminante basée sur les données de diffusion.....</i>	<i>- 133 -</i>
<i>Figure 34 : Analyse discriminante basée sur les données de chromatographie.....</i>	<i>- 134 -</i>
<i>Figure 35 : Analyse discriminante basée sur les données de volumétrie.....</i>	<i>- 134 -</i>
<i>Figure 36 : Analyse discriminante basée sur la totalité des données (hors volumétrie).....</i>	<i>- 135 -</i>

LISTE DES ABREVIATIONS

ABA	Activity based anorexia
ADC	Coefficient de diffusion apparent
AgRP	Agouti-gene related protein
AM	Anorexie mentale
AMP K	Adénosine monophosphate kinase
ARH	Noyau arqué hypothalamique
BED	Binge eating disorder
BHE	Barrière hémato-encéphalique
BOLD	Blood oxygenation level dependant
CART	Cocaine and amphetamine regulated transcript
CC	Compound C
CCA	Cortex cingulaire antérieur
CCK	Cholecystokinine
CNPs	Copy-number variation
COF	Cortex orbitofrontal
CPP	Comité de Protection des Personnes
Cr	Créatine
CRH	corticotropin-releasing hormone
CSP	Catégorie socio professionnelle
DET	Dépense énergétique totale
DEB	Dépense énergétique de base
DER	Dépense énergétique de repos
DIO	Diet induced obesity
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
DTI	Diffusion Tensor Images
ERK	Extracellular signal-regulated kinase
EPI	Echo Planar Imaging
FA	Fraction d'anisotropie
FLAIR	Fluid attenuated inversion recovery
FSH	Follicle stimulating hormone
GH	Growth hormon
Glu	Glutamate
Gln	Glutamine
GLP-1	Glucagon-like peptide-1
GPC	Glycerophosphocholine
GNRH	Gonadotrophin releasing hormone
HAS	Haute autorité de santé
HFD	High Fat Diet
H/O	Hypocrétine / Orexine
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
IMC	Indice de masse corporelle
Ins	Myo-inositol
IMC	Indice de masse corporelle
IRM	Imagerie par résonance magnétique
JAK	Janus Kinase
LCS	Liquide cérébro spinal
LepRb	Récepteur de la leptine
LH	Lutéinizing hormone

LHA	Aire hypothalamique latérale
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
MC	Maigreur constitutionnelle
α MSH	alpha-melanocyte-stimulating hormone
MC	Maigreur constitutionnelle
MD	Diffusivité moyenne
NAA	N-acétyl-aspartate
NAP	Niveau d'activité physique
NTS	Noyau du tractus solitaire
NPY	Neuropeptide Y
OCV	Organe circum ventriculaire
OMS	Organisation mondiale de la santé
ORX	orexine
POMC	Pro-opiomelanocortine
PPM	partie par millions
PVN	Noyau paraventriculaire
PYY	Peptide Y Y
ROI	Region of interest
SD	Standard Deviation
SNC	Système nerveux central
SNPs	Single-nucleotide polymorphism
STAT	Signal transducer and activator of transcription
SRM	Spectroscopie par résonance magnétique
T	TESLA (unité de mesure du champ magnétique)
TCA	Trouble du comportement alimentaire
TE	Temps d'écho
TFEQ	Three Factor Eating Questionnaire
TEP	Tomographie par émission de positons
V3	3 ^{ème} ventricule
VMH	Noyau ventro-médian

AVANT-PROPOS

Le comportement alimentaire désigne un ensemble d'actions coordonnées d'un individu aboutissant à la consommation d'aliments. La principale fonction physiologique de ce comportement est d'assurer l'apport des substrats énergétiques nécessaires à l'ensemble des cellules de l'organisme, sans occulter les aspects sociaux, hédoniques et émotionnels.

Comme tous les comportements, le comportement alimentaire est contrôlé par le système nerveux central. Il est actuellement admis que la régulation de la prise alimentaire résulte d'une alchimie complexe entre différentes structures neuroanatomiques, telles que l'hypothalamus, dans le but de maintenir l'homéostasie énergétique visant à assurer une situation d'équilibre pondéral et permettant de maintenir constant un niveau donné de masse grasse. Ces circuits neuronaux reçoivent par voie nerveuse et hormonale, des informations sur le statut énergétique de l'organisme permettant d'adapter avec précision les apports aux besoins. Cette régulation physiologique est modulée par des facteurs psychologiques, sociaux et environnementaux qui peuvent la perturber, expliquant les troubles du comportement alimentaire, de l'anorexie à l'obésité.

Afin d'étudier *in vivo* les modifications hypothalamiques induites par la prise alimentaire chez des sujets anorexiques mentales, les techniques IRM multimodales, non invasives et non irradiantes, sont un outil de choix. Plusieurs techniques d'IRM ont été utilisées dans notre étude (**Axe 1**) : l'IRM morphologique et la volumétrie, le tenseur de diffusion et la tractographie, ainsi qu'une séquence en spectroscopie par résonance magnétique.

Ce même design d'étude a été appliqué à une population de sujets obèses leptinorésistants, non plus au cours de la prise alimentaire mais après un traitement médicamenteux améliorant le passage de la leptine dans le cerveau. Cette seconde étude en IRM est ici associée à une pluralité d'explorations métaboliques et biologiques afin d'appréhender l'évolution de la régulation centrale du comportement alimentaire après ce traitement (**Axe 2**). Les inclusions de patients sont en cours pour cette seconde étude.

Préalablement à la présentation de ces résultats, nous ferons un rappel de la régulation physiologique de la prise alimentaire, avant de revenir sur les troubles du comportement alimentaire et leurs anomalies neuroanatomiques et hormonales. Enfin, nous reviendrons sur l'implication de la barrière hémato-encéphalique et tancytaire dans la physiopathologie de ces troubles.

INTRODUCTION

I. ANOREXIE MENTALE, MAIGREUR CONSTITUTIVE ET TROUBLES DU COMPORTEMENT ALIMENTAIRES DANS L'OBESITE :

Les troubles du comportement alimentaire (TCA) sont des pathologies sévères avec une morbi-mortalité somatique et psychiatrique importante. Il s'agit de la deuxième cause de mortalité chez les 15-25 ans après les accidents de la voie publique et on estime qu'en France 1 million de personnes sont touchées par ces troubles (1).

Les TCA sont présents dans toutes les catégories de poids et d'indice de masse corporelle (IMC) (2). Une méthode simple de classer les troubles du comportement alimentaire consiste à les trier par ordre d'IMC de l'anorexie mentale (AM) qui a un IMC bas, en passant par la boulimie à IMC normal, vers le comportement alimentaire hyperphagique et compulsif (binge eating disorder BED) amenant à des IMC élevés (Figure 1). Au-delà de l'IMC, la cinétique de poids est à prendre en compte: une perte de poids drastique caractérise plutôt l'anorexie mais pas la boulimie où le poids est en moyenne stable, alors que les hyperphages et compulsifs prennent du poids rapidement et développent des obésités sévères (3).

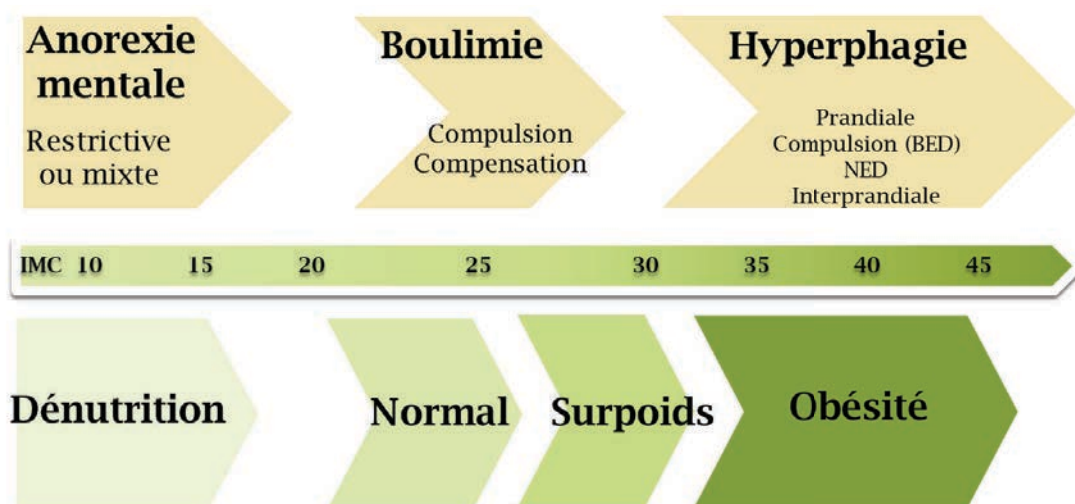


Figure 1 : Représentation schématique du continuum d'IMC dans les TCA

Les patients présentant une AM ont le plus haut niveau de mortalité de toutes les pathologies psychiatriques (4) et encore plus que les patients présentant une boulimie (5). Le risque de décès prématuré dans les TCA et leurs formes apparentées avoisine les 10% (6).

Les TCA sont des troubles d'étiologie complexe dont le développement, l'évolution et le maintien sont influencés par des facteurs socioculturels, psychopathologiques et biologiques. Par ailleurs, des dysrégulations d'adipocytokines périphériques, de peptides gastrointestinaux, ou des neurotransmetteurs centraux impliqués dans la régulation de l'appétit ont été mis en évidence chez des patients avec TCA (7).

Les TCA sont des pathologies fréquentes. Les études épidémiologiques restent rares

mais des taux de prévalence sont connus sur des cohortes internationales (6) comme ici dans la WHO Composite International Diagnostic Interview comprenant 9882 personnes: >0.5% pour l'anorexie mentale, 1% pour la boulimie, 2 à 6% pour l'hyperphagie boulimique ou binge eating disorder (BED) (Figure 2).

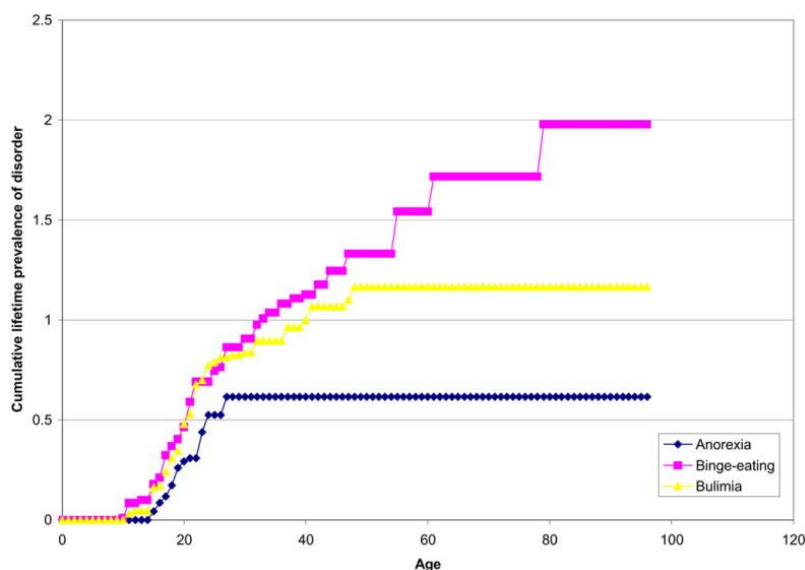


Figure 2 : Courbes de prévalences cumulées pour l'hyperphagie boulimique (rose), la boulimie (jaune) et l'anorexie mentale (bleu) (6)

Malheureusement, les cliniciens ne disposent pas d'outils diagnostiques et thérapeutiques suffisants avec des limites dans la prévention et le traitement curatif de ces pathologies. Les signes, symptômes, éléments évocateurs d'un TCA doivent toujours être pris en compte et non minimisés. De plus, dans les TCA la précocité de la prise en charge conditionne le pronostic de la maladie. Le traitement se doit d'être basé sur une approche multidisciplinaire (médicale, psychologique, nutritionnelle et d'activité physique adaptée).

A. Anorexie mentale :

Il s'agit d'un TCA caractérisé par une altération de la perception du poids et du corps menant à une anorexie et à un amaigrissement parfois extrême et potentiellement létal. Sur le plan étiologique, l'AM s'inscrit dans un modèle multifactoriel où vulnérabilité génétique et facteurs environnementaux s'entremêlent. De nombreuses études suggèrent que des facteurs neurobiologiques contribuent au développement de cette pathologie. Notre étude s'est concentrée sur l'un des composants critiques de l'AM, la restriction de nourriture, afin de tenter de mieux appréhender les mécanismes neurobiologiques sous-tendant le phénomène d'adaptation de l'organisme contribuant au maintien des troubles.

A contrario de l'anorexie mentale et malgré de nombreuses confusions, la maigreur constitutionnelle est un état clinique variant de la normalité. En effet ces sujets présentent un IMC bas (<18,5 kg/m²) en dehors de toute pathologie organique ou psychiatrique, et leur bilan énergétique est équilibré à l'inverse de la patiente anorexique mentale, un chapitre leur est consacré (I.B.).

a. Définition :

L'anorexie mentale (AM) est le TCA le plus commun qui affecte particulièrement les jeunes adolescentes à une période charnière sur le plan hormonal. Il est caractérisé par une restriction alimentaire quantitative et qualitative conduisant à une perte de poids, une peur intense de grossir ou un fort désir d'amaigrissement, un trouble du schéma corporel incluant la forme du corps et le poids selon le DSM 5 (8, 9).

b. Epidémiologie :

Classiquement, l'anorexie mentale est une maladie des pays occidentaux et riches (en tout cas à l'abri du besoin alimentaire). La notion classique d'une maladie des couches socio-économiques élevées n'est plus valable : toutes les couches sociales peuvent être touchées. La prévalence, chez les sujets féminins dans les pays occidentaux est de 1,2 à 2,2 %. L'incidence en France est de 2 à 8 cas pour 100 000 habitants par an. On note depuis deux décennies une tendance à l'augmentation de la fréquence de l'AM (10). L'incidence semble être augmentée au cours de l'adolescence et chez les jeunes femmes entre 10 et 24 ans (11) avec un âge moyen de survenue à 17 ans et deux pics de prévalence en début et fin d'adolescence. En règle générale, la gravité est proportionnelle à la précocité : plus l'anorexie mentale se déclare tôt et plus le pronostic est sombre. Pour les deux formes cliniques plus rares, l'anorexie pré-pubère et l'anorexie tardive, les données manquent, de même que pour les cas masculins. L'AM affecte également les jeunes hommes mais la prévalence est 8,1 fois plus haute chez les femmes que chez les hommes d'après plusieurs études dont cette étude épidémiologique (12).

c. Facteurs étiopathogéniques :

A l'origine de la restriction alimentaire, les patientes anorexiques présentent un trouble de la perception de l'image du corps pouvant aller jusqu'à la dysmorphophobie, avec une peur intense de grossir. En effet les AM surestiment toujours leur poids. Cette perception est d'autant plus altérée que la dénutrition s'aggrave (13).

- Facteurs biologiques :

Comme vu précédemment, il existe un grand nombre de systèmes de neurotransmission mis en jeu dans la régulation de l'état nutritionnel et du comportement alimentaire. Ces systèmes mono-aminergiques, neuro-peptidiques et neuro-endocriniens (axe hypothalamo-hypophysaire) interviennent dans l'ajustement alimentaire qualitatif et quantitatif, sans que l'on puisse pour le moment établir de façon formelle une relation de cause à effet entre une dysrégulation neurochimique et l'existence de troubles anorexiques. Un chapitre est consacré à l'étude de ces anomalies neurobiologiques dans les TCA (Chapitre III).

- Facteurs génétiques de vulnérabilité :

Les études génétiques montrent une forte agrégation familiale. En effet, les jeunes

femmes dont les parents ont présenté un TCA ont 6 à 10 fois plus de risque de présenter un TCA comparativement à l'incidence observée dans la population générale.

Les études CGAS à la recherche d'un gène candidat (Candidate Gene Association Studies) n'ont pour le moment pas trouvé de polymorphisme chez les AM en comparaison à des groupes contrôles. Par contre, une étude de Genome-Wide Association Studies (GWAS) (14) réalisée sur 1033 patientes anorexiques, consistant à un balayage du génome tout entier a retrouvé un polymorphisme nucléotidique (SNPs pour Single-nucleotide polymorphism) associé à un sur risque d'AM de type restrictif (gène HTRD1 codant pour un récepteur de la sérotonine) ou sur l'OPRD1 (codant pour un récepteur opioïde). Cette étude suggère qu'à la fois des SNPs et de rares cas de variabilité du nombre de copies CNPs (pour Copy-number variation, désignant une forme particulière de polymorphisme) confèrent un risque d'AM. La variabilité du nombre de copies d'un gène désigne en génétique une forme particulière de polymorphisme dans lequel le nombre de copies d'un même gène ou d'un segment chromosomique dans le génome est variable entre les individus de la même espèce. Plus récemment cette autre étude en GWAS regroupant 16.992 cas d'anorexie mentale et 55.525 contrôles, identifie 8 loci significatifs (15). Néanmoins des études sur des cohortes indépendantes sont nécessaires pour confirmer le rôle de ces gènes dans l'anorexie mentale.

Une certaine vulnérabilité génétique fait donc partie du modèle poly-factoriel, sans pour autant qu'un gène candidat soit à l'origine de la pathologie : le modèle oligo ou poly-génique avec facteurs environnementaux favorisant est donc retenu.

- Facteurs socio-culturels :

Leurs rôles sont capitaux dans la genèse de la maladie. Plusieurs études ont montré que les pathologies alimentaires étaient plus fréquentes dans certains milieux où le corps idéalisé est au centre de l'activité professionnelle (danseurs, mannequins, sportifs de haut niveau...). L'image idéalisée d'un corps mince et contrôlé correspond à une maîtrise des sensations, de performances physiques et intellectuelles, au détriment des échanges affectifs.

- Facteurs familiaux :

La dynamique familiale est fortement impliquée avec des problèmes d'anxiété et de maîtrise, de référence à un idéal. Les patientes anorexiques ne sont pas autonomes dans leur famille, la crainte et l'absence d'expression des conflits intra-familiaux sont habituelles afin de maintenir une « homéostasie familiale ».

- Facteurs psychiatriques et de personnalité :

Certains traits de caractère sont souvent retrouvés chez la jeune anorexique : surinvestissement, insatisfaction personnelle, manque de confiance en soi, sentiment d'insécurité, attitudes perfectionnistes. Sur le plan psychopathologique, tout type de personnalité est retrouvé, allant des structures névrotiques à de véritables schizophrénies. Il faut également noter une fréquence accrue des syndromes dépressifs chez les AM.

d. Formes cliniques :

L'AM peut être de deux types : restrictive caractérisée par une restriction alimentaire stricte associée ou non à des efforts physiques soutenus, ou de type compensatoire (binge-eating, purging) caractérisée en plus par la survenue de crises de boulimie compensées par des épisodes de purge par vomissements provoqués ou utilisation de laxatifs, diurétiques...

L'anorexie masculine ne concerne que 10% des cas pris en charge. Le tableau clinique est assez comparable à celui de la forme féminine, l'aménorrhée étant remplacée par la perte de la libido et de l'érection, secondaire à une diminution des taux de testostérone. Les formes restrictives sont plus rares, l'hyperactivité physique est plus fréquente ainsi que le surinvestissement intellectuel (16).

L'anorexie prépubertaire est caractérisée par la survenue précoce des troubles entre neuf et douze ans. Cette forme clinique est rare et sévère, plus fréquente chez le garçon, et responsable d'un retard de croissance staturale. La symptomatologie dépressive est très fréquente. L'anorexie tardive survient quant à elle après 25 ans. Elle est le plus souvent secondaire à un événement familial (deuil, naissance, mariage...). Les éléments dépressifs sont également assez marqués.

L'anorexie mentale est caractérisée par une triade symptomatique : anorexie, amaigrissement et aménorrhée (17) sachant que le critère aménorrhée a été retiré des derniers critères diagnostiques du DSM 5 mais reste un élément clinique fort.

- Anorexie :

Il s'agit plutôt d'une restriction alimentaire témoignant d'un comportement perturbé. Il y a tout d'abord une restriction alimentaire quantitative avec réduction des portions, et souvent associée, une restriction qualitative (conduite de sélection) avec un tri de certaines catégories d'aliments selon des cognitions erronées sur leur prétendue valeur calorique. Ce comportement est souvent rationalisé par la patiente (nécessité de perdre du poids, problème digestif, pseudo-allergie alimentaire), et peut être accompagné d'épisodes de boulimie, de manœuvres purgatives (vomissements provoqués, prise de laxatifs), de potomanie. L'anorexie réelle n'apparaît que secondairement, comme conséquence physiologique du jeûne prolongé avec une disparition de la sensation de faim.

- Amaigrissement :

L'amaigrissement est souvent rapide et important. Ce symptôme impose de calculer l'IMC et le pourcentage de perte de poids. Celui-ci est pathologique lorsqu'il est inférieur à 18,5 (hors maigreur constitutionnelle), et justifie une hospitalisation lorsqu'il est inférieur à 14 selon les critères de la HAS (Haute autorité de santé). Le pronostic vital est en jeu lorsqu'il est inférieur à 13, ou en fonction de la vitesse d'amaigrissement. L'anorexie et l'amaigrissement sont parfois niés par la patiente car il y a distorsion de l'image du corps. C'est ce déni qui est fondamental pour le diagnostic et qui permettra de faire la différence avec un amaigrissement secondaire à une pathologie organique.

La dénutrition induite par la restriction alimentaire a des conséquences physiologiques importantes : nombreux déficits en minéraux, vitamines et autres éléments essentiels. Ceux-ci, ainsi que la perte de poids, vont entraîner des dérèglements organiques : amyotrophie, atrophie mammaire, troubles des phanères (cheveux fins, secs et cassants, ongles cassants), hypométabolisme (hypothermie, asthénie marquée, bradycardie, hypotension) malaises, constipation, hypercholestérolémie, déshydratation, décalcification et ostéoporose, œdèmes de dénutrition, acrocyanose...

- Aménorrhée :

L'aménorrhée est un symptôme constant, d'apparition précoce et de résolution tardive. Ce signe est secondaire à une atteinte fonctionnelle de l'axe hypothalamo-hypophysogonadique (18). En effet, toute perte de poids importante induit une régression fonctionnelle du gonadostat qui va atteindre au maximum un niveau pré-pubertaire. A l'amaigrissement s'associe d'autres facteurs étiologiques comme l'hyperactivité physique, les facteurs psycho-affectifs ou encore l'âge de survenue de l'AM (fragilité accrue de l'axe hypothalamo-hypophysaire dans la période pubertaire).

Elle est soit primaire dans le cas d'anorexie mentale prépubertaire, ou secondaire dans les formes qui surviennent plus tardivement (absence de règle pendant trois mois consécutifs chez les patientes présentant habituellement des cycles réguliers, sinon pendant six mois si antécédents d'irrégularité menstruelle).

Sur le plan neuroendocrinien on observe un effondrement de la GNRH (gonadotrophin releasing hormon) responsable d'un taux de FSH (follicule stimulating hormon) et de LH (luteinizing hormon) anormalement bas ($LH/FSH=1$). La pulsatilité de sécrétion de LH n'existe plus. En conséquence les taux des œstrogènes et de la progestérone sont effondrés chez la fille et le taux de testostérone chez le garçon.

- Hyperactivité physique intrinsèque et extrinsèque :

On retrouve souvent une hyperactivité physique par recherche d'une dépense calorique et dépassement des limites du corps, en s'interdisant le repos l'associant à une forme de « lâcher-prise ». L'hyperactivité se manifeste aussi dans un investissement excessif des activités intellectuelles (19).

- Comorbidités psychiatriques :

Les sujets anorexiques mentales présentent un isolement progressif avec une nette difficulté à être en confiance avec l'autre : ce désinvestissement social peut prendre la forme d'une véritable phobie sociale. Sur le plan de la sexualité on retrouve chez ces patientes un refoulement massif avec un défaut d'investissement érogène du corps. Si une activité sexuelle est présente, elle s'inscrit dans les comportements de maîtrise et se déroule machinalement. Une symptomatologie anxiodépressive est souvent associée sans pour autant toujours atteindre les critères diagnostiques d'un trouble caractérisé. Ces troubles thymiques et anxieux (avec risque suicidaire) sont des comorbidités fréquentes (20). L'anorexie mentale possède le

taux de mortalité suicidaire le plus élevé de tous les troubles psychiatriques et représente 6% des décès. Le syndrome dépressif est une comorbidité fréquente ainsi que l'apparition de troubles addictifs, à type d'alcoolisme ou de toxicomanie.

- Évolution et pronostic :

La mortalité atteint plus de 10% (21). Le pronostic évolutif est sévère : seul 1/3 des patients vont vers la rémission, alors qu'1/3 conservent des symptômes parfois invalidants et 1/3 d'entre eux évoluent vers la chronicité, avec le risque de complications et potentiellement de décès (22, 23).

e. Conclusion :

L'AM et plus généralement les TCA suscitent une attention croissante à la fois parce qu'il s'agit d'une pathologie en augmentation constante dans les pays occidentaux mais aussi parce que c'est une affection grave avec un taux de mortalité élevé qui manque actuellement de thérapies pharmacologiques ou biologiques efficaces. L'approche thérapeutique est longue et complexe, mettant en jeu une équipe spécialisée et pluridisciplinaire. Elle doit être individualisée avec un abord nutritionnel approprié, une psychothérapie individuelle et familiale associée à une approche cognitivo-comportementale.

B. La maigreur constitutionnelle :

a. Introduction :

Les personnes présentant une maigreur constitutionnelle (MC) ou constitutive restent invariablement à un IMC inférieur à 18,5 kg/m², en dehors de toute situation pathologique. La prévalence de cette particularité anthropométrique reste discutée mais serait autour de 1% (24). Ce sous-poids ne mettant pas en danger leur vie, ces personnes sont souvent déroutées par leur absence de prise de poids et ont souvent du mal à trouver une oreille attentive à leur problème parfois très mal vécu. Les signes cliniques, le profil psychologique de déni, la classe d'âge et le sexe, la fréquence, peuvent amener à un diagnostic erroné d'AM. Pourtant le diagnostic différentiel de maigreur constitutionnel doit être soulevé. Dans cette partie nous nous attacherons à une description du sujet MC sur le plan anthropométrique, biologique et énergétique, de façon comparée au sujet AM.

b. Anthropométrie :

Les différentes mesures anthropométriques, obtenues dans la plupart des études par densitométrie osseuse ou impédancemétrie, permettent de mesurer la répartition corporelle des différentes masses et de différencier un sujet MC d'un AM.

- Masse grasse :

La masse grasse de la patiente maigre constitutionnelle est diminuée à 20% (contre 25 à 30% chez des sujets féminins normopondéraux) alors qu'elle est effondrée à 10% chez la patiente AM à IMC égal (Tableau 1). La leptine reflétant le stock énergétique notamment en terme de masse adipocytaire, celle-ci est diminuée (comme elle serait majorée chez le sujet obèse), et effondrée chez la patiente anorexique (Tableau 1) (25).

- Masse osseuse :

Des mesures effectuées par densitométrie retrouvent une masse osseuse qui est diminuée de 50% chez des patientes MC versus des patientes normopondérales, et 25% des sujets maigres constitutionnelles présentent une ostéoporose à l'âge de 20 ans. L'étude de l'architecture osseuse retrouve une épaisseur corticale moindre et un élargissement des espaces inter-alvéolaires chez les patientes MC. Contrairement à l'AM qui semble avoir une déminéralisation osseuse secondaire à l'état de dénutrition, le sujet MC a un remodelage osseux équilibré, mais une perte de masse osseuse qui serait secondaire à un défaut d'acquisition du pic de minéralisation osseuse (26).

- Masse musculaire :

La masse musculaire est également diminuée chez les patientes maigres constitutionnelles et des études anatomopathologiques du tissu musculaire retrouvent cette raréfaction avec une modification de la répartition des différentes fibres.

	AM (n=44)		MC (n=25)		Contrôles (n=28)
Âge (années)	20,4 ± 1,2	→	20,2 ± 1,2	→	22,4 ± 1,4
Taille (m)	162,8 ± 2,4	→	163,2 ± 3,1	→	163,2 ± 2,5
IMC (kg/m ²)	15,5 ± 0,1*	→	15,8 ± 0,1*	→	20,7 ± 0,4
Masse grasse (%)	9,8 ± 1,1*	→	18,2 ± 0,7*	→	26,3 ± 1,2
Leptin (µg/L)	2,4 ± 0,5*	→	6,0 ± 0,8*	→	11,2 ± 1,9
T3 libre (pmol/L)	2,7 ± 0,1*	→	3,9 ± 0,1	→	3,5 ± 0,1
IGF1 (µg/L)	163 ± 16*	→	295 ± 34	→	283 ± 20
GH (mUI/L)	8,5 ± 0,7*	→	4,8 ± 0,6	→	4,7 ± 0,6
Cortisol (nmol/L)	364 ± 31*	→	216 ± 12	→	266 ± 17
17β œstradiol (ng/L)	14,3 ± 1,4*	→	73,1 ± 8,6	→	51,6 ± 11,4
DHEAS (ng/L)	196,2 ± 30*	→	112,6 ± 19	→	129,4 ± 17
PTH (ng/mL)	29,1 ± 2,9	→	35,8 ± 3,6	→	34,3 ± 7,1
Vitamine D (pmol)	23,0 ± 2,4	→	21,5 ± 4,2	→	27,6 ± 3,7
Ca (mmol/L)	2,3 ± 0,04	→	2,2 ± 0,02	→	2,3 ± 0,03

MC : maigre constitutionnelle.
*p inférieur à 0,005 entre le groupe AM ou MC et témoins.

Tableau 1 : Composition corporelle, profil hormonal de la MC, de l'AM et de témoins(25)

c. Particularités biologiques :

Dans différentes publications, il n'y a aucune différence retrouvée dans les investigations biologiques et hormonales chez les sujets maigres constitutionnels malgré leur

poids anormalement bas. En effet, le bilan du cortisol, le bilan thyroïdien, le bilan gonadotrope (œstradiol ou testostérone chez l'homme) ou encore la GH et l'IGF1 sont normales. Sur le plan de la régulation du comportement alimentaire, la ghréline, l'insuline et le GLP1 ont des valeurs comparables entre MC et témoins (27). La MC, à l'inverse de la patiente AM, ne présente aucune anomalie du bilan hormonal (Tableau 1).

d. Particularités génétiques :

Les filiations de maigreur constitutionnelle sont connues et font partie des arguments en faveur de ce diagnostic, en dehors de toute pathologie cachectisante héréditaire. Des ethnies aborigènes sont d'ailleurs connues pour leur maigreur non pathologique et touchant une bonne partie de la population. Une origine génétique est donc suspectée et des études par balayage du génome (GWAS) et sur gène candidat (CGAS) sont en cours. Une étude a d'ailleurs retrouvé un lien entre différents patients en sous-poids dès la naissance et une duplication d'une région du bras court du chromosome 16 (16p11.2) (28).

L'objectif de ces études génétiques est d'une part de comprendre les mécanismes à l'origine du frein développemental des différents constituants corporels, et d'autre part de caractériser génétiquement la maigreur constitutionnelle ce qui permettrait des diagnostics familiaux.

e. Bilan énergétique :

Différentes méthodes basées sur des questionnaires et semainiers ont permis d'estimer les apports énergétiques quantitatifs et qualitatifs des patientes MC. L'apport alimentaire chez la patiente MC est identique à la patiente normopondérale (entre 1800 et 2000kcal/J) tant sur le plan des quantités que sur le plan de la composition, alors qu'il est largement diminué chez la patiente AM par restriction quantitative ou qualitative de ses ingestas.

La mesure des dépenses énergétiques de repos par calorimétrie indirecte, est significativement diminuée chez la patiente AM (700 à 1000 kcal/J en fonction du poids), intermédiaire chez les sujets MC, et plus élevé chez les sujets normopondéraux à 1300kcal/24h (27).

Au total, le bilan énergétique de la patiente MC est équilibré d'où la stabilité pondérale, contrairement à celui de l'AM ce qui explique la perte de poids. Néanmoins ces données n'expliquent pas la résistance à la prise de poids des patientes MC. Plusieurs études émettent l'hypothèse d'une majoration de la thermogénèse post-prandiale ou d'une activité musculaire en dehors de toute activité sportive qui seraient à l'origine d'une compensation du défaut de dépense énergétique de repos. Il a été montré un phénomène de résistance à la prise de poids en cas de surnutrition lipidique chez des patientes MC comparées à des témoins (29)

f. Conclusion :

Au total, le poids anormalement bas de la MC s'expliquerait par la diminution marquée des constituants de la composition corporelle, conséquence peut être d'une dépense

énergétique de repos plus coûteuse au prorata de la masse musculaire. La maigreur constitutionnelle souvent définie comme une présentation clinique proche de la normalité n'est peut-être pas si physiologique que cela du fait du risque accru d'ostéoporose précoce.

Les diagnostics erronés d'AM sont un risque de stigmatisation. Pourtant la stabilité pondérale, la volonté de grossir, l'absence de perturbation de l'image corporelle, les taux de masse grasse et de leptine diminués mais non effondrés et la normalité du bilan hormonal, orientent le diagnostic vers la MC et permettent d'éliminer l'AM. Néanmoins la méconnaissance de la maigreur constitutionnelle associée à une étiologie plus fréquente d'AM, peut conduire à une souffrance psychologique, des discriminations, et nécessite donc un diagnostic et un accompagnement spécifique.

C. Obésité :

a. Introduction, épidémiologie, conséquences :

L'obésité correspond à un excès de masse grasse et à une modification du tissu adipeux, entraînant des inconvénients pour la santé et pouvant éventuellement réduire l'espérance de vie. Ses causes sont complexes. Elle résulte de l'intrication de plusieurs facteurs, alimentaires, génétiques épigénétiques et environnementaux, impliqués dans le développement et la progression de cette maladie chronique.

- Prévalence :

La prévalence nationale est aujourd'hui de 17% sur les derniers relevés épidémiologiques contre une prévalence mondiale estimée par l'OMS à 13% soit 650 millions de personnes. En France nous observons un gradient nord/sud sur les dernières données OBEPI de 2012 en défaveur du nord où la prévalence atteignait 21.8% en 2012 (Figure 3).

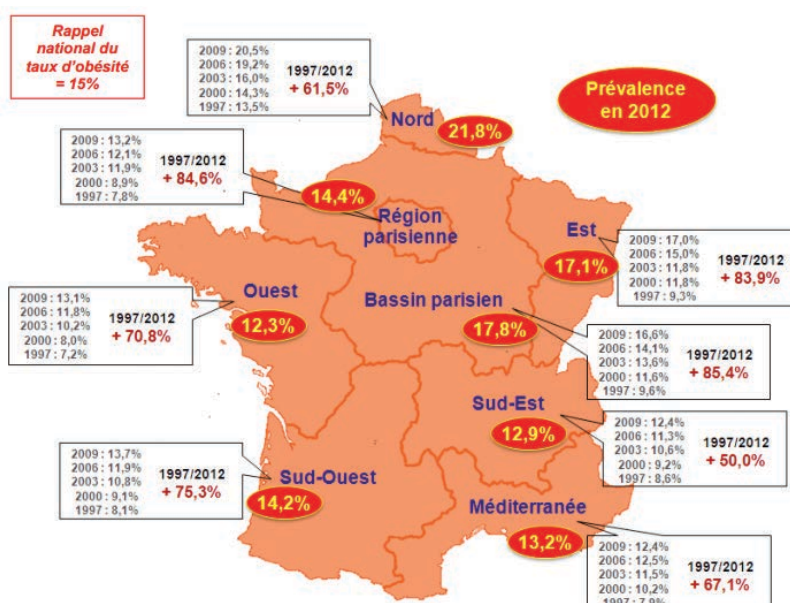


Figure 3 : Prévalence de l'obésité par région et son évolution (données OBEPI Roche 2012)

L'IMC moyen augmente régulièrement avec l'âge suivant une évolution « naturelle » du poids au cours de la vie (IMC moyen pour les 18-24 ans à 22.4 et 26.5 pour les 65 ans et plus) pour ensuite décroître pour des âges plus avancés en lien probable avec d'autres comorbidités. Par ailleurs les femmes semblent plus sujettes à l'obésité avec 15.7% de prévalence contre 14.3% pour les hommes sur les données OBEPI de 2012. Enfin, il existe d'importantes différences de prévalence entre catégories socio-professionnelles (CSP), touchant d'avantage les personnes à CSP moindre. Ce constat est identique sur le niveau d'instruction : la prévalence de l'obésité est inversement proportionnelle au niveau d'instruction.

- Comorbidités :

Les complications associées, en particulier le diabète de type 2 (44% des cas imputables au surpoids/obésité), les maladies cardiaques (23% des cas imputables) et les cancers (entre 7% et 41% des cas imputables au surpoids/obésité selon les localisations) entraînent le décès d'au moins 2,8 millions personnes chaque année dans le monde (données OMS). D'autres complications peuvent également apparaître en lien avec l'augmentation de l'IMC comme le syndrome d'apnées du sommeil, l'incontinence urinaire féminine, l'arthrose des membres inférieurs, l'infertilité ... Ainsi, le surpoids et l'obésité sont reconnus comme la cinquième cause de mortalité par l'OMS. En dehors du tabagisme, la proportion d'individus présentant des facteurs de risque cardio-vasculaires associés augmente avec l'IMC. La probabilité d'avoir 3 facteurs de risque cardio-vasculaires traités chez les obèses est 14 fois plus importante que chez les sujets de corpulence normale (30). Au-delà des comorbidités somatiques habituellement énoncées, il ne faut pas omettre l'altération de la santé mentale de ces personnes présentant des critères de fragilité psychologique : de très nombreux syndromes dépressifs sont décrits (31), à la fois comme facteur étiologique à l'obésité associé à un trouble du comportement alimentaire (32), ou en conséquence à l'obésité de par la stigmatisation que celle-ci induit (33).

b. Anthropométrie :

En miroir de l'AM, l'obésité se caractérise également par un déséquilibre de la balance énergétique, en faveur des réserves avec davantage d'apports caloriques que de dépenses. Le diagnostic de cette obésité est à ce jour trop simpliste car posé sur le seul critère de l'IMC sans tenir compte de la composition corporelle même si naturellement la plupart des IMC élevés présentent une masse grasse importante et une morbidité plus importante (34). Néanmoins certains cas d'obésité demeurent protecteurs en cas de maladie chronique (35).

L'obésité sera malgré tout définie pour un IMC supérieur à 30 kg/m² avec une gradation en fonction de la sévérité (grade 1 entre 30 et 35, grade 2 entre 35 et 40, et grade 3 > 40). Les obésités de classe 3, demeurent relativement faibles 1.2% en regard des IMC faibles représentant 3.5% de la population (30) (Figure 4).

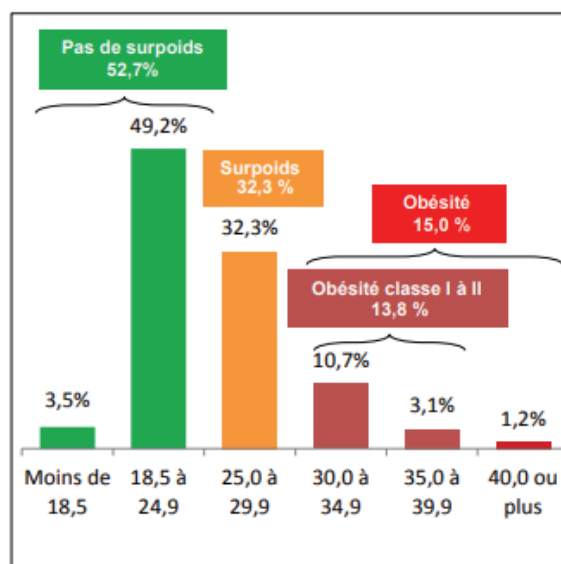


Figure 4 : Répartition de la population en fonction de l'IMC (données OBEPI Roche 2012)

c. Facteurs étiologiques :

Comme précisé plus haut, l'origine de la prise de poids est liée à un déséquilibre de la balance énergétique où les ingestas deviennent supérieurs aux dépenses avec comme résultante une prise progressive de poids. Néanmoins afin de ne pas tomber dans le stéréotype du sujet obèse ayant une alimentation à haute densité énergétique et une grande sédentarité, il convient de s'interroger sur les facteurs sous-tendant ce phénomène. Le comportement alimentaire a ainsi une place prépondérante. Bien sûr de nombreux autres facteurs sont à l'œuvre expliquant que certaines personnes soient plus sujettes aux variations de poids que d'autres.

- Facteurs génétiques :

Les prédispositions génétiques jouent ici un très grand rôle : en effet un individu a deux à huit fois plus de chances d'être obèse si des membres de sa famille le sont eux même. De nombreux gènes ont été identifiés comme étant impliqués dans la prise de poids mais chacun d'entre eux pris individuellement n'a au final qu'un faible rôle dans la pathogénèse de l'obésité : cela correspond au modèle polygénique de l'obésité (36). Il existe en revanche des obésités monogéniques liées à une anomalie sur un gène unique comme c'est le cas dans des formes d'obésité rare de l'enfant, très précoces et très sévères. L'identification de mutations dans les gènes de la voie leptine/mélanocortines a permis de faire progresser leur diagnostic et leurs traitements avec des effets spectaculaires comme par exemple dans le cas de déficit en leptine traité par leptine recombinante (37).

- Facteurs environnementaux :

L'abondance alimentaire des pays développés et émergents avec des rations plus importantes par exemple aux USA (38), associée à une sédentarité plus importante liée à une moindre activité physique de transport et professionnelle expliquent en partie le déséquilibre

de la balance énergétique. La composition des rations est aussi à prendre en compte avec des produits davantage industrialisés, donc plus gras et plus palatables, et plus denses en énergie pour un rassasiement moindre. Le sommeil, le microbiote, l'anxiété, l'environnement périnatal sont autant de facteurs à intégrer dans le modèle plurifactoriel de la maladie obésité.

d. Troubles du comportement alimentaire du sujet obèse :

- Hyperphagie :

L'hyperphagie n'est pas considérée comme un TCA dans le DSM 5. Le TCA est en effet défini comme étant une perturbation du comportement alimentaire avec un excès sous la forme de crises alimentaires, ou un déficit d'apports caloriques. Compte tenu de l'apport calorique conséquent chez un sujet obèse présentant une hyperphagie, par définition au cours du repas, ce comportement alimentaire entraîne une obésité sévère avec parfois un excès de poids irréversible car l'équilibre énergétique est décentré. Dans ce concept, l'obésité pourrait être secondaire à un habitus alimentaire anormal mais non inclus dans la sphère des TCA à proprement parler. Par contre, l'obésité peut être secondaire un réel trouble du comportement alimentaire comme le BED (Binge eating disorder), classifié dans le DSM 5 (9).

- Binge Eating Disorder :

Le Binge Eating Disorder (BED) est caractérisé par des crises alimentaires fréquentes, constituées de grandes quantités de nourriture, en l'absence de sensation de faim le plus souvent. Pour être diagnostiqué selon le DSM 5 (9), le BED doit se manifester par des épisodes récurrents de crises alimentaires avec perte de contrôle, une fois par semaine pendant 3 mois (39). Ces crises sont associées à un sentiment de dégoût de soi, une grande culpabilité et une détresse en rapport avec ces crises alimentaires (40). Le BED n'est pas associé à la pratique de comportements compensatoires présents dans les comportements boulimiques (pas de purge ou d'hyperactivité physique). A contrario de l'AM, le BED peut affecter n'importe qui, en regard de l'âge, du genre, ou de l'ethnicité (41). Les données épidémiologiques suggèrent une répartition à parts égales hommes / femmes. Cette pathologie est souvent associée à des jeûnes courts ou la répétition de régimes restrictifs en réponse à une prise de poids et à la culpabilité suivant une crise. Le BED est souvent un outil de gestion émotionnelle chez des individus ayant une pathologie dépressive associée, ce qui permet de soulager certaines idéations ou ruminations (42). Le BED n'est donc en rien comparable à l'hyperphagie, du fait de sa fréquence, son intensité, ses déterminants et ses conséquences.

e. Conclusion :

À ce jour les possibilités pharmacologiques pour le traitement de l'obésité sont maigres, et se sont heurtées à de graves effets secondaires ayant conduit à leur interdiction, comme les anorexigènes sérotoninergiques et amphétaminiques à l'origine de dépressions graves et d'une proportion importante de suicides. Certaines thérapeutiques antidiabétiques comme la metformine ou les inhibiteurs du GLP-1 sont connus pour induire une perte de poids mais ils ne possèdent pas d'autorisation de mise sur le marché pour cette indication.

L'accompagnement nutritionnel et diététique de plus en plus encadré par des programmes d'éducation thérapeutique dédiés ayant pour but de normaliser la balance énergétique en induisant une restriction alimentaire tolérable et en majorant les dépenses énergétiques, ont mis en évidence des pertes de poids allant jusqu'à 10% du poids total (43). Malheureusement ces pertes de poids s'avèrent le plus souvent temporaires, à l'origine d'un phénomène de reprise de poids avec dégradation progressive de la composition corporelle engendrant des obésités sarcopéniques de plus en plus résistantes à la perte de poids. L'ANSES a d'ailleurs rédigé un rapport détaillé en 2010 confirmant l'inefficacité des régimes alimentaires restrictifs. La prise en charge du BED par psychothérapie a montré davantage d'efficacité en réduisant l'intensité et la fréquence des crises alimentaires, mais réussi tout au plus à stabiliser le poids.

Cela conduit de plus en plus de patients à se tourner vers des procédures chirurgicales dont la montée en puissance inquiétante a poussé les autorités à imposer un cadre d'indications, de préparation et de suivi strict compte tenu des fréquentes reprises de poids post opératoires et des éventuelles complications chirurgicales, nutritionnelles ou encore psychologiques.

II. REGULATION DE L'HOMÉOSTASIE ÉNERGETIQUE :

Le comportement alimentaire est une conduite complexe qui comporte de nombreux déterminants psychosociaux à la fois d'ordre individuel (neurobiologiques, psychopathologiques), mais aussi collectif (familiaux et culturels). Il désigne l'ensemble des actions d'un individu face à la consommation d'aliments. L'étude du comportement alimentaire et de ses perturbations définit un carrefour où interfèrent les champs neurophysiologiques, psychosensoriels, socioculturels, développementaux et affectifs. Le comportement alimentaire physiologique, dont la régulation appartient au système nerveux central, fait intervenir des systèmes hormonaux complexes permettant une adaptation précise de la prise alimentaire aux besoins énergétiques en fonction de l'état des réserves. Ce contrôle homéostatique peut être perturbé par des facteurs psychologiques et environnementaux (choix, disponibilité, quantité de nourriture) pouvant entraîner des dérégulations à l'origine de TCA avec pour conséquence un gain ou une perte de poids. Le comportement alimentaire est finement régulé afin d'assurer une balance énergétique équilibrée permettant de maintenir un niveau constant de masse grasse. La régulation s'effectue via deux composants: d'une part le système homéostatique contrôlé par l'hypothalamus et, d'autre part, le système hédonique basé sur les propriétés sensorielles de l'alimentation (44, 45).

A. Contrôle central hypothalamique de la prise alimentaire :

L'hypothalamus correspond à un ensemble de noyaux gris diencephaliques situés dans la paroi latérale du troisième ventricule. C'est une zone de petite taille représentant moins de 1 % du volume cérébral (taille d'une amande), ce qui contraste avec sa fonction extrêmement importante. En dehors de ses fonctions de régulation des comportements par ses relations étroites avec le système limbique et de ses fonctions de maintien de l'homéostasie par ses liens avec le système neuro-végétatif, l'hypothalamus possède un rôle capital de régulation de la fonction neuroendocrine, par ses connexions étroites avec l'hypophyse (46). Grâce à ses connexions avec l'hypophyse, l'hypothalamus est responsable de plusieurs processus métaboliques et d'autres activités du système nerveux autonome. Il permet la synthèse et la sécrétion de neurohormones hypothalamiques dans la tige hypophysaire (ou tige pituitaire), qui à leur tour stimulent ou inhibent la sécrétion d'hormones hypophysaires. Il intervient ainsi dans la régulation du système nerveux autonome et des fonctions endocrines. Il intervient également dans le contrôle d'une large gamme de fonctions corporelles comportementales, incluant la reproduction, la thermorégulation, le contrôle du rythme circadien ou encore la prise alimentaire.

L'hypothalamus a un rôle fondamental dans la régulation des apports alimentaires (faim, rassasiement). Des lésions expérimentales limitées à certaines sous-régions de l'hypothalamus (hypothalamus médio-basal ou l'aire hypothalamique latérale) sont à l'origine de changements considérables du statut pondéral et de la prise alimentaire. L'hypothalamus est également un centre intégrateur qui établit des liens entre les structures centrales et les signaux d'origines périphériques, principalement hormonaux, et déjà bien connus (leptine, ghréline, insuline...) permettant une modulation par rétrocontrôle des apports alimentaires et de la balance énergétique (47). Les hormones sériques comme la leptine, peuvent entrer en

contact avec le système nerveux central et atteindre leur cible hypothalamique en circulant grâce au liquide cérébro spinal (LCS) qui est un vecteur de communication essentiel dans le cerveau (48). La faim et la perception du caractère récompensant de l'alimentation sont aussi médiées par des circuits hypothalamiques notamment au niveau du noyau arqué, liant le statut énergétique au comportement de motivation et de quête de l'alimentation (49).

a. Anatomie générale :

L'hypothalamus est constitué de plusieurs sous-structures, appelées noyaux. Ces noyaux sont des ensembles anatomiquement indépendants de neurones qui assurent diverses fonctions. L'une des fonctions les plus importantes de l'hypothalamus est de réaliser la liaison entre le système nerveux et le système endocrinien via l'axe hypothalamo-hypophysaire. Comme son nom l'indique, l'hypothalamus est situé en dessous du thalamus, juste au-dessus du tronc cérébral et forme la partie ventrale du diencephale (Figure 5). Tous les vertébrés possèdent un hypothalamus. Il se compose de trois régions parasagittales adjacentes (périvericulaire, médiale et latérale) lesquelles se subdivisent selon un axe antéro-postérieur en des régions pré-optique, antérieure, tubérale et mammillaire. Se distinguent ainsi les noyaux pairs suivant : noyaux pré-optiques (périvericulaire et médial), noyau suprachiasmatique (périvericulaire), noyaux paraventriculaires (périvericulaire et médial), noyau antérieur (médial), noyau infundibulaire ou noyau arqué (périvericulaire), noyau ventro-médial, noyau dorso-médial, noyau hypothalamique postérieur, noyaux prémamillaires dorsal et ventral, noyaux mamillaires latéral et médial, noyaux tubéro-mamillaires médial et latéral, noyau hypothalamique latéral.

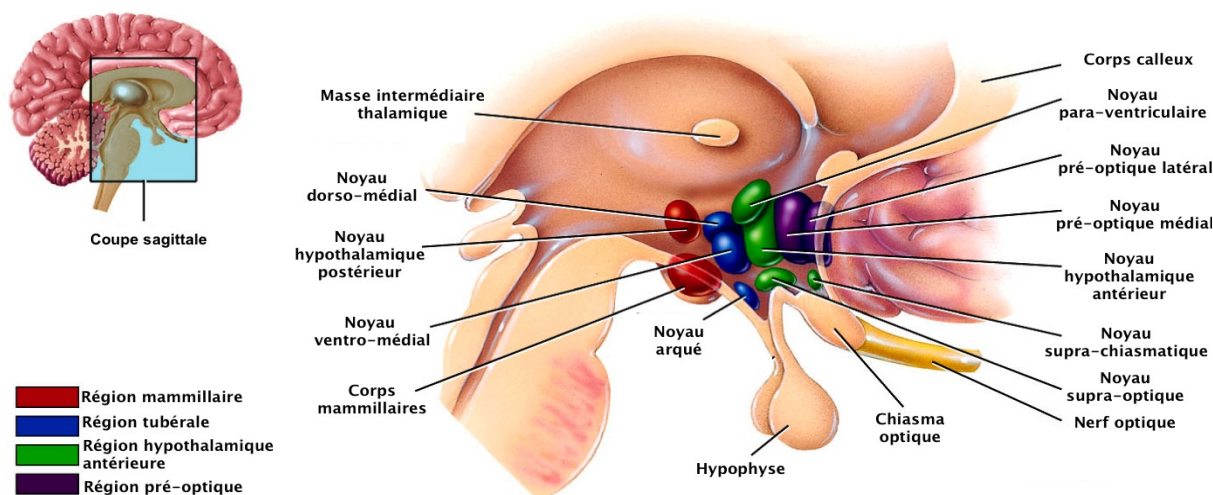


Figure 5 : Noyaux hypothalamiques, vue schématique traduit de (50)

b. Le noyau arqué hypothalamique (ARH) :

L'ARH (ou noyau infundibulaire) a un rôle central dans la signalisation des messages périphériques aux autres structures par plusieurs mécanismes. Comme vu précédemment il est situé dans la partie la plus ventrale du troisième ventricule. Cette partie du cerveau (où l'ARH

et l'éminence médiane sont adjacents) est capable de recevoir les signaux provenant de la périphérie (hormones, facteurs ...) car il y a été mis en évidence des capillaires fenêtrés par lesquels la signalisation peut diffuser librement et rapidement (51). Cette localisation anatomique particulière fait de l'ARH le 1^{er} relais hypothalamique existant entre les organes périphériques et le système nerveux central. De plus, des mécanismes de remodelage de cellules gliales appelées tanocytes, en fonction de la glycémie, modulent la perméabilité de ces capillaires fenêtrés. Il est donc accessible aux messages circulants comme la leptine (libérée par les adipocytes), l'insuline (pancréas) et la ghréline (estomac et duodénum), qui ne peuvent franchir la barrière hémato-encéphalique dans les autres zones de l'encéphale. En se liant à leurs récepteurs respectifs dans l'ARH, ces hormones modifient l'activité des neurones hypothalamiques et participent à la régulation du statut énergétique (52).

L'ARH contient les corps cellulaires de deux populations neuronales clefs permettant une régulation de la prise alimentaire (52) (Figure 6) :

- Des neurones anorexigènes à POMC (pro-opiomelanocortine), précurseur protéique de deux classes de peptides : les mélanocortines comme l' α -MSH (alpha-melanocyte-stimulating hormone) et de la CART (cocaine and amphetamine regulated transcript). Les peptides α -MSH et CART exercent une action inhibitrice sur la prise alimentaire (53). La délétion du gène codant POMC induit le développement de l'obésité (54). Cette dernière donnée est en adéquation avec les observations effectuées chez les patients présentant des mutations dans le gène codant la POMC (55). Les neurones à POMC sont principalement glutamatergiques (56), GABAergiques pour un tiers d'entre eux (57). Ce constat est très intrigant dans la mesure où nous avons retrouvé un tonus glutamatergique majoré chez les patientes anorexiques mentales (résultats de l'axe 1).
- Des neurones orexigènes contenant deux puissants stimulateurs de la prise alimentaire, le NPY (neuropeptide Y) et l'AgRP (agouti-gene-related protein). Les neuropeptides exprimés par ces cellules stimulent la prise alimentaire (58). Ces neurones présentent un phénotype de nature GABAergique (59). Bien que les données pharmacologiques démontrent l'implication du NPY et de l'AgRP dans la régulation de la prise alimentaire, contrairement aux neurones POMC, la délétion des gènes codant NPY et AgRP ne conduit pas à des modifications majeures du poids corporel, suggérant l'existence de mécanismes compensatoires (60).

L'activation de ces neurones conduit respectivement à inhiber ou activer la prise alimentaire. Ces neurones maintiennent des relations réciproques dans le but de coordonner et contrebalancer leur activité. Ils envoient de multiples projections en dehors du noyau arqué dans des régions hypothalamiques, notamment vers l'aire hypothalamique latérale (LHA) et le noyau paraventriculaire (PVN), formant ainsi deux circuits neuronaux clefs. Ainsi pour la plupart des individus, ces connexions permettent d'augmenter la sensation de faim et la motivation à manger lorsque la balance énergétique est négative (quantité de nourriture ingérée moins importante que la quantité d'énergie utilisée) et vice versa en cas d'une balance

énergétique positive. Diverses études morphologiques ont démontré l'existence d'interactions entre les deux populations neuronales coexistant dans le noyau arqué (61) (Figure 6). Les neurones du noyau arqué constituent de plus un site d'expression privilégié des récepteurs aux signaux de régulation de la prise alimentaire tels que la leptine (62) ou l'insuline (63). En réponse à ces signaux satiétogènes, les neurones à NPY sont hyperpolarisés et voient leur taux de décharge des potentiels d'action diminuer. Le tonus inhibiteur qu'ils exerçaient sur les neurones à POMC est alors levé et les neurones à POMC sont dépolarisés permettant in fine d'inhiber la prise alimentaire (64).

Les neurones de 1^{er} ordre du noyau arqué constituent donc un relais essentiel entre la périphérie et le système nerveux central. Leur activité est modulée en réponse aux signaux périphériques. Ces neurones émettent aussi des projections vers les neurones de 2nd ordre des noyaux paraventriculaires et de l'aire hypothalamique latérale (Figure 6).

c. Le noyau paraventriculaire (PVN) :

Situés de part et d'autre du 3^{ème} ventricule, les noyaux paraventriculaires sont des centres intégrateurs des ARH, recevant des projections en provenance des neurones à NPY/AgRP et POMC/ α -MSH (65) dont les terminaisons sont riches en neurotransmetteurs impliqués dans la modification de l'appétit. Le transfert d'information entre l'ARH et le PVN est crucial pour la transformation des signaux nutritionnels arrivant à l'hypothalamus vers des signaux effecteurs permettant des changements métaboliques. L'axe ARH-PVN définit ainsi un circuit neuronal clef dans la régulation du comportement alimentaire (66). Il reçoit également des signaux monoaminergiques et notamment la sérotonine, ayant une action anorexigène en inhibant le NPY. De plus il module les axes thyroïdiens et corticotropes. Une destruction de cette partie de l'hypothalamus médio-basal entraîne une hyperphagie et une obésité. Les neurones du PVN expriment, d'une part, la forme 4 du récepteur aux mélanocortine (MC4R) ayant pour agoniste l' α -MSH et antagoniste l'AgRP et, d'autre part, le récepteur au NPY. Ainsi, des micro-injections intracébroventriculaires de neuropeptide Y ont une action stimulatrice sur la prise alimentaire (67) tandis que des micro-injections intracébroventriculaires de neuropeptides anorexigènes tels que l' α -MSH ou CART exercent une action inhibitrice (68). Par ailleurs, le noyau paraventriculaire est le lieu de synthèse de neuropeptides anorexigènes de 2nd ordre tels que la CRH (Corticotropin Releasing Hormone) ou la TRH (69).

d. L'aire hypothalamique latérale (LHA) :

L'LHA est historiquement considérée comme le « centre de la faim ». En effet sa destruction entraîne une diminution de la prise alimentaire et un amaigrissement, tandis que sa stimulation électrique entraîne une majoration de la prise alimentaire. Elle contient des récepteurs à NPY (70) ainsi que des neurones glucosensibles au statut métabolique et donc à la glycémie (71). L'LHA reçoit des afférences de l'ARH (Figure 6). Cela inclut des populations de neurones orexigéniques hypocréatine/orexine (ORX) et à MCH (melanin-concentrating hormone) (72). En plus de leurs propriétés orexigènes, les orexines sont impliquées dans l'éveil et l'initiation du comportement de recherche de nourriture. Ces

neurones émettent des projections, non seulement vers l'hypothalamus, mais également vers les structures impliquées dans la motivation, la mémoire et l'apprentissage, telles que l'hippocampe, l'amygdale, les ganglions de la base, ou encore le thalamus.

La LHA émet des projections vers le tronc cérébral et la moelle épinière, contrôlant ainsi la composante parasympathique du système nerveux autonome et se trouve impliquée dans la régulation de prise alimentaire à court comme à long terme.

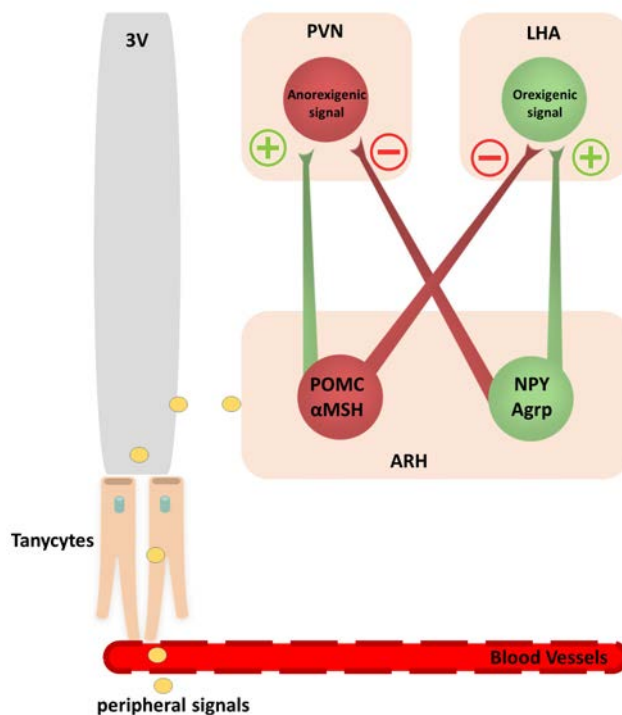


Figure 6 : Contrôle hypothalamique de la prise alimentaire

Neurones NPY/AGRP (en vert) et POMC/CART (en rouge) dans l'ARH. Les neurones de l'ARH sont régulés par différentes hormones périphériques et projettent des terminaisons nerveuses vers le PVN et l'LHA. Les hormones périphériques passent au travers de fins vaisseaux capillaires dont l'endothélium est fenêtré. Au niveau de l'éminence médiane, les hormones sont ensuite transportées dans les tanocytes (cellules gliales) pour être libérées dans le liquide cérébro-spinal du 3^{ème} ventricule (3V) et ainsi atteindre l'hypothalamus. Les neurones à NPY/AgRP activent un signal orexigénique et inhibent les voies anorexigéniques. Les neurones à POMC/αMSH activent les voies anorexigéniques du PVN et inhibent les voies orexigéniques de l'LHA. ARH : noyau arqué. LHA : aire hypothalamique latérale. PVN : noyau paraventriculaire. 3V : 3^{ème} ventricule.

Via les afférences qu'ils reçoivent du noyau arqué, les noyaux hypothalamiques de 2nd ordre constituent un niveau d'intégration supérieur des signaux régulant l'homéostasie énergétique. Il serait toutefois inexact de considérer qu'ils remplissent un simple rôle d'intégrateurs « passifs » des signaux envoyés par le noyau arqué. En effet un dialogue réciproque ainsi qu'un trafic bidirectionnel existent entre les noyaux de 1^{er} et de 2nd ordre.

Ainsi, les noyaux de 2nd ordre envoient eux aussi des prolongements en direction du noyau arqué, modifiant activement les informations qui leur seront transmises par la suite.

B. Contrôle central extra-hypothalamique de la prise alimentaire :

L'hypothalamus reçoit également des afférences en provenance d'autres structures du SNC, elles aussi impliquées dans l'homéostasie énergétique.

a. Le noyau du tractus solitaire (NTS) :

Situé dans le tronc cérébral et complémentaire à l'ARH, il joue un rôle prépondérant puisqu'il intègre et relaie des informations nerveuses provenant du tractus digestif via le nerf vague (73). Il est en étroite communication avec l'ARH par un réseau neuronal important. Il reçoit également des informations hormonales (leptine, insuline) relayées ou non par l'ARH.

b. Le cortex orbitofrontal (COF) :

C'est un site de convergence de l'information sensorielle qui transite par les aires corticales primaires du goût, de l'odorat, de la vue et de la somesthésie. Il est possible que des signaux viscéraux associés à la satiété atteignent le COF et modulent la représentation de l'aliment, constituant ainsi un signal qui reflète la valeur appétitive, récompensante de chaque aliment (74).

c. Système cognitif et limbique :

La prise alimentaire est sous l'influence de multiples afférences et efférences émanant des systèmes cognitifs et limbiques, impliquant les voies sérotoninergiques et dopaminergiques. La convergence de dysfonctions cérébrales aux croisements de ces systèmes pourrait favoriser la survenue de l'AM. Ces deux monoamines sont centrales dans la compréhension de l'AM car la sérotonine active les centres cérébraux de l'appétit et de la satiété, alors que les voies dopaminergiques sont impliquées dans la récompense. Les voies sérotoninergiques sont le relais de l'humeur, des processus de mémorisation, du sommeil et des processus cognitifs. Les voies dopaminergiques, qui font partie du système limbique, sont le relais de la récompense, du plaisir, de la motivation, de la fonction motrice et des comportements de compulsions et de persévération.

Le système limbique est le nom donné à un groupe de structures cérébrales jouant un rôle très important dans le comportement et en particulier, dans diverses émotions comme l'agressivité, la peur ou le plaisir, ainsi que la formation de la mémoire. On considère généralement que les principales composantes du système limbique sont les structures subcorticales suivantes :

- l'amygdale, qui joue un rôle important dans l'apprentissage, la mémorisation et la gestion des émotions. De plus l'amygdale coordonne la réponse corporelle à la

peur et à l'agression.

- l'hippocampe impliqué dans la formation de la mémoire à long terme
- corps mamillaires : petit amas de cellules nerveuses qui relaient les signaux au thalamus, contribuant ainsi à la vigilance et à la construction de la mémoire, et plus généralement l'hypothalamus
- le cortex limbique (gyrus cingulaire, gyrus parahippocampique), ayant un rôle dans la gestion du comportement
- le fornix, composé de neurones reliant l'hippocampe à l'hypothalamus

d. Autres :

Les ganglions de la base (ou noyaux gris centraux) comprennent un ensemble de noyaux sous-corticaux. Ces noyaux sont le noyau caudé et le putamen (formant le striatum), et les globus pallidus interne et externe (formant le pallidum), le noyau sub-thalamique et la substance noire. Connectés avec le cortex cérébral et le thalamus, ils jouent un rôle fondamental dans la motricité volontaire, mais aussi dans l'apprentissage, la mémoire et les émotions. Le rôle des ganglions de la base dans les émotions s'explique par le fait que la partie ventrale du striatum reçoit des projections neuronales du système limbique.

Le noyau accumbens, via des neurones dopaminergiques, va permettre d'attribuer une valeur hédonique à un aliment. L'action de la dopamine dans ces régions du cerveau augmente considérablement la sensation d'obtenir une « récompense ». L'expérience de « récompense » liée à la prise de nourriture est un facteur prépondérant dans le renforcement de comportements boulimiques dans lesquels le système homéostatique est largement dépassé par cette composante hédonique. Ce concept est renforcé par la découverte récente de liens fonctionnels entre des structures nerveuses appartenant au circuit dit « de récompense » comme le noyau accumbens et des structures hypothalamiques impliquées dans la régulation de la prise alimentaire comme l'hypothalamus latéral (LHA) ; des neurones de type orexigène de l'LHA recevraient ainsi une inhibition qui serait levée lors de l'activation du circuit dopaminergique. Les circuits neuronaux hypothalamiques impliqués dans la régulation homéostatique de la prise alimentaire sont donc en permanence influencés par le circuit limbique dopaminergique et réciproquement (75, 76).

C. Signalisation périphérique de la prise alimentaire :

L'homéostat énergétique résulte de rétrocontrôle entre le système périphérique et cerveau au niveau des populations neuronales précisées précédemment et contenant des neurotransmetteurs spécifiques au contrôle énergétique. Les neurones les exprimant reçoivent ces signaux périphériques de nature hormonale (leptine, ghréline, ...) ou métabolique (glycémie) et interagissent entre eux dans un sens agoniste ou antagoniste afin de permettre une régulation de court ou long terme de la balance énergétique (Figure 7).

La régulation de court terme est basée sur le retour d'hormones intestinales qui s'assurent que la quantité d'aliments ingérés soit adaptée, alors que la régulation de long terme est quant à elle liée au tissu adipeux s'assurant que les stocks énergétiques sont suffisants (49, 77). La régulation à court terme concerne l'initiation et la fin des repas. Elle est

directement liée à la prise alimentaire et élaborée grâce à des signaux, au cours de la prise alimentaire, de la digestion et de la métabolisation des nutriments. Ces signaux agissent sur le volume et la durée de la prise alimentaire, le rassasiement et la durée de satiété.

La régulation à long terme permet le maintien des stocks énergétiques. Elle est essentiellement de nature hormonale (insuline, leptine, ghréline) et implique notamment le tissu adipeux, le foie, les muscles. La régulation à long terme module l'impact des signaux à court terme sur les régions cérébrales en agissant directement sur les voies hypothalamiques contrôlant l'équilibre énergétique.

Il faut distinguer les facteurs déclenchant la faim de ceux maintenant la satiété : les signaux orexigéniques comme la ghréline qui est un des marqueurs de la faim et de l'initiation du repas. A l'opposé, les signaux anorexigéniques comme la leptine qui est une hormone produite principalement par le tissu adipeux. La leptine active les voies anorexigéniques POMC/CART et inhibe les voies orexigènes NPY / AgRP.

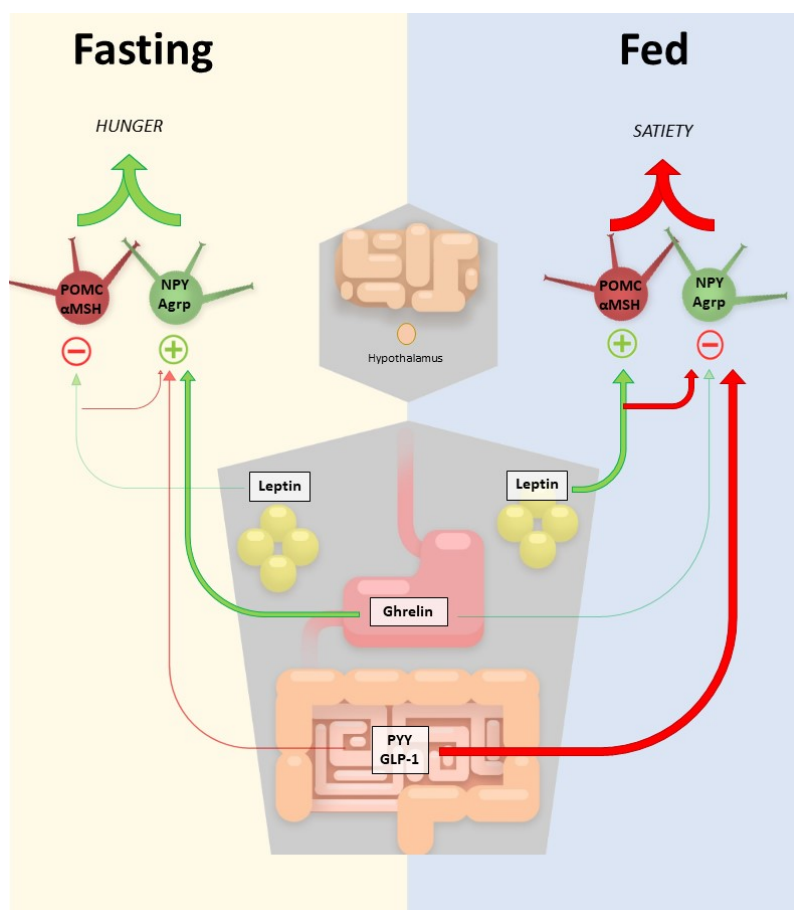


Figure 7 : Voies de régulation physiologiques périphérique de la prise alimentaire

Les voies de régulation périphérique de la prise alimentaire dépendent du statut nourri ou pas. Les signaux périphériques interagissent avec les neurones de l'ARH. Dans des conditions de jeûne, la concentration sérique de ghréline est augmentée, la leptine le PYY et le GLP-1 sont minorés : cela génère une sensation de faim. Après le repas, la concentration en ghréline est inhibée, la leptine, le GLP-1 et le PYY sont sécrétés : les voies anorexigéniques sont ainsi activées.

Ces différents mécanismes permettent une régulation très fine du comportement alimentaire tout au long de la vie chez la plupart des Hommes. Par exemple, nous mangeons approximativement 20 tonnes d'aliments entre 20 et 65 ans et il y a un delta de seulement 11 kg de poids pendant cette période (78). Dans certaines conditions, ce système de régulation échoue à maintenir un poids stable, parfois dans le cas de TCA.

a. La régulation à court terme (Figure 8):

L'initiation de la prise alimentaire correspondant à la « faim » équivaut à des sensations subjectives ressenties au niveau de l'estomac, quand on ressent le besoin de manger. La faim dite physiologique englobe l'état physiologique et métabolique en rapport avec un manque d'énergie. Elle est définie par Mattes comme une « sensation déclenchant un comportement de prise alimentaire sous le contrôle de nombreux mécanismes neuro-hormonaux mesurables » (79). Chez l'homme, la diminution de la glycémie induit une augmentation des sensations de faim et une motivation alimentaire appelée «faim glucoprive» (79). L'argument le plus convaincant en faveur de l'origine glucostatique d'une partie du signal de faim réside essentiellement dans la capacité du glucose, dans certains tissus, à fournir des substrats pour produire de l'adénosine triphosphate (ATP, facteur-clé du fonctionnement cellulaire). Le cerveau est pourvu de neurones glucosensibles ou de récepteurs au glucose notamment au niveau hypothalamique.

- Signaux sensoriels :

Les mécanismes sensoriels sont avant tout générés par la vue et l'odeur, qui peuvent induire des signaux physiologiques avant l'ingestion des aliments (phase céphalique, permettant d'anticiper l'ingestion d'aliments). Interviennent ensuite le goût, la température et la texture des aliments. Ces caractéristiques sensorielles de l'aliment déterminent sa palatabilité (c'est-à-dire son caractère agréable) qui joue un rôle important dans la quantité d'aliments consommée. Ainsi, la prise alimentaire a plus de chances d'être prolongée et au final augmentée si les aliments sont palatables, alors qu'elle s'arrête précocement si la sensation se révèle désagréable.

- Signaux digestifs :

Les mécanismes pré-absorptifs prennent naissance dans le tractus digestif avant l'absorption intestinale des nutriments et sont liés à plusieurs phénomènes. Parmi les plus connus, le taux de remplissage et la distension de l'estomac (80), découlant de l'arrivée des aliments, participent à la satiété précoce *via* la stimulation des mécanorécepteurs situés au niveau de la paroi gastrique et par la transmission d'un signal au système nerveux central par le nerf vague vers le noyau du tractus solitaire (NTS).

Par la suite, l'arrivée des aliments dans l'intestin stimule la sécrétion par les cellules gastriques et intestinales d'un certain nombre d'hormones ou peptides qui réduisent la prise alimentaire :

- Le Glucagon-Like Peptide 1 (GLP-1) est un peptide anorexigène produit dans l'iléon en réponse à l'arrivée de nutriments dans l'intestin de façon proportionnelle au contenu énergétique du repas (81). Des preuves indirectes suggèrent que la forme active du GLP-1 réduit la prise alimentaire et l'appétit à court terme (82). En périphérie, le GLP-1 module la digestion et stimule la sécrétion d'insuline (83). Au niveau central, le GLP-1 agit via l'activation de son récepteur, GLP-1R, majoritairement localisé dans l'hypothalamus médian (noyaux arqués et paraventriculaires) et le tronc cérébral. L'administration chronique de GLP-1 par voie veineuse ou par injection intracérébroventriculaire induit une diminution de la prise alimentaire associée à une diminution du poids corporel (84). Le GLP-2, autre forme du transcrite du gène codant le proglucagon, agit de manière complémentaire au GLP-1. Au niveau central, le GLP-2 est essentiellement retrouvé dans le noyau dorsomédian. Une injection intracérébroventriculaire de GLP-2 induit une diminution de la prise alimentaire via l'activation des neurones du noyau dorsomédian (85).

- Le peptide tyrosine-tyrosine (PYY) est sécrété par le tube digestif (iléon distal et côlon) en réponse à l'ingestion d'aliments et sa concentration reste élevée jusqu'à 6h après le repas. Sa libération dans la circulation sanguine est influencée par la densité calorique et la composition du bol alimentaire (les lipides étant les plus forts stimulateurs) ou encore la présence d'autres hormones. Le PYY a pour effet d'inhiber la prise alimentaire (86). Au niveau central, il stimule la libération d' α -MSH, inhibe la production de NPY au niveau du noyau arqué (87).

- L'insuline participe à la régulation de la glycémie et de l'utilisation des substrats énergétiques. Sa concentration plasmatique varie au cours de la journée et augmente principalement à la suite d'un repas contenant des glucides. Traversant la barrière hémato-méningée, elle atteint le système nerveux central ce qui, selon plusieurs études, aurait pour effet d'inhiber la prise alimentaire et l'appétit chez les sujets normo-pondéraux (88).

- La ghréline est un peptide synthétisé en grande majorité par l'épithélium de l'estomac et le duodénum bien qu'on le retrouve dans l'ensemble du tractus digestif. Il s'agit de l'unique signal périphérique orexigène connu à ce jour. Son taux circulant est élevé à jeun et atteint un pic juste avant un repas. Sa concentration chute rapidement après l'ingestion d'aliments, proportionnellement à l'énergie ingérée mais également à la teneur en certains macronutriments, les protéines inhibant plus fortement sa sécrétion que les glucides. L'action de la ghréline se révèle également dépendante de l'environnement hormonal. Au niveau du noyau arqué, elle active les neurones orexigènes, stimule la production de NPY et d'AgRP, et inhibe les neurones anorexigènes, s'opposant à l'action de la leptine et induisant ainsi une augmentation de la prise alimentaire et du poids corporel (89). La ghréline diminue la sécrétion ainsi que l'action anorexigène de la leptine, de même que la leptine réduit la sécrétion ainsi que l'action orexigène de la ghréline. Cette boucle de rétrocontrôle a été nommée le « tango ghrelin-leptine ». La ghréline est donc un des marqueurs de la faim et de l'initiation de la prise alimentaire (90). Des études menées chez l'animal ont montré que

l'administration intracérébroventriculaire de ghréline induisait une augmentation de la sensation de faim couplée à une augmentation de la prise alimentaire et de la masse adipeuse ainsi qu'à des sécrétions acides au niveau gastrique (91).

- la CCK (cholécystokinine) est une hormone peptidique sécrétée par les entérocytes de la partie proximale de l'intestin grêle. L'arrivée de protéines ou lipides dans le duodénum et le jéjunum stimule sa sécrétion dans la lumière et dans certains cas dans la circulation sanguine où sa concentration peut rester élevée jusqu'à 5h après la prise alimentaire. La CCK a fait l'objet de très nombreuses études qui, pour la grande majorité, montrent sa capacité à réduire la prise alimentaire. Son effet satiétogène serait potentialisé par la distension de l'estomac ou encore la sécrétion de leptine (92). La CCK régule la motricité intestinale et stimule les sécrétions pancréatiques et gastriques en périphérie. Dans le système nerveux central, elle agit notamment au niveau de l'aire hypothalamique latérale, du noyau dorsomédian, du noyau paraventriculaire ainsi que du noyau du tractus solitaire (93). Diverses études ont démontré que la CCK endogène exerçait un rôle de facteur de satiété à court terme régulant ainsi la taille du repas. L'administration de CCK au niveau périphérique ou central réduit la taille et la durée du repas (94).

Les mécanismes post-absorptifs dérivent principalement du métabolisme des macronutriments tout en maintenant les mécanismes de régulation de la phase pré-absorptive. L'élévation du glucose circulant, issu de la digestion des glucides, le métabolisme des peptides et acides aminés issus de la digestion des protéines, ainsi que l'assimilation des acides gras concourent au maintien de la satiété de par la production d'ATP notamment au niveau hépatique (95). L'action des signaux précédemment décrits est indispensable au contrôle de la prise alimentaire, cependant elle n'est pas suffisante pour induire à elle seule des modifications durables de la balance énergétique. La régulation à plus long terme est assurée par des signaux périphériques dits signaux d'adiposité.

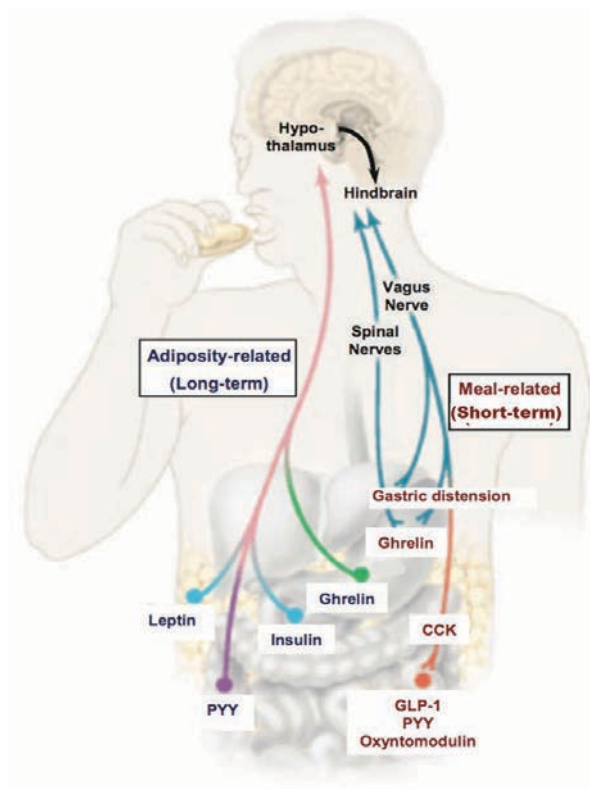


Figure 8 : Voies de régulation à court et long terme de la prise alimentaire (77)

b. La régulation à long terme :

De manière complémentaire aux signaux de court terme fortement liés au repas, les signaux de régulation de long terme sont quant à eux liés aux stocks énergétiques et donc au tissu adipeux. Ils exercent une action retardée sur le comportement alimentaire. Comme les signaux de court terme, ces signaux traversent la barrière hémato-encéphalique pour rejoindre leur cible hypothalamique. La leptine et l'insuline sont les signaux d'importance cruciale dans cette régulation.

- La leptine :

La leptine est une hormone principalement produite par le tissu adipeux découverte récemment (96). Cette hormone, produit du gène *ob* (*obese*) chez la souris et *LEP* chez l'Homme, lequel a été cloné pour la première fois à partir du tissu adipeux de souris génétiquement obèses, les souris *ob/ob*, est sécrétée dans la circulation sanguine proportionnellement à la quantité de tissu adipeux (Figure 9) et agit comme facteur de satiété pour diminuer la prise alimentaire (97) à la fois sur le court et le long terme.

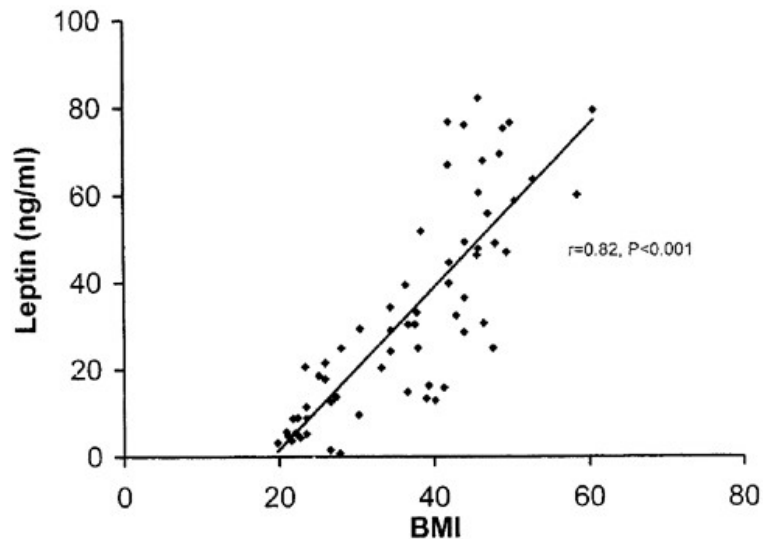


Figure 9 : Corrélation linéaire entre leptinémie et IMC (BMI : body mass index) (97)

Elle possède une action anorexigène puissante comme en témoigne le retour à un poids normal après injection de leptine des individus obèses ayant une déficience congénitale en leptine, ou encore sur les modèles murins mutants *ob/ob* (98, 99). En revanche, cet effet de la leptine est aboli chez les individus mutés sur le récepteur à la leptine *LepRb* (*db/db*) (100).

Chez l'homme, le gène codant la leptine se situe sur le chromosome 7 (101). La concentration de leptine circulante reflète à la fois la réserve énergétique de l'organisme (sa concentration basale est corrélée positivement à la masse adipeuse ce qui explique son niveau élevé chez les patients obèses) et la prise alimentaire (102). En situation d'équilibre énergétique, la concentration en leptine change en 4h environ en réponse à l'ingestion d'un repas lors de la période post-prandiale. Ainsi la leptine est un marqueur de variation des stocks énergétiques. La leptine inhibe la prise alimentaire et augmente la dépense énergétique par l'intermédiaire de son interaction avec ses récepteurs spécifiques de l'hypothalamus. Elle active les voies anorexigènes (POMC/CART) et inhibe les voies orexigènes (NPY/AgRP) et interagit avec les signaux de court et moyen termes (103) (Figure 9).

- Synthèse de la leptine :

La leptine est une hormone de 16 kDa majoritairement synthétisée par les adipocytes blancs et en moindre partie par le tissu adipeux brun. Comme vu plus haut, la leptine est synthétisée proportionnellement à la quantité de tissu adipeux et reflète ainsi le statut énergétique d'un individu. D'autres sites de sécrétion ectopique de moindre importance ont été constatés comme l'estomac, l'intestin, le foie, le muscle (104, 105)...

La sécrétion de la leptine est de nature pulsatile et va dépendre de la prise alimentaire avec une diminution de synthèse lors d'une période de jeûne et de restriction alimentaire, alors qu'une majoration de sécrétion va être observée en cas de prise alimentaire (106). La sécrétion de leptine a également un caractère circadien. On notera également que la synthèse de leptine semble favorisée par les œstrogènes et inhibée par la testostérone, les femmes ont

donc une leptinémie plus élevée que les hommes (107).

Dans un cadre pathologique, l'absence de production de leptine, l'absence de son récepteur ou la résistance à cette hormone, provoque une obésité sévère (par une hyperphagie et une réduction de la dépense énergétique), du diabète, une altération des fonctions de reproduction ou du système immunitaire. Au contraire, un taux élevé de leptine a pour conséquences une densité osseuse élevée.

Elle a également un rôle majeur dans la constitution des circuits neuronaux lors de l'embryogenèse chez la souris: en effet plusieurs études rapportent qu'un déficit en leptine lors de l'embryogenèse perturbe la formation des projections axonales entre l'ARH et le PVN (108), et l'injection à l'âge adulte de leptine ne rétablit pas ces connexions contrairement à la supplémentation au cours des premières semaines de vie.

Il existe un lien étroit entre leptine et insuline dans la mesure où cette dernière favorise la synthèse de la leptine.

- Signalisation de la leptine (Figure 10) :

La leptine est captée par son récepteur ObR codé par le gène *db* (ou *LepR* chez l'Homme codé par le gène *LEPR*) dont il existe 6 isoformes de « a » à « f ». Il dispose d'un domaine extracellulaire commun mais un domaine intracellulaire variable en fonction de l'isoforme. A noter qu'il existe une isoforme (la « e ») soluble jouant probablement un rôle dans le transport et l'accessibilité de la leptine. La fixation de la leptine entraîne un changement de conformation de son récepteur permettant le recrutement et l'activation de protéines médiatrices dans la mesure où le *LepR* ne possède pas d'activité kinase intrinsèque. La transduction du signal peut utiliser le couple de protéines tyrosine kinase JAK-2 (Janus Kinase) et STAT-3 (Signal transducer and activator of transcription) (109). La perte d'expression de STAT3 cérébrale entraîne sur des modèles murins une obésité et une hyperphagie. D'autres voies de signalisation ont été décrites comme la voie de SHP2 / MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase) qui implique la voie ERK (extracellular signal-regulated kinases). La leptine interagit aussi avec la voie JAK2/PI3K/Akt. La dernière voie de signalisation connue à ce jour est la voie AMP K (adénosine monophosphate kinase). L'AMP K est une kinase importante dans la régulation de l'homéostasie énergétique car elle possède un rôle de senseur des concentrations en ATP de la cellule. Dans l'hypothalamus l'AMP K est surtout active en période de jeûne. La prise alimentaire ou l'injection intracérébroventriculaire de leptine va inactiver l'AMP K dans l'ARH et le PVN réduisant ainsi son activité et la prise alimentaire (110). D'ailleurs l'inactivation hypothalamique de l'AMP K entraîne une augmentation du tonus sympathique dans le tissu adipeux blanc et brun.

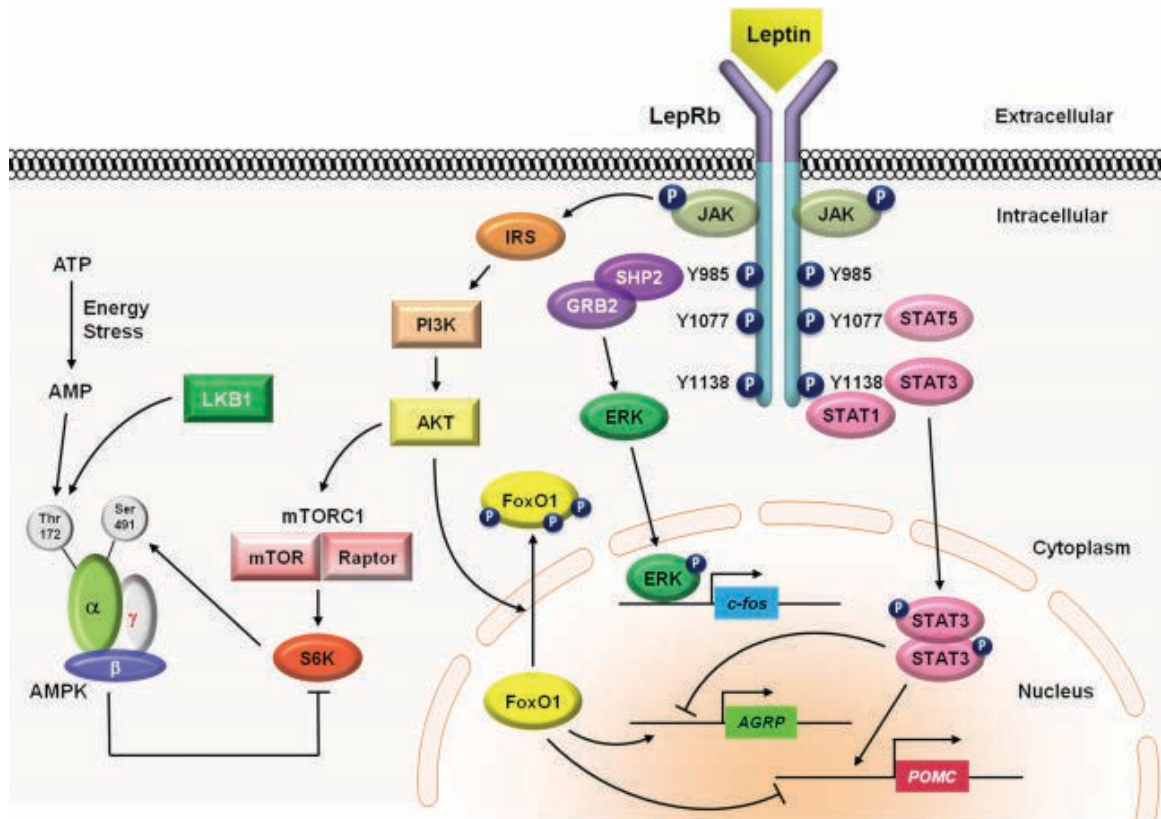


Figure 10 : Voies de signalisations du récepteur de la leptine

La leptine se lie à son récepteur qui active JAK–STAT3, PI3K, and ERK. Pour l'activation de JAK–STAT, la tyrosine kinase JAK-2 induit une cascade de phosphorylation conduisant à l'activation de STAT3 de de ERK. La leptine active également la voie Pi3K / Akt. Par ailleurs la leptine inhibe l'AMP K. via l'activation de mTOR/S6K dans l'hypothalamus, qui phosphoryle ensuite l'AMP K pour inhiber son activité (AgRP : agouti-related protein, FoxO1 : forkhead box protein O1, IRS : insulin receptor substrate, JAK : Janus kinase, PI3K : phosphatidylinositol 3-OH kinase, POMC : proopiomelanocortine, PTP1B : protein-tyrosine phosphatase 1B, SOCS3 : suppressor of cytokinesignaling 3, STAT : signal transducer and activator of transcription)

Au niveau du système nerveux central, LepR est majoritairement exprimé par l'hypothalamus, mais aussi par des structures cérébrales extra-hypothalamiques telles que l'hippocampe, le cortex frontal, le thalamus, le cervelet, l'amygdale et la substance noire ou encore certains noyaux du tronc cérébral comme le noyau du tractus solitaire (111). Dans l'hypothalamus, LepR est majoritairement exprimé par les neurones orexigènes et anorexigènes du noyau arqué, des noyaux dorso et ventro-médians ainsi que de l'aire hypothalamique latérale et du noyau paraventriculaire. D'ailleurs la majeure partie (98%) des neurones exprimant LepR au niveau du noyau arqué coexprime LepR et STAT-3. Les cellules astrocytaires expriment aussi l'isoforme longue du récepteur de la leptine notamment dans des modèles d'obésité, suggérant l'importance de ce type cellulaire dans la régulation de l'homéostasie énergétique.

- Action de la leptine sur le contrôle de l'homéostasie énergétique :

La leptine a comme cible le système nerveux central afin d'exercer son action anorexigène. Dans les modèles murins déficitaires en leptine (*ob/ob*), l'injection intracérébroventriculaire ou même périphérique en intrapéritonéal, induisent l'activation des neurones hypothalamiques et diminuent la prise alimentaire et le poids (112, 113). Au niveau du noyau arqué, la leptine active l'expression des neuropeptides anorexigènes POMC et CART (114) tout en inhibant l'expression des neuropeptides orexigènes NPY et AgRP en levant leur inhibition gabaergique qu'ils exercent sur les neurones anorexigènes (113). Si l'hypothalamus et tout particulièrement le noyau arqué remplissent un rôle primordial dans la régulation de la prise alimentaire par la leptine, le schéma d'action de l'hormone reste cependant particulièrement complexe du fait de la multiplicité des structures cérébrales sensibles à l'action de la leptine.

Par ailleurs, il faut également retenir que la leptine exerce diverses actions dans les processus de plasticité synaptique, ou encore dans le contrôle cognitif (les souris *db/db* déficientes sur le récepteur de la leptine présentent des déficits d'apprentissage). Enfin la leptine est également capable de favoriser la croissance et l'arborisation neuritique, et agit comme un agent neuroprotecteur en favorisant la survie neuronale et la prolifération cellulaire notamment dans la mise en place des réseaux neuronaux hypothalamiques (115).

- Insuline :

L'insuline a un rôle actif dans la régulation à court terme par sa réactivité lors de l'augmentation post-prandiale de la glycémie. Néanmoins elle joue également un rôle dans la régulation à long terme car son taux circulant est dépendant de la masse du tissu adipeux. Elle agit donc comme régulateur entre le métabolisme immédiat et le niveau de masse grasse. Son rôle ne sera pas détaillé ici.

Au total, les recherches menées sur le dialogue « système intestin-cerveau » ont permis d'approfondir la compréhension de ces systèmes complexes permettant de maintenir en situation physiologique des stocks énergétiques suffisants et constants. Le tableau 2 (116) présente une synthèse des signaux participant au contrôle de l'homéostasie énergétique. Cependant les hormones et neurotransmetteurs impliqués dans la régulation de l'appétit sont parfois impliqués dans d'autres systèmes de contrôle ou interagissent entre eux, limitant la pertinence de leur utilisation isolée comme biomarqueurs de l'appétit.

Molécules that stimulate feeding and reduce energy expenditure	Molécules that inhibits feeding and increase energy expenditure
Neuropeptide Y (NPY)	α -Melanocyte Stimulating Hormone (α -MSH)
Agouti-Related Protein (AgRP)	Cocaine & Amphetamine Related transcript (CART)
Melanin-Concentrating Hormone (MCH)	Urocortin
Galanin	Corticotropin-releasing factor (CRF)
Norepinephrine	Thyrotropin-releasing hormone (TRH)
Orexin A et B (or hypocretins)	Neurotensin
Opioids	Serotonin
Endocannabinoids	oxytocin
β -endorphin	<i>Leptin</i>
<i>Ghrelin</i>	<i>Insulin</i>
	<i>Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1)</i>
	<i>Peptide YY₃₋₃₆ (PYY₃₋₃₆)</i>
	<i>Oxyntomodulin</i>
	<i>Cholecystokinin (CCK)</i>
	<i>Oleylethanolamide (OEA)</i>
	<i>N-acylethanolamine (NAPE)</i>

Tableau 2 : Signaux périphériques et centraux impliqués dans la régulation de la balance énergétique (116)

Le contrôle de la balance énergétique dépend donc d'un équilibre subtil entre les signaux activant ou inhibant la prise alimentaire, produits par le système nerveux central ou par les organes en périphérie.

D. Facteurs environnementaux modulant la prise alimentaire :

a. Contrôle cognitif :

La prise alimentaire reste une nécessité physiologique mais elle est modulée par un comportement volontaire où la décision de l'individu est primordiale. Ainsi lorsque la prise alimentaire ne se prête pas au moment (obligations) l'individu retarde celle-ci. La restriction peut également être volontaire, c'est la « restriction cognitive », dans un but de perte pondérale (117).

b. Impact social et culturel :

La prise alimentaire n'est pas uniquement régulée par les sensations de faim et de satiété. En effet l'individu obéit à des règles sociales (heures des repas) dépendantes du style de vie (activité professionnelle). De la même façon l'image corporelle est différente selon les cultures et les époques et peuvent amener un individu à modifier sa prise alimentaire pour correspondre à un idéal.

c. Facteurs psychologiques :

L'implication des monoamines (dopamine, sérotonine, noradrénaline) dans le contrôle central et périphérique de la prise alimentaire est documentée par de nombreuses études. Ainsi l'humeur, les émotions, l'anxiété influencent les comportements alimentaires (par exemple syndrome dépressif et troubles de l'appétit). La confrontation des signaux sensoriels aux

facteurs psychologiques aboutit à une dimension émotionnelle (plaisir anticipé, dégoût, frustration...) qui module le comportement alimentaire.

d. Déterminants sensoriels de l'alimentation :

Ils ont un impact sur la quantité d'aliments ingérés. Les propriétés sensorielles des aliments déterminent leur palatabilité. En effet l'aspect, l'odeur et la texture des aliments permettent à un individu d'identifier un aliment et d'anticiper le plaisir ou le déplaisir lié à son ingestion. Ainsi ces signaux sensoriels sont déterminants et permettent à un individu de décider de l'ingestion ou non de l'aliment.

e. Action pharmacologique :

Plusieurs substances pharmacologiques ont pour effet secondaire de modifier le comportement alimentaire. En effet plusieurs traitements ont un effet orexigène : les psychotropes (benzodiazépines, IMAO, neuroleptiques), les corticoïdes, les androgènes ou encore les anabolisants. D'autres ont un effet anorexigène comme les amphétamines.

f. Etats pathologiques :

Les infections bactériennes ou virales provoquent des syndromes inflammatoires qui par l'intermédiaire de cytokines et de facteurs de l'inflammation diminuent la prise alimentaire. Ces facteurs anorexigènes sont également retrouvés dans d'autres maladies telles que les néoplasies.

E. Facteurs contrôlant la dépense énergétique :

La dépense énergétique peut être séparée en trois composantes : liée au métabolisme de base, liée à l'activité physique, et liée à la thermogénèse. Ces trois postes de dépense sont eux aussi finement régulés par le système nerveux central qui communique avec les stocks énergétiques du tissu adipeux. Celui-ci est principalement de deux types : le tissu adipeux blanc, le plus abondant, et le tissu adipeux brun. Les différents noyaux hypothalamiques impliqués dans la régulation de la prise alimentaire semblent également participer à la régulation des dépenses énergétiques, comme l'ARH, le PVN et la LHA (118).

Cette communication permet d'activer la thermogénèse du tissu adipeux brun et la lipolyse du tissu adipeux blanc permettant ainsi de maintenir la température corporelle, de dissiper la chaleur au cours d'un effort physique ou après le repas (thermogénèse post prandiale). Au niveau du tissu adipeux brun, ce phénomène repose sur l'activation de protéines spécialisées (les uncoupling protein 1 UCP-1) via des terminaisons β adrénergiques qui ensuite découplent la chaîne respiratoire mitochondriale du tissu adipeux brun en produisant ainsi de l'adénosine triphosphate (ATP) et beaucoup de chaleur.

L'axe thyroïdien joue également un grand rôle de messenger. Via une activation de l'axe hypothalamo-hypophysaire thyroïdien, la production des hormones thyroïdiennes dont

la T3, induisent l'augmentation du métabolisme de base et la thermogénèse du tissu adipeux brun via l'activation d'UCP-1 (119). Chez les patientes anorexiques mentales amaigries, ce métabolisme de base est justement effondré avec de grandes hypothermies réactionnelles et une baisse drastique de la sécrétion d'hormone thyroïdienne T3 appelé « syndrome basse T3 » qui est un mécanisme adaptatif à l'amaigrissement qu'il ne faut jamais tenter de corriger (120). Enfin la leptine, produite par le tissu adipeux blanc a bien sur un rôle crucial.

F. Conclusion :

La régulation de la prise alimentaire et des dépenses énergétiques dépend d'une communication complexe et permanente entre les structures centrales, en particulier l'hypothalamus, et les signaux hormonaux circulants de faim et de satiété comme la leptine, la ghréline ou l'insuline, provenant de la périphérie (tissu adipeux et tractus gastro-intestinal).

L'hypothalamus joue un rôle crucial dans le maintien de l'homéostasie en maintenant un apport énergétique adapté au poids corporel. Mais le rôle des structures centrales impliquées dans la motivation et la récompense comme le système mésolimbique dopaminergique, où se définit la valeur hédonique des aliments, ne doit pas être négligé.

Malgré toute la précision du système de régulation visant à maintenir la balance énergétique, de nombreux paramètres viennent sans cesse perturber cet équilibre : les aliments eux-mêmes (la palatabilité), les caractéristiques physiques et psychologiques du mangeur ou encore l'environnement. Ces éléments viennent brouiller l'ensemble des signaux hormonaux et nerveux émis par l'organisme assurant cette régulation physiologique et étant à l'origine de modifications du poids.

III. PERTURBATIONS NEUROENDOCRINOLOGIQUES DES TCA:

De plus en plus d'évidences sur l'influence de facteurs biologiques impliquant de nombreuses voies de régulation sont désormais reconnues dans les TCA (121, 122). Depuis des modèles animaux vers des applications cliniques, la compréhension du contrôle du comportement alimentaire progresse particulièrement dans les voies de régulations homéostatiques présentées plus haut. En effet, chez l'Homme, les concentrations de différents peptides reconnus comme indispensables dans la régulation de l'appétit, varient à la fois dans le sang et le LCS chez des personnes souffrants de TCA. Ce premier constat sera le point de départ des explorations prévues dans l'**axe 2** de cette thèse. De nombreuses recherches ont été faites sur les neurotransmetteurs, neuropeptides ou peptides périphériques impliqués dans la régulation de la prise alimentaire. Mais il reste à ce jour difficile de dire si ces changements sont les causes, les facteurs de maintien, ou les conséquences des aberrations nutritionnelles reliées aux TCA.

A. Modèles animaux dans les TCA :

A cause de la nature complexe des TCA, les modèles animaux actuels ne peuvent qu'apporter que quelques traits caractéristiques de la pathologie humaine mais ne peuvent pas permettre l'étude d'aspects spécifiques de la maladie. Le développement de modèles animaux de TCA nous montre différentes voies de signalisations impliquées dans les TCA (123):

a. Anorexie mentale :

Afin de mieux appréhender comment les circuits neuronaux contribuent à une vulnérabilité ou comment ceux-ci peuvent être affectés par l'AM, différents modèles murins ont été mis au point.

Le premier est le modèle ABA (activity based anorexia). Ce modèle est basé sur un phénomène comportemental chez les souris mimant des symptômes clef de l'anorexie : l'hyperactivité et la restriction alimentaire. Quand ces souris qui ont un accès libre à un exercice physique volontaire via une roue, sont soumises à une restriction alimentaire, elles deviennent « hyperactives » en courant davantage que des animaux nourris normalement. Ce phénomène conduit même à une réduction plus importante des apports alimentaires et au décès des animaux. Ce phénomène met en lumière la majoration de l'activité physique et la réduction du poids en réponse à la restriction alimentaire chez les animaux (124). On notera qu'Ancl's Keys en 1950 avait observé un phénomène similaire sur un groupe de jeunes hommes soumis à une restriction alimentaire durant 6 mois. Lors de la levée de la restriction alimentaire, une hyperactivité physique était observée...

D'autres modèles sont basés sur des phénotypes de stress (constat selon lequel différents événements de vie sont souvent impliqués dans la genèse de l'AM). Ces modèles provoquent des pertes de poids avec une perte d'appétit mais la façon d'y parvenir pourrait fausser l'étude neurobiologique (températures froides, pincement de la queue, neurostimulation...) (125, 126). Des modèles de stress non physique existent pour se

rapprocher du stress psychologique comme l'isolement des animaux qui peut induire une dépression chez la souris (127) avec anorexie secondaire, phénomène également observé chez l'Homme.

Les modèles de restriction alimentaire consistent simplement à administrer des rations allégées (moins de 50% de la ration quotidienne habituelle). Cette restriction alimentaire est néanmoins imposée aux animaux et ne reflète donc pas la restriction alimentaire de l'anorexie qui elle est volontaire. Cela paraît donc erroné d'interpréter les anomalies neurobiologiques qui en découlent comme étant liées à un TCA (128).

Ensuite il existe différents modèles génétiques de mutations sur des gènes cibles, conduisant à différents phénotypes, de l'anorexie à l'obésité. Concernant l'anorexie, le plus connu est le modèle *anx/anx* (Figure 11) qui présente une prise alimentaire faible, conduisant à un marasme et une mort prématurée 20 à 30 jours après la naissance (129, 130). Ces souris ont des voies de régulation hypothalamiques défaillantes, notamment sur les neurones orexigènes (NPY and AgRP) (131) secondaires à une dégénérescence des neurones hypothalamiques à AgRP (132). D'autres modèles mutés sur le gène de la ghréline ou de son récepteur existent : ceux-ci ont un sous-poids et une dépense énergétique plus élevée (133). Enfin d'autres modèles avec des anomalies sur les récepteurs opioïdes, sérotoninergiques ou dopaminergiques existent également (134).



Figure 11 : souris *anx/anx* comparée à une souris non mutée (135)

b. Obésité :

Les premiers modèles animaux avaient été obtenus en causant des lésions cérébrales dans certaines régions spécifiques du cerveau comme des subrégions hypothalamiques : l'aire hypothalamique latérale (LHA) en tant qu' « aire de la faim », l'hypothalamus ventromédial VMH, paraventriculaire PVN et dorsomédial DMH en tant que « centres de la satiété » (136).

Ensuite de nombreux modèles génétiques existent (137). Le plus connu est le modèle *ob/ob* (Figure 12) déficient en leptine obtenu par une mutation spontanée dans le gène encodant la leptine (138) ou encore les souris *db/db* présentant un récepteur à la leptine muté (100). Ces souris deviennent toutes les deux obèses par hyperphagie et par diminution de leur dépense énergétique.

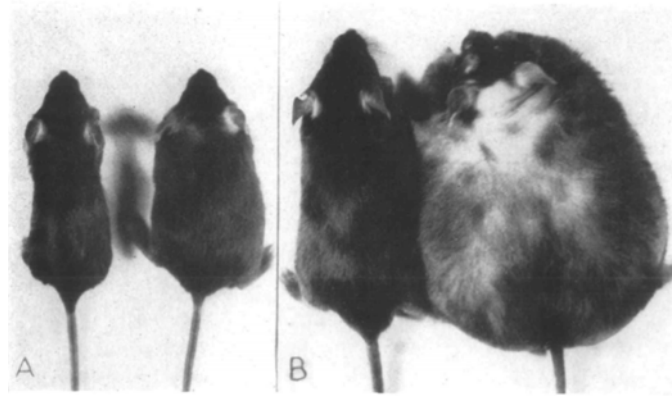


Figure 12 : Phénotype de souris obèses *ob/ob* (139)

A : souris contrôle sur la gauche et *ob/ob* sur la droite à 21 jours de vie.

B : les mêmes souris âgées de 10 mois

D'autres modèles appelés DIO pour (Diet Induced Obesity) étant très sensibles aux régimes riches en graisse dits high-fat diet (HFD) deviennent obèses par ce biais (140). Ce modèle est très intéressant car il imite le comportement alimentaire humain à l'origine de la plupart des cas d'obésité non comportementales.

Ensuite, il existe certains modèles murins se rapprochant du binge eating disorder (BED). Le premier consiste à imposer une restriction alimentaire à l'animal (mimant la restriction cognitive humaine) puis à réintroduire l'alimentation *ad libitum*. Cela conduit la souris à présenter un comportement "binge-like" (141). Le même constat est effectué quand les animaux subissent une restriction alimentaire plus durable causant une perte de poids avant de les réalimenter, le comportement des animaux étant alors marqué par une majoration des prises alimentaires (142). Néanmoins il faut souligner que ces prises alimentaires importantes résultent d'une sensation de faim importante chez les animaux et pas du lâcher prise boulimique décrit chez l'Homme.

En conclusion, les modèles animaux de TCA ont permis des avancées significatives dans la compréhension des anomalies neurobiologiques observées dans les TCA en science fondamentale. Malheureusement, ces modèles demeurent imparfaits car ils ne présentent pas les symptômes définissant les TCA humains et c'est pour cela que des essais en recherche translationnelle et clinique sont nécessaires.

B. Peptides Centraux chez l'Homme :

a. AgRP and NPY :

Agouti-related peptide (AgRP) est un neuropeptide libéré avec le neuropeptide Y au niveau des neurones de l'ARH afin d'activer l'appétit. AgRP and NPY sont en effet de puissants facteurs orexigéniques et sont inhibés par la leptine (49):

- AgRP: chez les AM, les seuils plasmatiques à jeun sont nettement majorés (143, 144), et ne sont pas corrélés à la concentration plasmatique de la leptine qui est drastiquement réduite chez les AM en conséquence d'un faible niveau de tissu

adipeux. Chez des individus obèses, la concentration plasmatique en AgRP est nettement diminuée par rapport aux individus de poids normaux (145). De plus les concentrations hypothalamiques sont également diminuées par rapport à des contrôles normopondéraux (146). En définitive, cela suggère que chez les personnes obèses, la boucle AgRP subit un rétrocontrôle négatif en conséquence compensatoire de l'obésité et ce neuropeptide ne pourrait donc pas être responsable de l'hyperphagie caractéristique de l'obésité (147).

- NPY: Concernant le NPY, les concentrations plasmatiques dans l'anorexie sont variables en fonction des études (7): majorées (148, 149), comparables aux contrôles de poids normal (150, 151), ou diminuées (152). Par contre dans le LCS de patients AM, le NPY est significativement élevé et de manière reproductible (153, 154). Le NPY semble présenter au niveau central une rétroaction positive dans un stade de dénutrition chronique et échoue à majorer la prise alimentaire suggérant que le NPY joue un rôle dans l'incapacité des patients AM à adapter leur prise alimentaire à leur dépense énergétique notamment en phase d'amaigrissement. L'administration de petit déjeuner riches en glucides induit une diminution significative de la ghréline plasmatique en réponse à la prise alimentaire chez les AM, alors que le NPY demeure haut même en post prandial (155), comme si il fallait promouvoir la prise alimentaire chez les AM même après un repas. Les seuils plasmatiques de NPY chez les sujets obèses sont significativement moins importants (145, 146) ainsi que dans le LCS (156) ce qui paraît cohérent en regard de la situation d'excès énergétique.

b. α -MSH et POMC :

Le neuropeptide anorexigénique α -melanocyte-stimulating hormone (α -MSH) provient du clivage de l'hormone pro-opiomelanocortine (POMC). L' α -MSH est l'antagoniste compétitif de l'AgRP au niveau des récepteurs à mélanocortine (MC3R and MC4R) (143).

Chez les AM les concentrations plasmatiques d' α -MSH sont soit normales (143) soit diminuées (150) de façon adaptée en regard du sous poids.

Les neurones à POMC de l'hypothalamus sont d'importantes cibles de la leptine (157) et il est d'ailleurs décrit des cas d'obésité humaine liés à une déficience en POMC engendrant une sensation de faim exacerbée, une augmentation des prises alimentaires et donc une prise de poids importante (158). Il a d'ailleurs été suggéré que le dysfonctionnement du mélanocortine 4 receptor (MC4R) contribuait au développement du binge eating disorder (BED) des sujets obèses (159). Une étude décrit également que l' α -MSH est diminuée chez une population de jeunes obèses (145).

Une des autres pistes étudiées de cette dérégulation est l'apparition d'anticorps contre l' α -MSH chez l'AM en condition de stress (160). Dans cette étude il y a une corrélation forte entre les symptômes de TCA (sur le score du Eating Disorder Inventory-2 questionnaire (161)) et du niveau d'anticorps anti α -MSH (162). Cela semble être justement ces anticorps qui interfèrent avec la transduction du signal induit par la prise alimentaire et impliquant le circuit des mélanocortines.

C. Peptides périphériques chez l'Homme :

a. Leptine

Comme vu plus haut la leptine est un puissant activateur des voies anorexigéniques de courts et longs termes. La leptine stimule les neurones anorexigéniques à POMC de l'hypothalamus et inhibe les neurones orexigéniques à NPY et AgRP (163).

Chez les AM la leptine plasmatique et centrale (dans le LCS) est drastiquement basse voir indosable, avec une parfaite corrélation à l'IMC et au niveau de masse grasse qui dans ce cas est diminué (164). D'ailleurs, l'hypoleptinémie est considérée comme étant un biomarqueur de l'AM et avec l'IMC cela constitue un marqueur utile afin de distinguer les AM des minces constitutionnelles (MC) (164). Les seuils de leptine observés chez l'AM sont typiquement plus bas que ceux observés chez des individus MC d'IMC identiques principalement en lien avec une composition corporelle différente (moins de tissu adipeux chez les AM) (165). Ces altérations de leptinémie et de leptine centrale disparaissent avec la reprise de poids (121, 166-169) et d'ailleurs il est décrit une hyperleptinémie chez les patients AM en cours de renutrition comparée à des IMC identiques ce qui constitue probablement un frein à la poursuite de la renutrition (168). Le rythme circadien de la leptine est également altéré chez les AM avec une atténuation de la diminution nocturne physiologique (170).

Curieusement chez les patients obèses présentant un BED, la leptinémie à jeun est majorée comparé à des individus obèses simplement hyperphages sans BED (171) peut être car l'apport calorique avant la phase de jeûne est plus importante chez ces patients ou plus impulsive. Plusieurs études chez des sujets obèses ont montré que la leptinémie est positivement corrélée et très proche du niveau de masse grasse et donc de l'IMC (163, 172, 173). La leptine sérique entre dans le SNC en proportion du degré d'adiposité et ce passage de leptine circulante à la leptine dans le LCS est gravement altéré chez les patients obèses (174, 175): ce phénomène appelé la "leptinorésistance" (176) est détaillé dans le chapitre suivant.

b. Ghréline :

La ghréline sous sa forme acétylée active, est une hormone orexigène puissante produite par des cellules endocrines de l'estomac. Les concentrations plasmatiques de ghréline changent avant et après un repas : il y a un pic avant le repas afin de promouvoir l'appétit et après la prise alimentaire il y a une diminution rapide. Chez les AM et les individus en sous poids, on observe une ghrélinémie à jeun nettement supérieure à la normale (177-180) et semble correspondre à une réponse adaptative à la dénutrition chronique. Par ailleurs la ghrélinémie est inversement associée à l'IMC chez les obèses ou les AM (181). Cela corrobore les données cliniques retrouvant que les AM ont une sensation de faim qui persiste et qui est importante au début de la maladie en phase d'amaigrissement (182). Après l'ingestion de glucose, la cinétique négative de la ghréline plasmatique est significativement inhibée chez les patientes AM comme si la sensation de faim devait persister après un repas dans un contexte de dénutrition. C'est le concept de "ghrélinorésistance" qui reflète l'incapacité de la ghréline à induire l'appétit chez les AM chronicisés (183).

Chez les patients BED, les niveaux de ghréline sont diminués à jeun le matin par

rapport aux contrôles et en post prandial, la ghréline diminue de manière moins sévère chez les patients obèses avec BED versus les patients obèses sans (184) traduisant un éventuel comportement alimentaire impulsif malgré le rassasiement hormonalement induit. Chez les patients obèses hyperphages, la ghréline est toujours diminuée à jeun, et ses niveaux inférieurs aux contrôles montrent bien que la ghréline subit un rétrocontrôle négatif en réponse à l'hyperphagie ou à l'excès de poids (177, 180, 185, 186). D'ailleurs la ghréline augmente significativement chez les patients obèses perdant du poids comme si la régulation tenait à revenir au poids antérieur en promouvant la prise alimentaire (187). Dans une autre publication, on retrouve une ghrélinémie à jeun matinale à la fois diminuée chez des individus BED avec et sans surpoids, suggérant que le TCA BED crée un statut spécifique de la ghréline, de manière indépendante au poids (188).

c. PYY (peptide YY) :

Le peptide YY est sécrété par les cellules de l'intestin distal et est une hormone anorexigène avec une concentration inversement corrélée à l'IMC. De manière contradictoire, le niveau de PYY à jeun est majoré chez les AM comparé aux sujets de poids normal, et après un repas sa sécrétion est favorisée mais temporisée (154, 189, 190). Ces données suggèrent que le PYY supprime l'appétit chez les AM et contribue à la diminution des ingestas en maintenant un comportement alimentaire pathologique et restrictif.

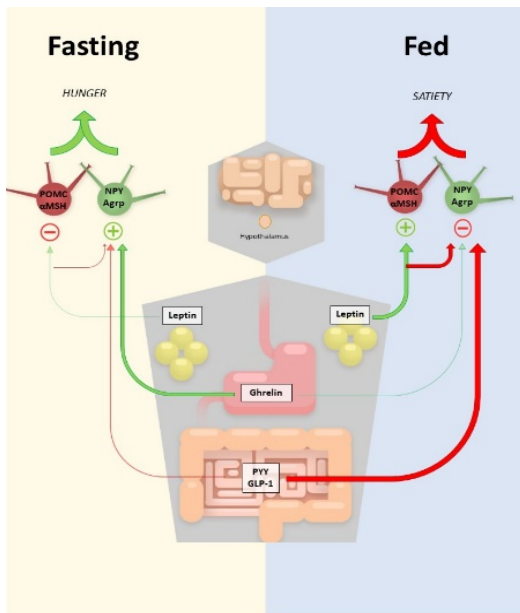
Chez les individus obèses les niveaux de PYY sont plus bas que chez des individus contrôles avant le repas avec une corrélation négative entre les concentrations de PYY à jeun et IMC. Le PYY diminue significativement moins en post prandial chez les obèses suggérant là aussi une dysfonction dans le relargage du PYY (191) sans différence significative entre les patients obèses avec ou sans BED (192).

d. Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) :

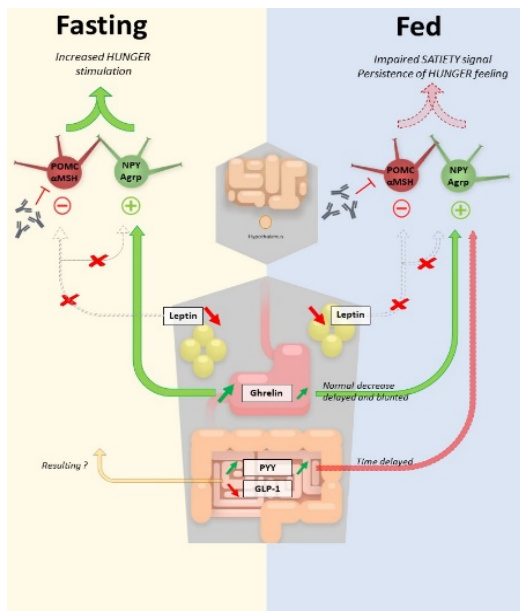
Le GLP-1 promeut la satiété. Ce peptide est sécrété par la partie terminale de l'intestin grêle (l'iléon). Il a une action de ralentissement de la vidange gastrique aux solides et aux liquides ce qui peut réduire la prise alimentaire en provoquant une plus grande distension de l'estomac. Cette action est bien connue pour provoquer un amaigrissement significatif chez les patients diabétiques de type 2 bénéficiant d'un traitement agoniste du GLP-1. Le stimulus majeur activant la sécrétion du GLP-1 est la présence de nutriments dans la lumière intestinale, notamment les lipides et les glucides. La réponse de sécrétion de GLP-1 va ainsi dépendre du volume du repas et du niveau de remplissage de l'estomac (193). Les concentrations de GLP-1 sont plus basses chez les AM comparés aux sujets de poids normaux (194), liés aux moindres apports alimentaires.

La condition "obèse" ne change en rien les seuils de GLP-1 à jeun (195, 196), mais une réduction de la sécrétion de 25% après un repas est observée chez les obèses insulino-résistants pouvant être à l'origine de l'hyperphagie par défaut d'inhibition du remplissage de l'estomac à l'origine d'une prise de poids ou de sa pérennisation (194, 195, 197).

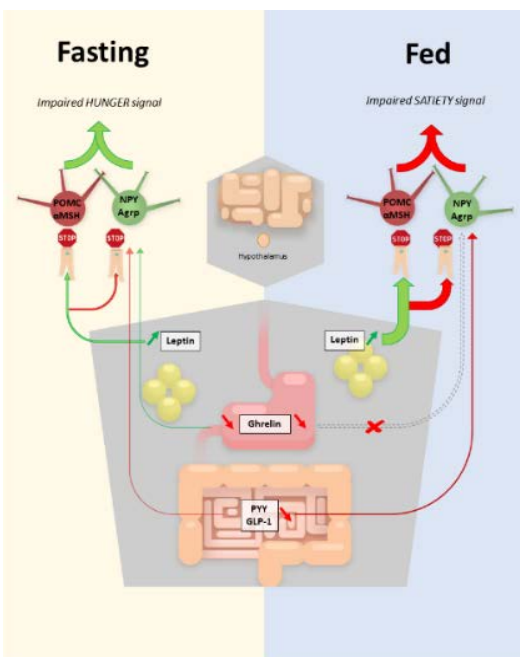
En conclusion, nous pouvons résumer les différentes aberrations hormonales connues à ce jour comme contribuant ou résultant de TCA sur le schéma suivant (Figure 13) :



Normal eating behavior



**Restrictive eating behavior :
anorexia nervosa**



Obesity

Figure 13 : Possibles altérations des voies de régulation centrales et périphériques chez les patients AM et obèses

Les voies de régulation de la prise alimentaire dépendent du statut nourri ou à jeun, avec des signaux périphériques interagissant avec les neurones de l'ARH.

Comportement alimentaire physiologique : dans un statut à jeun, la concentration en ghréline est augmentée, la leptine, le GLP-1 et le PYY sont inhibés : cela génère une sensation de faim. Après le repas, la ghréline est inhibée, la leptine, le GLP-1 et le PYY sont favorisés : les voies anorexigènes sont ainsi actives.

Dans l'AM, dans les deux états à jeun et nourri, on observe une hypoleptinémie et une hyperghrélinémie. La sécrétion post prandiale de PYY est décalée. Des auto-anticorps peuvent être dirigés contre l' α -MSH. Ces changements sont à l'origine d'un signal de satiété perturbé et une sensation de faim stimulée.

Dans l'obésité hyperphagique, la ghréline circulante est inhibée, la sécrétion de leptine est importante avant et après le repas mais n'atteint pas sa cible hypothalamique étant donné la leptinorésistance au niveau des tanycytes. Ces changements perturbent les signaux de faim et de satiété.

IV. TANYCYTES HYPOTHALAMIQUES, BARRIERE

HEMATOENCEPHALIQUE ET ROLE DANS LA REGULATION DE L'HOMÉOSTASIE ÉNERGETIQUE :

A. Balance énergétique, résistance à la leptine et obésité :

Comme vu plus haut, différents signaux informent en permanence le système nerveux central de l'état actuel des réserves énergétiques ou de la prise alimentaire afin d'adapter les dépenses énergétiques et le comportement alimentaire. Néanmoins le prérequis de ce système est que ces signaux atteignent leur cible hypothalamique en franchissant des interfaces séparant le sang du parenchyme nerveux.

Dans un cadre pathologique chez le sujet obèse, malgré des concentrations importantes en leptine sérique, elle échoue à inhiber la prise alimentaire. En effet les formes d'obésité par déficit en leptine sont très rares chez l'Homme et se traitent facilement par l'injection de cette hormone, alors que l'obésité liée à l'hyperphagie semble bien plus fréquente. L'excès de tissu adipeux accompagné d'hyperleptinémie ne suffit pas à diminuer la prise alimentaire ou à majorer la dépense énergétique (172). D'ailleurs le traitement à la leptine chez ces patients ne provoque qu'une perte de poids modeste (198). Ces constats ont soulevé l'hypothèse d'un mécanisme de résistance hormonale à l'action de la leptine, ces sujets obèses ne régulant pas leur balance énergétique malgré des concentrations de leptine endogène importantes ou l'injection de leptine exogène (en l'absence de mutation) (176). L'obésité ou la consommation d'un régime gras (modèle DIO pour Diet induce obesity chez la souris) menant à ce phénomène de résistance.

Les mécanismes à l'origine de cette résistance à la leptine sont mal compris à ce jour mais différentes pistes restent plausibles :

- Anomalie du transport à travers la barrière hémato encéphalique (BHE) vers le liquide cérébro spinal (LCS) mis en évidence par une décroissance du ratio leptine dans le LCS / leptine sérique dans l'obésité (174, 175) (Figure 14)
- Anomalie du transport vers les sites d'action au niveau du système nerveux central (199).
- Anomalie de transduction du signal au niveau du récepteur de la leptine LepR (200).

Il est aujourd'hui reconnu que la leptinorésistance, investiguée dans de nombreuses études sur des souris DIO, se développe en trois phases (201):

- o Réponse métabolique normale à des seuils élevés de leptine et sensibilité à la leptine exogène.
- o Leptinorésistance périphérique avec une insensibilité à des seuils de leptine périphérique élevés, apparition d'une insensibilité à la leptine exogène administrée en intrapéritonéal, persistance d'une sensibilité à la leptine exogène administrée en intracérébroventriculaire.
- o Leptinorésistance centrale avec une insensibilité à des seuils de leptine

périphérique et centrale élevés, même en cas d'administration intracérébroventriculaire.

Dans les deux derniers cas, cette leptinorésistance est à l'origine d'une prise de poids, d'une hyperphagie, et de la non-activation de pSTAT3.

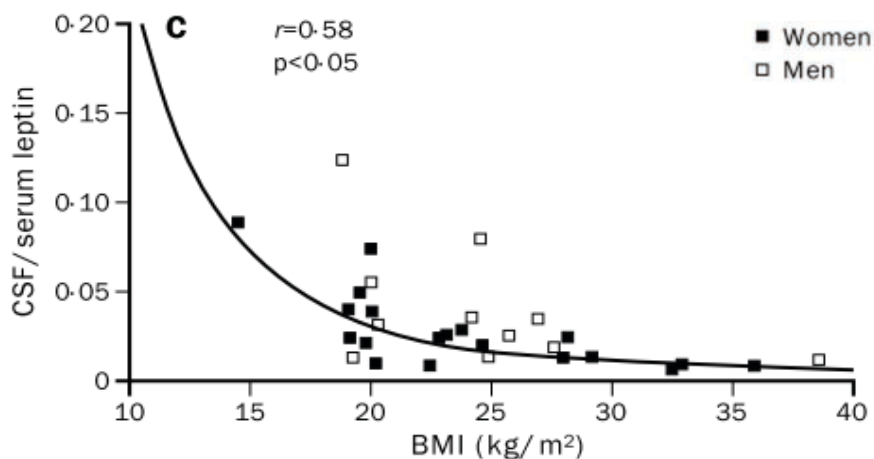


Figure 14 : Corrélation négative entre le ratio leptine LCS / leptinémie et le BMI (174)

B. Les Tanocytes :

Les tanocytes sont une population de cellules gliales non ciliées de l'épendyme, localisées sur le plancher du 3ème ventricule dans l'hypothalamus tubéral. Bien que les tanocytes partagent des spécificités communes avec les astrocytes, ils conservent une morphologie unique et des fonctionnalités distinctes (202). Les tanocytes sont des cellules hautement polarisées, leurs corps cellulaires sont localisés dans les parois du 3^{ème} ventricule et leurs prolongements s'étendent dans le parenchyme cérébral au contact de la pie mère (203-205). Les tanocytes sont impliqués dans la régulation de fonctions hypothalamiques clés comme la reproduction ou le métabolisme, grâce à leur capacité à contrôler de façon dynamique le passage de neuropeptides hypothalamiques dans le système porte hypothalamo-hypophysaire (206). Cette capacité de « barrière tanocytaire » leur est possible étant donné leur localisation entre le compartiment ventriculaire baigné par le liquide cérébro-spinal (LCS), et les vaisseaux fenêtrés. Par ailleurs les tanocytes captent les variations de glycémie (207, 208), et régulent les échanges sanguins hypothalamiques (48, 209, 210).

C. Fonctions de la barrière hémato-encéphalique (BHE) :

La barrière hémato-encéphalique est capitale pour le maintien de l'homéostasie cérébrale en prévenant l'exposition directe du parenchyme cérébral aux molécules voyageant dans la circulation sanguine. Dans la majorité des compartiments cérébraux, la barrière hémato-encéphalique est constituée de l'association d'astrocytes, de péricytes et de cellules endothéliales jointes par des complexes de protéines de jonction serrées (211) qui jouent un rôle clef dans le fonctionnement de la BHE. En effet, cette organisation assure l'imperméabilité de ce complexe cellulaire et bloque le passage de facteurs circulants au travers des fentes intercellulaires. La BHE empêche la diffusion passive de molécules à transport hémotogène, pas uniquement du sang vers le cerveau mais aussi du sang vers le LCS. Cet obstacle physique formé par la BHE, nécessite l'existence de mécanismes de transport spécifiques afin que certaines molécules puissent atteindre le cerveau (212).

D. Spécificités de l'éminence médiane et des organes circumventriculaires :

Le noyau arqué hypothalamique, chef d'orchestre de la régulation énergétique, est situé à proximité de l'éminence médiane, qui fait partie des organes circumventriculaires. Pour maintenir la balance énergétique, une communication bidirectionnelle entre le cerveau et la périphérie est requise. Cela est possible grâce à l'existence de ces organes circumventriculaires (OCV). En effet, les OCV contiennent des neurones chémosensibles, des dendrites sensorielles et des processus neuronaux neuroendocrines. Ils sont la « fenêtre du cerveau », ouverts vers la périphérie (213-216). Dans ces structures cérébrales atypiques longeant le troisième et le quatrième ventricule, se trouve un plexus important de vaisseaux capillaires fenêtrés, formant l'interface entre le système sanguin et le cerveau (217). Cela permet les échanges sanguins avec les OCV. Mais ces régions sont séparées du parenchyme cérébral environnant par une barrière dont la composition reste à ce jour inconnue, et séparées du LCS par la barrière épendymaire constituée de cellules tanycyaires (214), ainsi les molécules sanguines ne diffusent pas des OCV vers le reste du cerveau.

Dans l'éminence médiane comme dans les autres OCV, le type cellulaire impliqué dans la BHE est représenté par les tanocytes et non les cellules endothéliales.

E. Interface sang/cerveau & interface sang/LCS :

Les tanocytes régulent les échanges entre le compartiment ventriculaire baigné par le LCS et les vaisseaux fenêtrés en formant ainsi une barrière tanocytaire (48). Au niveau des OCVs, ces tanocytes forment cette barrière en organisant des complexes jonctionnels, ce qui permet de maintenir l'homéostasie cérébrale alors que les vaisseaux fenêtrés de ces structures qui sont perméables ne le permettent pas (214, 218).

Dans le cerveau il y a donc deux types de barrières hémato encéphaliques : la BHE "classique" constituant une barrière entre le sang et le parenchyme cérébral composée de cellules endothéliales exprimant des jonctions serrées et d'astrocytes, et la barrière des OCVs composée de tanocytes arborant des jonctions serrées (barrière tanocytaire) et des cellules endothéliales fenêtrées (Figure 15).

La dynamique de la barrière de l'éminence médiane implique une coordination étroite entre les tanocytes et les cellules endothéliales. Comme dans les autres OCVs, les vaisseaux de l'éminence médiane sont non seulement dépourvus de jonctions serrées, mais comporte aussi un endothélium décoré de pores, ou fenêtres, qui mettent en communication le sang et l'espace péricapillaire et permettent l'échange de macromolécules entre les deux compartiments. Les tanocytes entrent en contact par leurs terminaisons podales avec l'espace péricapillaire au regard de ces vaisseaux fenêtrés qui appartiennent, dans l'éminence médiane, au système sanguin porte hypothalamo-hypophysaire. Les corps cellulaires des tanocytes bordent le plancher du troisième ventricule et sont joints entre eux par des complexes de protéines jonctionnelles organisées en jonctions serrées prévenant ainsi la diffusion passive entre les corps cellulaires de molécules extravasées des vaisseaux perméables vers le LCS (51, 218). Les tanocytes composent donc une barrière physique entre la circulation sanguine et le LCS dans cette région cérébrale.

Cependant dans l'ARH, les tanocytes qui entrent en contact par leurs extensions podales avec des capillaires présentant des propriétés de la BHE, expriment aussi des protéines de jonctions au niveau de leur corps cellulaire, cependant celles-ci ne sont pas organisées en complexes jonctionnels étanches, ce qui permet la diffusion passive de molécules entre le LCS et le parenchyme nerveux (27). Certains vaisseaux de l'ARH portant les propriétés de BHE proviennent d'anses vasculaires originaires de l'éminence médiane (les anses intrainfendibulaires) (219) et peuvent changer de propriété en fonction de l'état physiologique de l'animal et passer d'un état de capillaire de la BHE à celui de capillaire fenêtré (17). Ce changement d'état semble être piloté par les tanocytes (cf. paragraphe suivant) dont les propriétés de barrière changent au cours du processus : les tanocytes de l'ARH organisent les protéines de jonction qu'ils expriment en complexe jonctionnel serré quand le vaisseau sur lequel ils abouchent bascule d'un phénotype de capillaire de la BHE vers celui de capillaire fenêtré afin de protéger le LCS des molécules diffusant à travers les pores du capillaire néo fenêtré. (17).

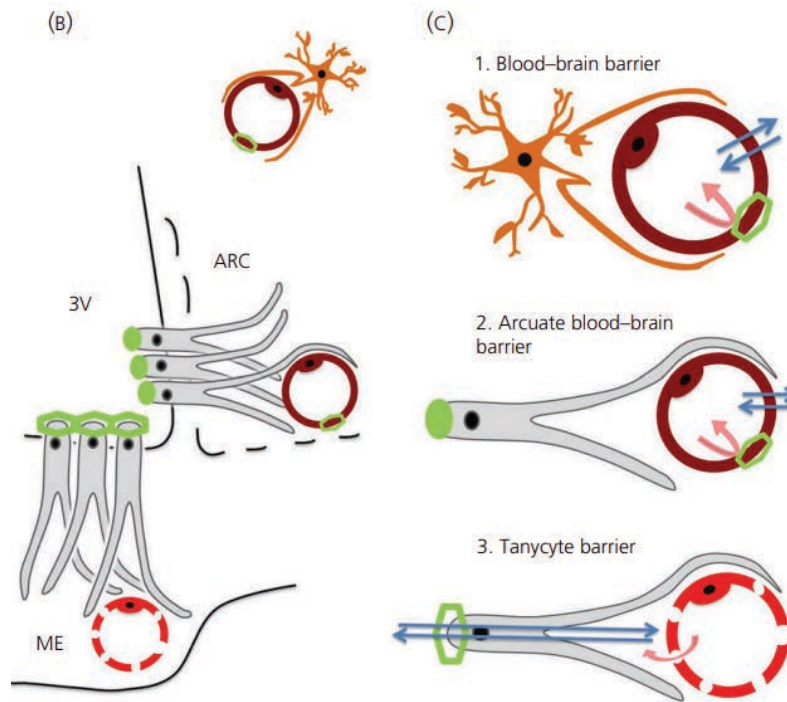


Figure 15 : Représentation schématique de l'hypothalamus tubéral (B) avec les différentes interfaces sang / cerveau (C)

En C 1. : la barrière hémato encéphalique, en C 2. la barrière hémato encéphalique au niveau du noyau arqué et en C 3. la barrière tanyocytaire. Les 1 et 2 représentent donc une barrière constituée de cellules endothéliales avec jonction serrées (en vert) où il n'y a pas de diffusion possible de signaux en provenance du sang, a contrario des vaisseaux fenêtrés en 3 (schématisés en pointillés) où une diffusion paracellulaire est possible (flèche rose) mais médiée par un transport spécifique au sein des tanyocytes (flèches bleues).

ME : éminence médiane, 3V : 3^{ème} ventricule, TJ : tight junction, VMH : ventromédial hypothalamus, Vs : vessels. (220)

F. Plasticité de l'interface avec le noyau arqué et implication du VEGF :

Différentes situations physiologiques ont montré être à l'origine de modifications structurales parmi les différents types cellulaires composant ces barrières (206, 209, 221, 222). L'organisation structurale de la région hypothalamique jouxtant l'éminence médiane est plastique et peut être modulée selon le statut énergétique. Par exemple, à jeun, des variations négatives de glycémie ont montré provoquer un relargage dans l'éminence médiane de VEGF A (vascular endothelial growth factor d'isoforme A) (209), un facteur de croissance qui a récemment été mis en évidence pour jouer un rôle dans le captage de glucose par le cerveau (223). Le VEGF est principalement décrit pour son rôle de facteur de croissance de nouveaux vaisseaux et est impliqué comme étant le facteur de croissance principal pour le

maintien des pores dans les cellules endothéliales de vaisseaux fenêtrés (224). Ce VEGF A entraîne la fenestration des microvaisseaux de l'ARH provenant de l'éminence médiane et en se faisant induit un changement d'organisation dans les protéines de jonction serrées des tancytes bordant le 3^{ème} ventricule au niveau de l'ARH. Ainsi ces capillaires deviennent fenêtrés et perdent leur capacité de barrière sélective, rôle qui est alors relégué aux tancytes qui les entourent : la BHE "classique" disparaît au profit de la barrière tancytaire (209, 225)

L'augmentation des concentrations hypothalamiques de VEGF durant le jeûne cible les VEGF R1 et VEGF R2 des cellules endothéliales de l'éminence médiane et de l'ARH ventromédian, et ainsi favorise la perméabilité des microvaisseaux en y associant une perte des complexes de jonctions serrées dans les cellules endothéliales des anses intrainfendibulaires et leur organisation dans les tancytes (209). Ces changements structuraux de la barrière tancytaire modulent l'accès direct des signaux métaboliques sanguins comme le glucose ou la ghréline aux neurones de l'ARH ventromédial et par conséquent, fournit une réponse adaptée à la régulation métabolique (51, 209).

Ces constats sont confirmés par des expériences qui ont consisté à injecter du VEGF A dans le troisième ventricule d'un animal nourri : cela a permis de provoquer de manière sélective la fenestration des vaisseaux du noyau arqué qui présentaient initialement des propriétés de barrière. A l'inverse, l'injection d'anticorps bloquant spécifiquement la liaison du VEGF A à ses récepteurs va empêcher la fenestration des vaisseaux induits par le jeûne et l'hypoglycémie. Les tancytes jouant un rôle central dans cette plasticité, l'hypothèse qu'ils soient à l'origine de la synthèse du VEGF A a été émise. Des travaux ont pu le démontrer : lors de la période de jeûne, la synthèse de VEGF A par les tancytes est majorée, de façon concomitante à la fenestration des capillaires dans l'ARH. Si la synthèse de VEGF A est sélectivement invalidée dans les tancytes, la fenestration des capillaires est abolie (209). Cela confirme le rôle prépondérant des tancytes dans la plasticité de l'interface sang/ARH via la variation de concentration du VEGF A.

G. Impact du dysfonctionnement structurel des barrières :

Une étude récente a montré que l'obésité maternelle pourrait altérer l'organisation et la perméabilité de la BHE dans l'ARH des nouveau-nés (226). Les souris nées de mères en surpoids ayant été alimentées d'un régime riche en graisse (high fat diet HFD) durant la gestation présentent une majoration de perméabilité des vaisseaux de l'ARH le jour de la naissance en comparaison aux souris nées de mères de poids normal et nourries d'un régime normal. Dans de futures études, il serait important d'explorer l'impact de cet accès direct des signaux métaboliques aux neurones de l'ARH depuis la naissance car cela pourrait avoir un impact sur le développement des circuits hypothalamiques régulant l'appétit et l'homéostasie énergétique. Ainsi, il faudrait déterminer comment cette anomalie des échanges sanguins hypothalamiques dans l'éminence médiane de l'ARH pourrait jouer un rôle dans la physiopathologie des maladies métaboliques et de leur délai d'apparition, par exemple au cours de l'enfance (227). A l'opposé, le vieillissement a montré provoquer des altérations de la barrière tancytaire au point de créer des brèches dans l'intégrité structurelle de la barrière

entre le système sanguin et le LCS dans l'éminence médiane (228). Or, les animaux plus âgés sont connus pour montrer des altérations du contrôle neuroendocrine de l'homéostasie énergétique, incluant des réponses atténuées au jeûne (229). Il est alors tentant de spéculer que ces altérations de plasticité de la BHE pourraient contribuer à l'apparition des maladies métaboliques liées à l'âge. Curieusement, des traumatismes cérébraux, qui sont eux aussi connus pour prédisposer les individus à des désordres métaboliques (230, 231) ont aussi montré des altérations de l'intégrité de la barrière tancytaire dans l'éminence médiane (232). Poursuivre sur cette voie de recherche est de la plus haute importance pour déterminer comment les manipulations de la plasticité de la BHE hypothalamique pourraient apporter un potentiel thérapeutique pour le traitement des dysfonctionnements du contrôle neuroendocrine de la balance énergétique.

H. Mécanismes de la porte d'entrée de la leptine dans le cerveau:

Bien que les changements structurels de la BHE de l'éminence médiane modulent l'accès direct des signaux métaboliques circulants vers les neurones de l'ARH ventromédian (209), le processus par lequel ces facteurs arrivent à accéder aux circuits hypothalamiques qui régulent la balance énergétique et aux autres structures cérébrales, commence seulement à être révélé. Cela est discuté par Jeffrey Friedman dans sa rétrospective pour le 20^{ème} anniversaire de la découverte de la leptine (233). Des études précédentes suggéraient que les hormones entraient dans le cerveau par un transport à travers le système vasculaire endothélial (234, 235). Ce n'est que récemment qu'il a été mis en évidence que les signaux peptidergiques à diffusion hémotogène entrent dans le cerveau via les OCV et notamment à travers l'éminence médiane, où ils sont captés par les prolongements des tancytes et transportés par transcytose dans le 3^{ème} ventricule, à partir duquel ils peuvent circuler dans le système ventriculaire et accéder aussi bien à l'hypothalamus qu'à des structures cérébrales plus distantes telles que l'hippocampe et le cortex (48, 236).

L'idée que l'itinéraire d'entrée pour les hormones métaboliques dans le système nerveux central serait le LCS, a été soulevée il y a une trentaine d'années par des études de transcytose justifiant un possible rôle des tancytes de l'éminence médiane dans le transport des molécules à diffusion hémotogènes vers le LCS (237). Au niveau de ces cellules épendymaires se trouvent des complexes de jonctions serrées dont la fonction n'est pas seulement de prévenir la diffusion de solutés à travers la fente paracellulaire mais aussi de réguler la polarité cellulaire et le trafic intracellulaire (238, 239). Renforçant cette hypothèse, des expériences d'administration périphérique d'hormones adipositaires comme la leptine (dans la cavité péritonéale), ont montré une activation séquentielle des neurones hypothalamiques sensibles à la leptine le long d'un gradient ventrodorsal au fil du temps (d'abord dans l'ARH à 15 min, puis dans l'hypothalamus ventromédian à 30 min, et ensuite dans l'hypothalamus dorsomédian et l'aire hypothalamique latérale à 45 min) (240). Quand la leptine est injectée dans les ventricules cérébraux, les voies de signalisation de la leptine s'activent en même temps dans tous les neurones hypothalamiques qui en expriment le récepteur (240).

Des études récentes analysant cette activation du signal leptine via son récepteur (LepRb) après l'injection intrapéritonéale de leptine, montrent que les tanocytes sont en fait les premières cellules à présenter la phosphorylation induite par le signal leptine de STAT3 (Signal transducer and activator of transcription 3, pSTAT3) dans l'hypothalamus. En d'autres termes, les tanocytes apparaissent être les premières cellules du système nerveux central à percevoir la leptine circulante injectée (48). Cela suggère que l'éminence médiane pourrait constituer l'une des portes d'entrée de la leptine dans le cerveau.

L'immunoréactivité de pSTAT3 induite par la leptine dans les tanocytes est observée dès 5 minutes après l'injection intrapéritonéale de leptine à la fois dans leurs prolongements, qui sont au contact des capillaires fenêtrés à la surface méningée du cerveau, et leur noyau cellulaire qui est localisé près du plancher du 3^{ème} ventricule (48). L'utilisation de leptine marquée fluorescente (241) a montré que la leptine sanguine, au regard de sa taille (16 kDa), quitte librement le système porte hypothalamo-hypophysaire au travers des capillaires fenêtrés de l'éminence médiane (51). Elle est ensuite captée par les prolongements des tanocytes (48). Ce processus requiert l'activation d'un récepteur à la leptine puisqu'une leptine recombinante mutée qui est capable de lier un LepR mais qui n'a pas d'activité biologique (242) n'est pas internalisée par les tanocytes *in vivo* (18). Après son internalisation par les pieds tanocytaires de l'éminence médiane, la leptine est transportée vers le pôle apical des tanocytes et relarguée dans le 3^{ème} ventricule suite à l'activation intracellulaire de la voie ERK (extracellular-signal regulated kinase) par LepRb. De là, la leptine atteint l'hypothalamus médio-basal pour ensuite diffuser librement dans l'ARH ainsi que dans les structures cérébrales profondes entourant les ventricules (48) (Figure 16). L'administration d'un anticorps neutralisant la leptine dans le 3^{ème} ventricule empêche en partie la leptine injectée en périphérie d'atteindre ses cibles, confirmant le trajet emprunté par la leptine pour atteindre le cerveau. La perte de la capacité de la leptine à activer les voies de signalisation intracellulaires couplées à LepRb chez les souris mutées pour ce récepteur (LepR *db/db*) et chez les souris obèses sous régime riche en graisse ayant induit une résistance à la leptine périphérique (DIO, Diet induced obesity) cause une accumulation de la leptine exogène dans l'éminence médiane. Cette leptine reste piégée dans les tanocytes et ne rejoint jamais l'hypothalamus médiobasal (48). Des données sur l'Homme ont montré que le transport de la leptine dans le LCS est dramatiquement réduit chez les patients obèses (174, 175). Ces données suggèrent que la leptine captée par les tanocytes de l'éminence médiane chez les souris mutées LepR *db/db* et les souris obèses DIO n'est pas relarguée dans le troisième ventricule (Figure 16).

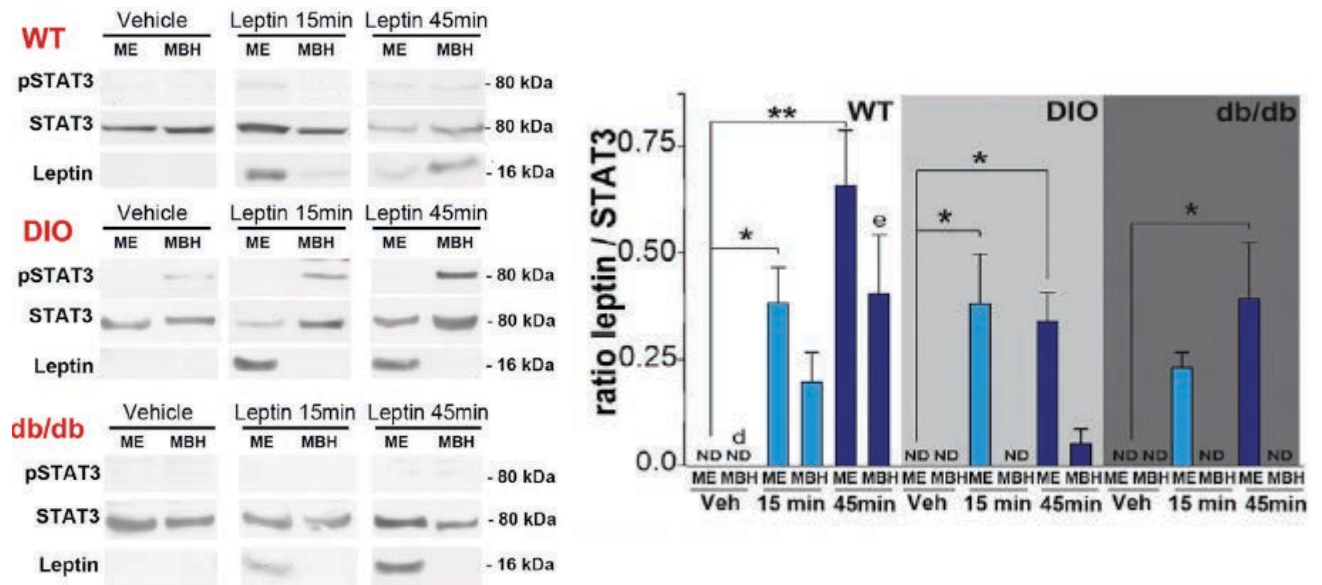


Figure 16 : Western blot (gauche) et comparaison quantitative (droite) (48)

de STAT 3, P STAT 3, leptine, dans l'éminence médiane (ME) et l'hypothalamus médio basal (MBH) chez des souris wild type (WT), obèses (DIO) et résistantes à la leptine (db/db), 15 et 45 minutes après injection de leptine intrapéritonéale, ou d'un contrôle (Vehicule) (n = 3–4 per group), ND : not detected.

I. Rôle de la voie de signalisation ERK dans le transport de la leptine et action de l'EGF :

a. Voie de signalisation ERK :

La voie de signalisation ERK est indispensable à la libération apicale de la leptine. Des expériences sur cultures primaires de tancytes ont identifié les mécanismes de la capture de la leptine au niveau des prolongements basaux (ne nécessitant pas LepRb et non altérée par l'obésité) et de sa libération au pôle apical (nécessité d'activer LepRb et phénomène altéré dans l'obésité) (Figure 17).

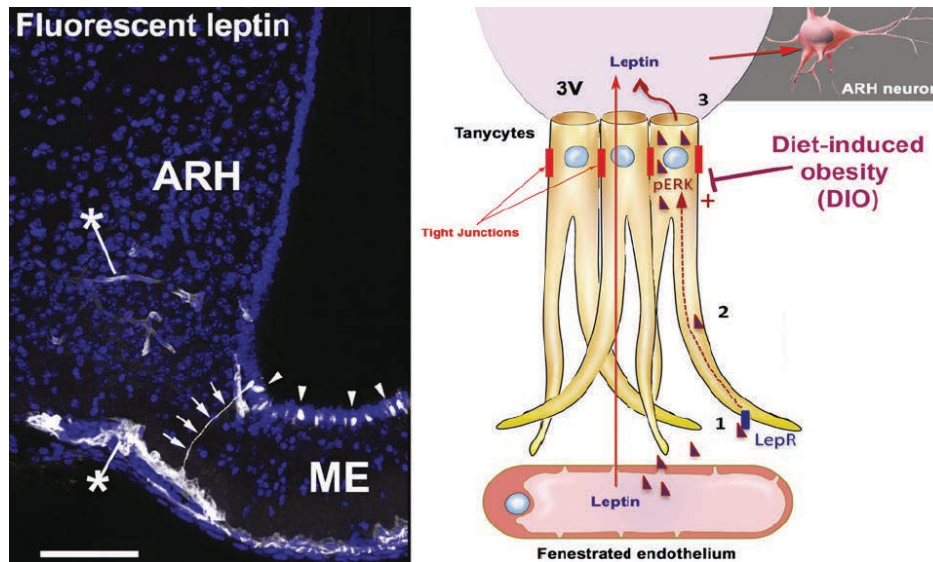


Figure 17: Transport de la leptine par les tanycytes (225)

à gauche, microphotographie de l'hypothalamus médiobasal avec l'éminence médiane (ME) et le noyau arqué (ARH) montrant les pieds tanycytaires (flèches) et leur corps cellulaires (têtes de flèches) de souris wild type chez qui de la leptine fluorescente a été injectée. Les astérisques représentent les vaisseaux de la barrière hématoencéphalique de l'ARH dans lesquels circule la leptine.

à droite, vue schématique des tanycytes capturant la leptine circulante à partir des vaisseaux sanguins du système porte hypothalamo-hypophysaire dont l'endothélium a la particularité d'être fenêtrés (étape 1). Lors de son parcours dans le tanycyte, la leptine capturée par une voie nécessitant la présence de récepteurs fonctionnels (LepR) active une voie de signalisation "ERK" (étape 2) qui enclenche sa libération dans le liquide céphalorachidien (étape 3). La leptine active alors les zones cérébrales qui expriment son récepteur et véhiculent son action anorexigène (étape 4).

b. Action de l'EGF sur la voie ERK :

L'activation pharmacologique de la voie de signalisation ERK des tanycytes par l'EGF (epidermal growth factor), est capable de restaurer la translocation de la leptine exogène de l'éminence médiane vers l'hypothalamus médiobasal dans les deux modèles murins, et améliore la signalisation hypothalamique de la leptine et le statut métabolique des souris DIO (48) (Figure 18). Cela a pour impact une normalisation plus rapide du poids une fois le régime classique (standard CHOW) remis en place (Figure 19). Cette découverte offre un moyen de restaurer le transport de la leptine et pourrait permettre de mettre au point des traitements faisant intervenir des molécules capables d'activer cette voie de signalisation ERK spécifiquement dans les tanycytes pour restaurer l'effet anorexigène de la leptine.

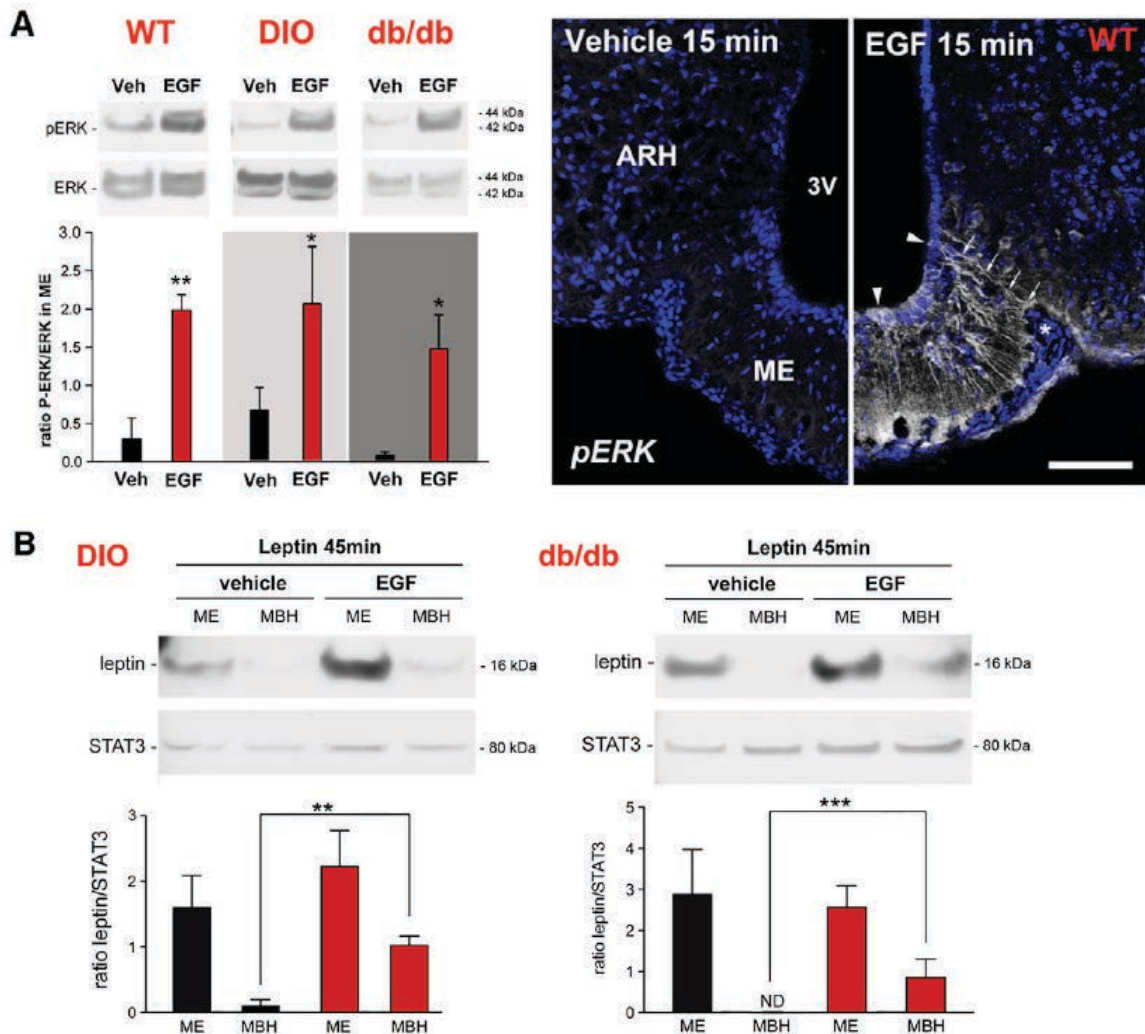


Figure 18 : Activation de ERK via l'EGF et restauration du transport de la leptine dans l'hypothalamus médiobasal MBH (48).

(A gauche) l'EGF provoque une activation de ERK dans l'éminence médiane comme montré dans l'analyse quantitative du western blot. (A droite) immunofluorescence ciblant pERK (blanc) dans les corps cellulaires des tanycytes (tête de flèche) et leur pieds (flèches) rentrant en contact avec l'espace péricapillaire (astérisks) de l'éminence médiane (ME). 3V : 3^{ème} ventricule.

(B) Western blot et comparaison quantitative de la leptine dans l'éminence médiane ME et l'hypothalamus médiobasal MBH chez des souris DIO (n = 4) and db/db (n = 3) après injection intrapéritonéale de leptine avec sous sans le traitement par EGF 15 minutes avant.

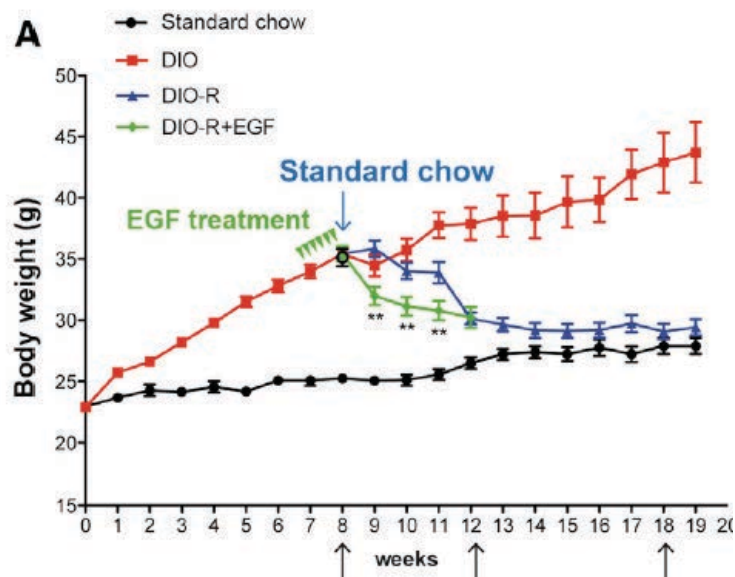


Figure 19 : Le traitement par EGF accélère la restauration de la sensivité à la leptine chez la souris obèse une fois que le régime alimentaire est revenu à la normale (48).

Changement du poids en fonction du régime alimentaire standard, DIO, DIO puis standard, DIO puis standard associé à un traitement par EGF. On observe que la normalisation progressive du poids s'opère plus rapidement dans le groupe traité par EGF (donc chez qui le passage tanyctaire de la leptine est restauré)

Ces données suggèrent que la plasticité de la barrière hématoencéphalique dans la région de l'éminence médiane et du noyau arqué hypothalamique est impliquée dans le contrôle central de l'homéostasie énergétique et notamment dans les phénomènes d'adaptation métabolique lors d'un déséquilibre énergétique tel qu'une hypoglycémie. Dans cette réorganisation de la barrière, au niveau cellulaire et protéique, le VEGF A a un rôle prépondérant. Par ailleurs, les tanyctes formant cette barrière constituent des transporteurs spécialisés de certaines hormones à diffusion hématogène vers le cerveau, et en particulier les hormones visant à réguler le statut énergétique. En ce qui concerne le transport de la leptine par les tanyctes, l'activation de la voie de signalisation ERK couplée à l'activation de son récepteur semble capitale dans le mécanisme de libération de la leptine capturée dans la circulation sanguine au pôle apical des tanyctes vers le LCS afin qu'elle puisse remplir son rôle anorexigène en agissant sur l'ARH et ses autres cibles hypothalamiques.

J. Rôle de la voie de signalisation AMP K dans le transport de la leptine et action de la metformine :

Comme précisé en introduction, l'obésité peut conduire à un état d'insulinorésistance menant à un diabète de type II. Dans ce cadre et selon les recommandations de la HAS (haute autorité de santé), la thérapeutique de première intention reste la metformine, de la classe des

biguanides. La metformine s'administre per os, possède peu d'effet secondaire et de contre-indication, et s'avère être une médication facile à mettre en place. Son mécanisme d'action principal est l'activation de l'AMP K hépatique, conduisant à une néoglucogénèse réduite, et donc à une baisse de la glycémie. En parallèle, il y a d'autres effets notamment sur une captation accrue du glucose par le tissu musculaire, une diminution de l'absorption intestinale de glucose, et une majoration de l'oxydation des acides gras (action constatée sur l'amélioration de la stéatose hépatique notamment).

a. Impact de la metformine sur le poids :

Ce qui est d'autant plus intéressant et à la base de **l'axe 2** de ce travail de thèse, est la capacité de la metformine à restaurer le passage de la leptine devenu défaillant chez les souris soumis à un régime HFD (high fat diet) (données laboratoire non publiées). Cette découverte est capitale pour l'étude de l'influence de ce traitement sur l'évolution de la leptinorésistance, notamment via l'investigation de son action sur les tanocytes en miroir de ce qui a été montré avec l'EGF. Le traitement par metformine va induire chez ces animaux une perte de poids significative ou une moindre prise de poids sous le régime HFD (Figure 20).

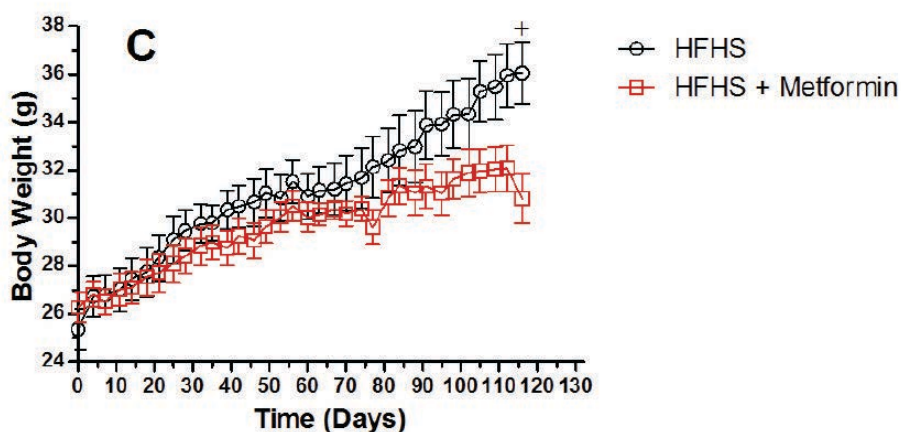


Figure 20 : Effet du traitement par metformine chez des souris sous HFD (Christoffer Schmalz, unpublished data)

Des constats similaires ont été obtenus chez l'Homme par exemple dans cet essai bien conduit, contrôlé, chez 154 participants en surpoids et obèses chez qui un traitement par metformine (> 2500 mg/J) a été administré pendant 6 mois comparé à 45 contrôles non traités (243). Dans le groupe traité on observera une perte de poids significative de 5.8 ± 7.0 kg (5.6 ± 6.5 %) contre 0.8 ± 3.5 kg (0.8 ± 3.7 %) dans le groupe contrôle. Les personnes insulino-résistantes ($HOMA > 2.5$) perdant d'avantage que les autres (Figure 21).

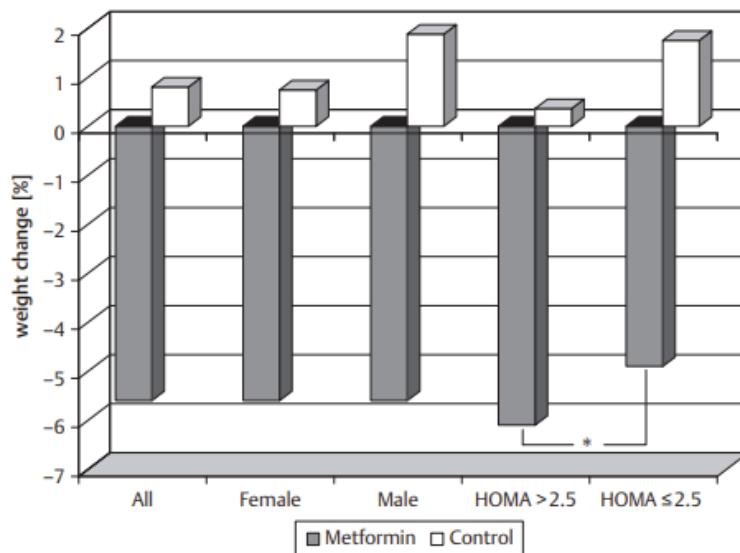


Figure 21 : Evolution du poids en regard du poids de départ après 6 mois de traitement par metformine

b. Action de la metformine sur la leptinorésistance via l'AMPK :

Par un mécanisme similaire à celui de l'EGF précisé plus haut sur la voie ERK, la metformine semble restaurer le passage tanycytaire du signal leptine au niveau de l'hypothalamus médio basal, passage altéré sous ce régime menant au stade de leptinorésistance. (Figure 22 correspondant au travail de thèse d'Eleonora Deligia, données non publiées).

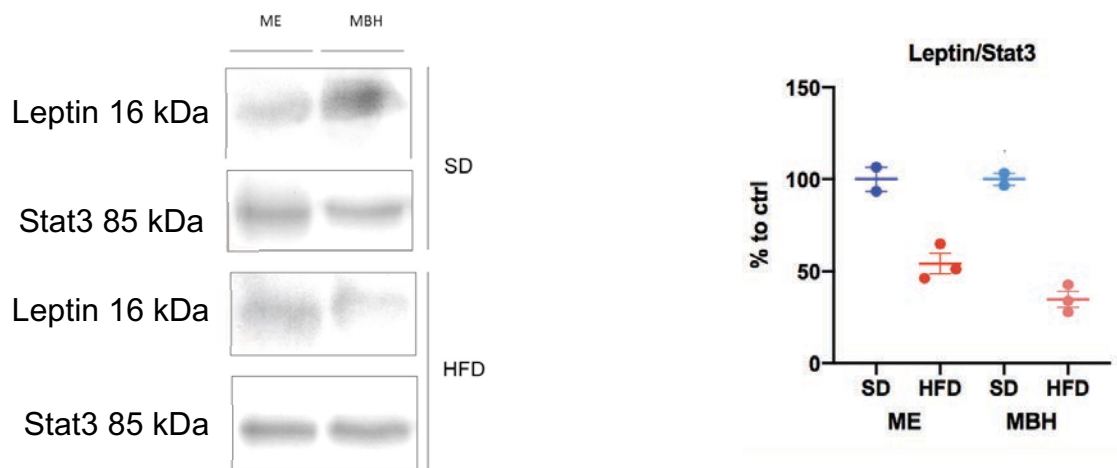


Figure 22 : Défaut de transport de la leptine sous régime HFD

ratio leptine/STAT3 effondré à la fois dans l'éminence médiane et dans l'hypothalamus médio basal sous régime HFD, données non publiées d'Eleonora Deligia

Or, une fois le traitement par metformine instauré le passage de la leptine au niveau de l'hypothalamus médio basal est restauré. Le traitement prend ici la forme d'une administration à 75 mg/kg de metformine en une prise puis du sacrifice des souris 15 minutes plus tard (Figure 23 correspondant au travail de thèse d'Eleonora Deligia, données non publiées).

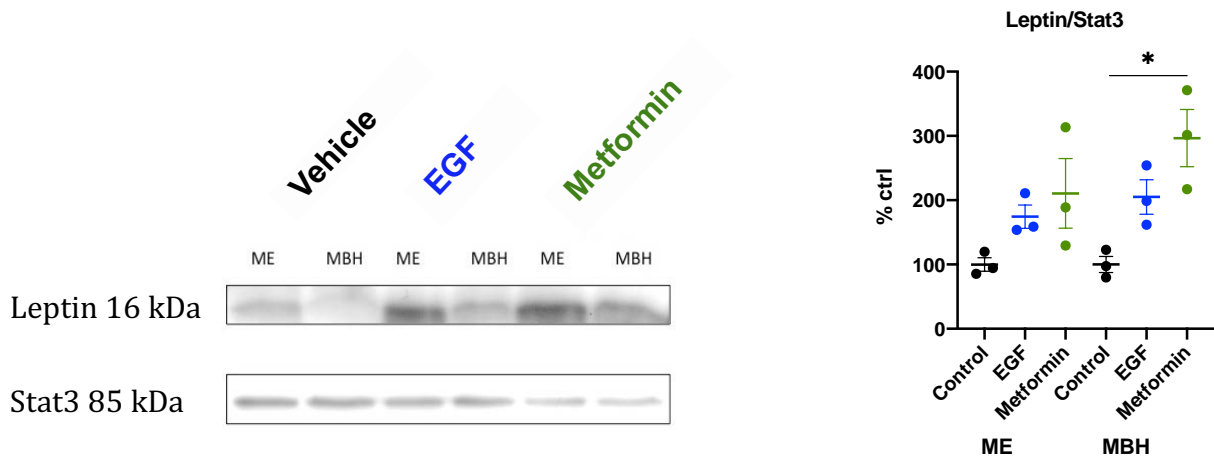


Figure 23 : Amélioration du ratio leptine/STAT3 sous metformine et EGF données non publiées d'Eleonora Deligia

Sur culture cellulaire, cette action de la metformine est totalement indépendante de la voie ERK comme démontré ci-dessous en figure 24 A. En effet le mécanisme est ici médié uniquement par la voie AMP K, provoquant ainsi la sécrétion extracellulaire de leptine (Figure 24 B).

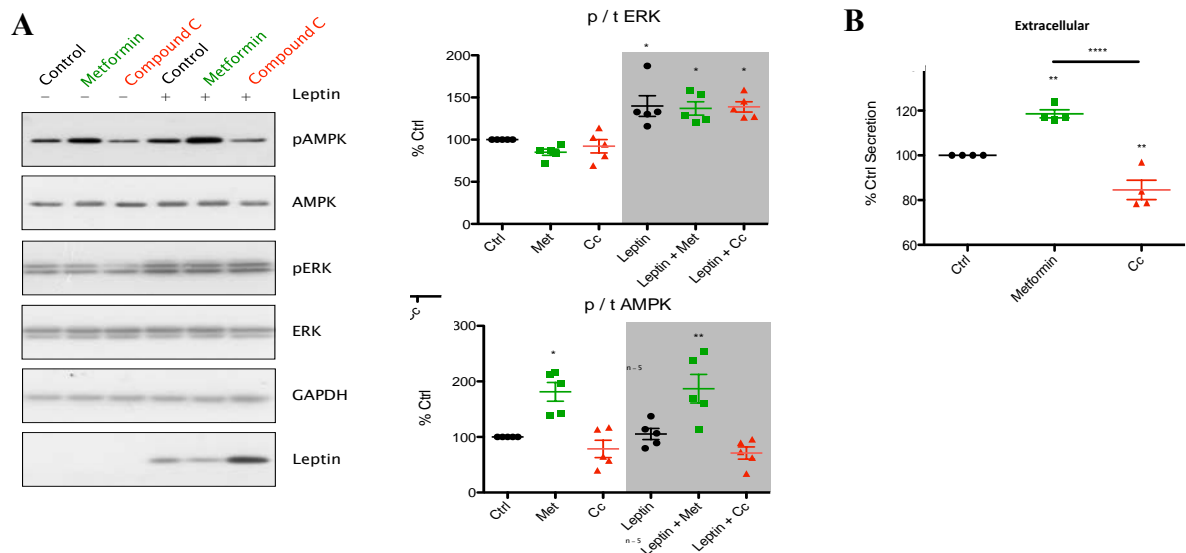


Figure 24 : Action de la metformine sur la voie AMPK et sur la sécrétion de la leptine, données non publiées d'Eleonora Deligia

En A, western blot à gauche et analyse quantitative à droite. En haut, la metformine seule n'induit pas la phosphorylation de ERK. Par contre la leptine provoque l'activation de pERK que ce soit sous metformine ou avec le compound C (CC, inhibiteur de l'AMP K), prouvant

l'indépendance des voies ERK et AMP K. En bas, la metformine provoque l'activation de pAMPK, alors que celle-ci est inhibée par le compound C. En B, la metformine provoque la sécrétion extracellulaire de la leptine.

K. Conclusion :

Ce constat intrigant que les tanocytes agissent tel un “conduit” pour les hormones métaboliques périphériques vers le cerveau, est confirmé par certaines études suggérant que des signaux circulants autres que la leptine, comme la ghréline, sont aussi transportés vers le LCS par les tanocytes (244, 245). Ces études montrent que la surnutrition néonatale provoque une détérioration dans le transport de la ghréline dans l’hypothalamus et une résistance centrale à la ghréline périphérique (245) pendant les phases importantes du développement hypothalamique (246).

Ce concept mène à l’hypothèse que cette interface sang / noyaux hypothalamiques est défaillante dans certaines pathologies métaboliques comme l’obésité, le diabète ou l’anorexie, avec un phénomène de résistance hormonale dans lequel les hormones périphériques n’accèdent plus aux circuits centraux de régulation de l’homéostasie énergétique (Figure 25). Cela ouvre à un potentiel thérapeutique pour les désordres métaboliques.

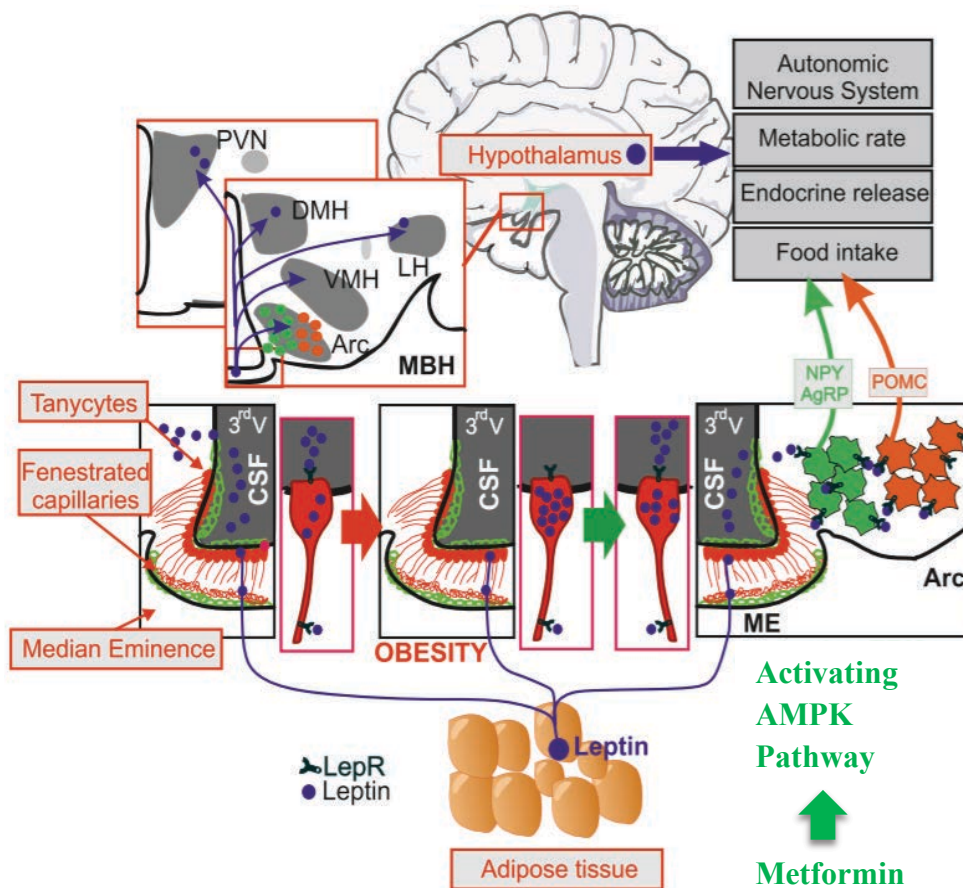


Figure 25 : Différents scénarios du transport périphérique de la leptine

medié par les tanocytes, dans des conditions physiologiques (gauche), en cas d’obésité et de leptinorésistance (centre), et en cas d’obésité et de leptinorésistance sous traitement par metformine. Modifié de (247)

V. CONTRIBUTIONS DE L'IMAGERIE CEREBRALE DANS L'ETUDE DES TCA :

La recherche dans le cadre des TCA a commencé à mettre en lumière comment est altérée la structure et/ou la fonction cérébrale. Afin d'étudier les changements hypothalamiques induits par la prise alimentaire, les techniques de neuroimagerie et en particulier l'IRM, non invasive et non irradiante est une technique de choix en recherche clinique (248).

D'autres modalités de recherche sont actuellement disponibles comme le PET scanner (Positron emission tomography) avec une application dans les TCA (249). Le PET scan est d'avantage utilisé pour étudier les fonctions des récepteurs aux neurotransmetteurs et des études sur le métabolisme cérébral régional du glucose permettant l'évaluation *in vivo* de marqueurs biologiques pouvant être liés au comportement humain (250). Cette technique neuroradiologique ne sera pas développée ici afin de se concentrer les techniques d'IRM détaillées ci-dessous.

Actuellement il est possible d'étudier des sous régions hypothalamiques en IRM haute résolution, à un niveau atteignant chaque noyau hypothalamique (251). C'est extrêmement utile afin de connaître les rôles agonistes ou antagonistes de ces différents noyaux dans la régulation de la balance énergétique.

A. Généralités sur l'IRM :

L'IRM repose sur le principe de la résonance magnétique nucléaire (RMN) qui utilise les propriétés quantiques des noyaux atomiques, notamment de l'hydrogène (63% des atomes du corps humain). L'IRM nécessite un champ magnétique puissant et stable produit par un aimant supraconducteur qui crée une magnétisation des tissus par alignement des moments magnétiques de spin. La puissance du champ magnétique permanent est le plus souvent de 1,5 Tesla. Dans cette étude, nous utiliserons une IRM 3T réalisant des acquisitions volumiques dans toutes les pondérations grâce à la réalisation de coupes très fines permettant l'étude de petites structures.

Sur ce principe, il est alors possible de reconstruire une image en deux dimensions puis en trois dimensions de la composition chimique et donc de la nature des tissus biologiques explorés.

Les séquences peuvent être séparées en deux grandes catégories : morphologiques et fonctionnelles. Schématiquement, les séquences morphologiques permettent d'obtenir des images anatomiques et des renseignements sur la structure des zones étudiées, normales ou pathologiques. Les IRM « fonctionnelles » précisent la composition chimique (spectroscopie), l'état de mobilité des protons de l'eau (diffusion), la vascularisation et l'état de la barrière hématoencéphalique (perfusion), l'implication de la région étudiée dans l'activation neuronale (IRMf), la connectivité entre deux régions par les faisceaux de fibres (tenseur de diffusion).

Le corps est constitué à 80 % d'eau et de graisse, donc d'hydrogène dont le noyau se

compose d'un proton. Le proton possède une propriété quantique appelée « spin » équivalent à un mouvement de rotation sur lui-même. Du fait de la charge du proton, au spin est associé un moment magnétique microscopique. On peut se représenter ce moment magnétique comme une boussole qui va s'orienter dans un champ magnétique. L'orientation préférentielle des moments magnétiques microscopiques dans la direction du champ magnétique est à l'origine de l'apparition d'une aimantation ou moment magnétique macroscopique M . À l'équilibre M est donc aligné le long du champ magnétique principal B_0 . Lorsque l'on déplace M hors de sa position d'équilibre, on observe deux phénomènes :

- un mouvement de rotation de M autour de B_0 ou mouvement de précession (tout à fait équivalent au mouvement d'une toupie que l'on cherche à déplacer de sa position verticale), cette rotation se fait à une fréquence très précise (ou fréquence de résonance), proportionnelle à l'intensité du champ magnétique B_0 . S'il existe une bobine autour de l'objet lors du retour de M à sa position d'équilibre, la rotation de M entraîne l'apparition d'un courant électrique que l'on peut enregistrer. C'est le signal de précession libre qui est à la base de toute IRM.

- M va progressivement retourner à l'équilibre (aligné le long de B_0). Ce mouvement de retour à l'équilibre est décrit par deux constantes de relaxations appelées T_1 et T_2 .

Pour déplacer M hors de sa position d'équilibre on utilise une onde électromagnétique de radiofréquence dont la fréquence doit correspondre exactement à la fréquence de résonance.

Au total, la réalisation d'une image en IRM correspond à l'absorption d'énergie par l'objet étudié, cette énergie provient d'une onde de radiofréquence à la fréquence de résonance. Cette énergie est ensuite restituée également sous la forme d'une onde de radiofréquence. C'est l'analyse de cette onde (ou signal de précession libre) qui permet de reconstruire une image. Pour localiser le signal dans l'objet (et donc obtenir l'image) on utilise de plus des gradients de champ magnétique.

Le signal en IRM est faible et doit être accumulé par des stimulations répétées. Il est recueilli sur des antennes adaptées au volume à analyser. Ceci se fait au cours de séquences définies par certains paramètres en fonction de la perturbation choisie. On parle de séquence SE (spin écho) ou EG (écho de gradient). La durée d'une séquence est variable et dure actuellement entre 0,5 et 15 min.

Au cours d'une séquence, la stimulation puis la reconstruction se font plan par plan, dans les trois directions de l'espace (directions préalablement choisies). Plusieurs coupes sont reconstruites en même temps. On peut également réaliser des acquisitions volumiques qui permettent d'obtenir une information d'emblée sur tout le volume exploré.

Le signal IRM et donc le résultat de l'examen sont sous la dépendance de nombreux paramètres et en particulier du nombre de protons, des temps de relaxation (T_1 et T_2), du mouvement des protons pendant la stimulation (flux, vitesse circulatoire...). L'image est donc multiparamétrique, les résultats et les paramètres privilégiés varient selon les caractéristiques des séquences. Le résultat, morphologiquement très séduisant, est donc d'une exploitation complexe.

L'examen standard comporte une (ou plusieurs) séquence(s) en T_1 et une (ou

plusieurs) séquence(s) en T2. D'autres séquences d'acquisition permettent d'affiner le diagnostic ou de montrer de « nouvelles » lésions : les séquences FLAIR, la diffusion, la perfusion, le tenseur de diffusion, spectroscopie ...

Les principales contre-indications de l'examen sont les dispositifs médicaux implantables tels que les anciens stimulateurs cardiaques ou neurologiques, les défibrillateurs cardiaques, certains implants cochléaires, ou la présence de matériel ferromagnétique ancien intracérébral, intraorbitaire. L'obésité est une contre-indication par difficultés techniques (poids supporté par la table & diamètre de l'anneau) tout comme la claustrophobie. Les stents, filtres et coils ainsi que les valves cardiaques ne sont pas des contre-indications sauf cas particulier (instabilité du matériel) ⁽²⁵²⁾.

a. IRM morphologique dite « conventionnelle » :

L'imagerie de résonance magnétique nucléaire morphologique comprend conventionnellement des séquences pondérées en T1 et pondérées en T2 qui sont respectivement dédiées à montrer l'anatomie et à être sensibles à l'augmentation du contenu en eau libre du parenchyme. Ces séquences constituent la base de l'utilisation du signal d'IRM qui est le signal électrique produit dans l'antenne de réception par le mouvement de l'aimantation résultante des protons en résonance restituant de l'énergie radiofréquence (interaction spin-réseau). Pour cette raison, ce signal oscille à la fréquence de résonance et décroît selon la constante de temps de relaxation T1. À ce processus, le temps de relaxation T2 ajoute la prise en compte des interactions internes aux protons (interaction spin-spin) : en échangeant de l'énergie entre eux, les protons se dispersent créant une perte de cohérence du signal, ou déphasage, produisant ainsi une atténuation supplémentaire du signal d'IRM. En IRM ce déphasage est en sus produit de manière contrôlée pour le codage spatial du signal (codage de phase) ⁽²⁵³⁾.

Ces deux temps de relaxation T1 et T2 sont propres à chaque type de tissu et en rapport avec sa nature histologique et cellulaire (liquide ou solide, structure organisée ou non) (Tableau 3). Une lésion se traduira par une anomalie de signal et/ou de morphologie des structures normales ou par l'apparition d'une structure supplémentaire anormale dans ou en dehors du cerveau ou de la moelle. La méthode d'analyse élémentaire de l'encéphale, symétrique par rapport au plan sagittal, est la comparaison droite/gauche à tous les niveaux de coupe sur les séquences axiales et coronales.

Séquence	Hypersignal	Hyposignal
T1	Graisse Sang frais Liquide riche en protides Certains vaisseaux à flux lent Certains calcifications	Eau Air Os
T1 gadolinium	Prise de contraste normale (muqueuses, méninges, vaisseaux, hypophyse, plexus choroïdes) Prise de contraste pathologique (tumeur, abcès, inflammation, etc.)	Démyélinisation majeure (LEMP)
T2 écho de spin	Liquide, œdème Graisse Perte myélinique Cicatrice Sang	Air Os Sang (très frais) Liquides très riches en protides Fibrose
T2 écho de gradient = T2*		Saignement ancien Mélanine
FLAIR	Graisse Œdème Perte myélinique, cicatrice Liquide impur (kyste épidermoïde) Artefact de flux	Liquide pur (LCS)

FLAIR : *fluid attenuated inversion recovery* ; LEMP : leucoencéphalopathie multifocale progressive ; LCS : liquide cérébrospinal.

Tableau 3 : Signification des séquences morphologiques (254)

b. Spectroscopie par résonance magnétique (MR) monovoxel :

La SRM repose comme l'IRM morphologique sur le principe de la résonance magnétique, mais exploite différemment les propriétés magnétiques du noyau, en étudiant spécifiquement les protons en fonction des liaisons chimiques dans lesquelles ils sont engagés. Chacun des différents groupements chimiques contenant de l'hydrogène est donc affecté d'un déplacement chimique bien défini, que l'on exprime en partie par millions (ppm). Par exemple, les noyaux d'hydrogène d'un groupement CH₂ vont résonner à une fréquence légèrement différente de ceux d'un groupement CH₄. Cette technique va ainsi permettre de distinguer, dans une région d'intérêt préalablement sélectionnée, les différentes molécules qui la composent, à partir d'un métabolite de référence, le tétraméthylsilane (0 ppm). La spectroscopie par résonance magnétique détecte ainsi les noyaux magnétiques autres que les protons de l'eau et permet d'étudier de multiples métabolites (Tableau 4) dont certains sont présents à l'état normal (choline, créatine...) alors que d'autres ne sont présents qu'au cours de phénomènes pathologiques (lipides, lactate, certains acides aminés spécifiques à des types tumoraux...).

On obtient tout d'abord un spectre montrant un volumineux pic dominant qui correspond à l'eau (4,77 ppm). On adapte ensuite l'échelle à partir de ce métabolite, et on peut ensuite repérer les différents métabolites en fonction de leur position sur le spectre :

- NAA (N-acetyl aspartate) à 2.02 ppm, considéré comme un marqueur de la densité et de la viabilité neuronale ; c'est le composé qui donne la raie de plus grande amplitude sur du cerveau sain.
- Cr (composés à créatine) à 3.01 ppm, représentative des réserves énergétiques cellulaires avec un taux relativement constant dans le cerveau sain, et donc à ce titre régulièrement utilisé comme référence interne pour le calcul des rapports métaboliques. Ce pic correspond à la créatine et la phosphocréatine. Sa concentration est présumée stable et il est utilisé pour calculer les ratios de métabolites (255).
- Chol (composés à choline) à 3.22 ppm, marqueur de l'activité de synthèse ou de

dégradation membranaire ; elle s'élève physiologiquement lorsqu'il existe une densité cellulaire accrue ainsi qu'en cas de gliose astrocytaire ou d'inflammation, et diminue dans les lésions ischémiques. Ces pics correspondent principalement à la glycérophosphocholine et à la phosphocholine, précurseurs et produits de dégradation des phospholipides membranaires, la choline libre existant à des concentrations trop faibles pour que sa contribution dans le spectre soit significative.

- Le myo-inositol (mI) à 3.59 ppm, dont on pense qu'il pourrait être un marqueur des cellules gliales fonctionnelles. Il jouerait également un rôle dans la régulation osmotique et le volume cellulaire.
- Les Glx (Glutamine (Gln) – Glutamate (Glu)) de 2.1 à 2.5 ppm, neurotransmetteur et régulateur de l'activité neuronale pour le glutamate, marqueur astrocytaire pour la glutamine.

Tableau 4: Principaux métabolites détectables en SRM (256)

Métabolites	Fréquence de résonance (ppm)	Fonction
Lipides (Lip)	0,9 et 1,3	Nécrose cellulaire
Lactate (Lac)	1,33	Métabolisme anaérobie
N-acétyl-aspartate (NAA)	2,02	Marqueur neuronal
Glutamate/glutamine	2,1 à 2,5	Neurotransmission
Créatine (Cr)	3,03	Métabolisme énergétique
Choline (Cho)	3,21	Métabolisme membranaire
Myo-inositol (mI)	3,56	Marqueur glial

Parmi les différentes techniques de localisation spatiale utilisée en clinique (localisation par antenne de surface, spectroscopie monovoxel, spectroscopie multivoxel ou imagerie spectroscopique), nous avons retenu une technique de spectroscopie monovoxel. Dans cette technique, une succession d'impulsions sélectives en présence de gradients de champ commutés dans les trois directions de l'espace permet la sélection d'un volume sensible à l'intersection des plans définis par chacune des impulsions sélectives. Cette technique nécessite le positionnement d'une zone tridimensionnelle cubique de 1 cm³ dans les régions d'intérêt (Figure 26).

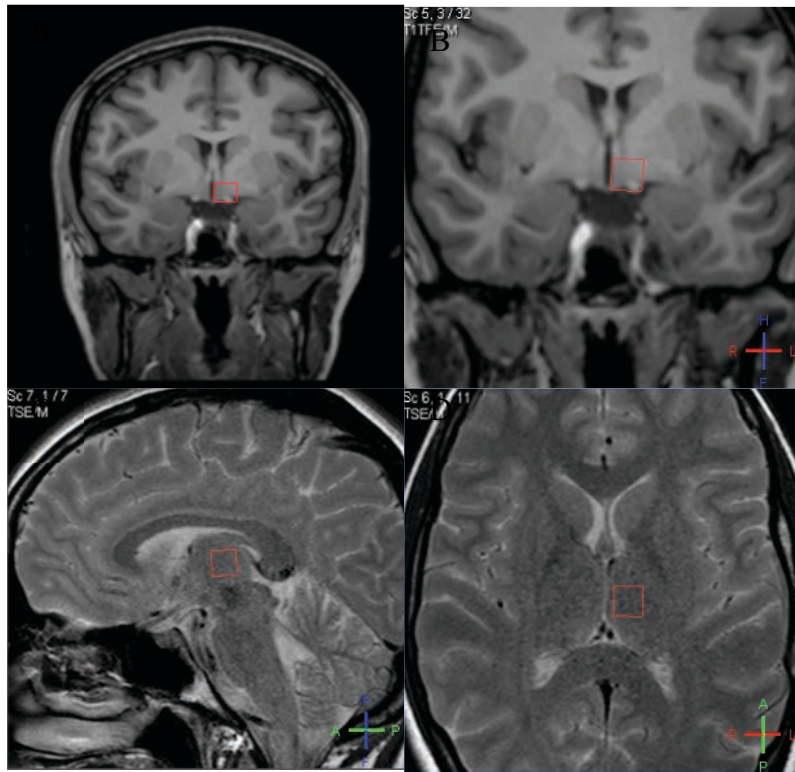


Figure 26 : Positionnement du voxel (carré rouge) dans la région hypothalamique (A et B coupe frontale) et dans la région thalamique (C et D en coupe sagittale et coronale)

Nous avons sélectionné une technique PRESS (Point Resolved Spectroscopy) qui procure un bon rapport signal/bruit et qui permet la sélection d'un volume en une seule expérience. La SRM permet donc une étude biochimique cérébrale non invasive et *in vivo*. Pour pouvoir observer et mesurer l'amplitude des différentes raies correspondant aux différents groupements d'intérêt métabolique il faut donc au préalable éliminer sélectivement le signal provenant de l'hydrogène de l'eau et éviter d'être en présence de tissu adipeux.

En SRM, la localisation spatiale du signal est effectuée par des méthodes dérivées de l'imagerie, selon deux stratégies au choix : l'acquisition peut être effectuée en sélectionnant soit un volume d'intérêt d'environ 1 cm³ (monovoxel), soit une coupe dont chacun des éléments constitutifs est alors analysable comme en imagerie (multivoxel). L'information de chaque élément de volume est alors un spectre dont l'aire de chaque pic est quantifiée, puis transcrite en échelle de gris pour l'obtention de cartographies séparées. On constitue de cette manière l'imagerie spectroscopique ou image de la répartition de chacun des métabolites.

Deux techniques d'acquisition sont actuellement disponibles, mais nous n'utiliserons dans cette étude que la SRM monovoxel. Elle permet d'obtenir un spectre moyen (Figure 27), à partir d'un certain nombre d'excitations, dans une région préalablement définie. Ses avantages sont un temps d'acquisition court, un traitement des données simple et rapide car il n'y a qu'un seul spectre à analyser.

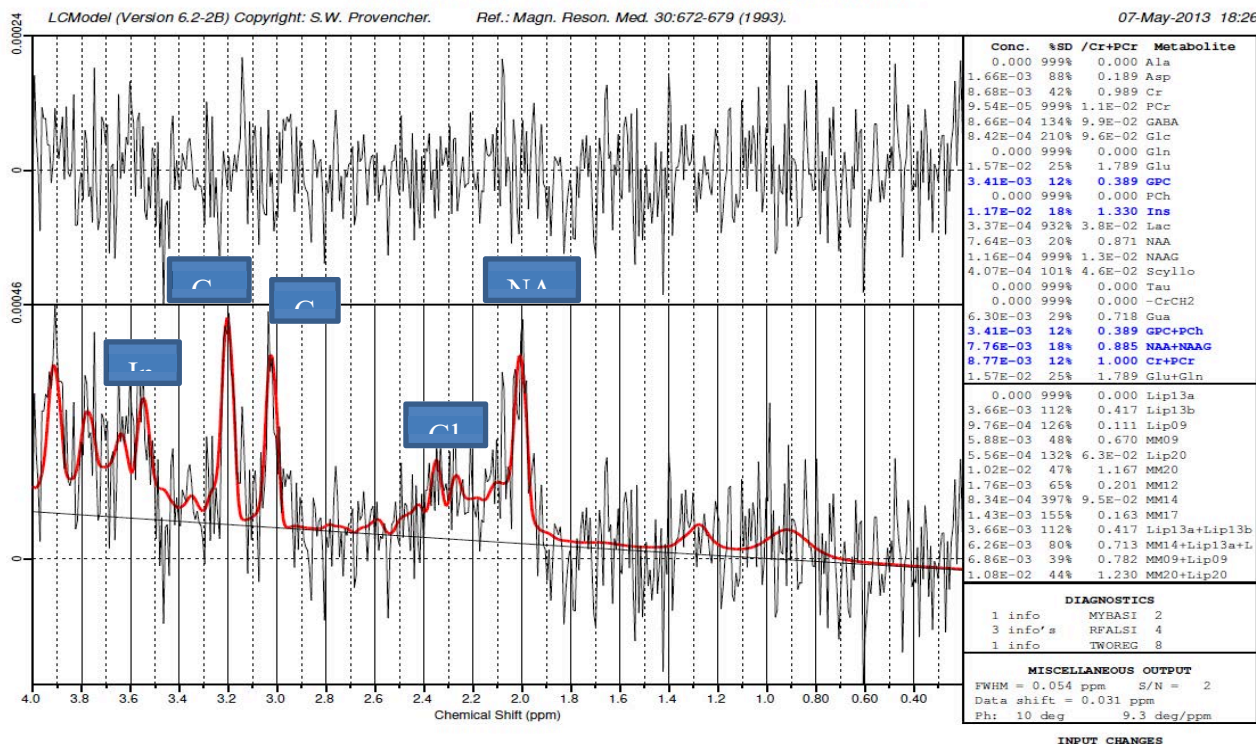


Figure 27 : Exemple de spectre de SRM pour le sujet A1 à jeun, zone hypothalamique

Une fois le spectre obtenu, il existe une phase très importante de traitement des données appelée phase de post traitement (réalisée sur le logiciel LC Model© tournant sous Linux©), avant de pouvoir les interpréter. Il est en effet nécessaire de définir la position de la ligne de base, pour réaliser l'intégration du signal sous chaque pic qui donnera la quantité de métabolite. L'identification des pics pouvant être rendue très difficile par le bruit, il est nécessaire de s'imposer des seuils en termes de rapport signal/bruit au-delà desquels on considère l'examen comme inutilisable. Devant la difficulté à obtenir des valeurs absolues de métabolites (qui nécessiterait des étapes délicates de calibration et certaines corrections à partir du pic de l'eau), nous avons choisi de présenter les métabolites mesurés dans l'hypothalamus et dans notre zone témoin thalamique, sous forme de rapports de métabolites (ratio sur créatine).

c. IRM de diffusion et tractographie :

Le phénomène de diffusion correspond au déplacement aléatoire des molécules d'eau (mouvements browniens) dans l'espace en raison de l'agitation thermique du milieu. Différentes techniques d'IRM sensibles à la diffusion existent permettant d'apporter des informations précises sur l'organisation des faisceaux de myéline au sein du tissu cérébral et de détecter des anomalies architecturales à un stade très précoce dans de nombreuses affections neurologiques.

La diffusion s'exprime par le coefficient de diffusion apparent (ADC en mm^2/s) et suppose un déplacement identique des molécules d'eau dans les trois directions orthogonales

de l'espace (diffusion isotropique). Ce modèle ne s'applique pas au cerveau en raison de son hétérogénéité. En effet le tissu cérébral présente de nombreuses contraintes de déplacements des molécules d'eau : cellules, membranes, axone. Il apparaît alors que le mouvement de l'eau se produira plus rapidement dans une direction préférentielle, celle présentant le moins de contraintes possible, en l'occurrence dans l'axe d'orientation des fibres de myéline (diffusion anisotropique). Ce dernier modèle constitue le principe de base du tenseur de diffusion. L'application du tenseur de diffusion permet ainsi d'obtenir des cartographies d'anisotropie (FA pour fraction d'anisotropie) et il est possible de calculer la diffusivité moyenne (MD) correspondant à l'ADC des molécules d'eau dans une région d'intérêt (voxel).

Cet indice FA prend ces valeurs dans l'intervalle [0,1]. En effet une anisotropie égale à 1 signifie que le tissu a une structure à orientation unique et une anisotropie fractionnelle proche de 1 signale une région où la diffusion est très rapide dans une direction privilégiée, au détriment des autres. En revanche, si l'anisotropie est égale à 0, elle correspond à un manque total d'orientation comme le cas de tissu isotrope tel que le liquide cérébro-spinal et la substance grise. Ceci permet la détection et le suivi de certaines anomalies engendrant des modifications sur la diffusion de l'eau dans les tissus. L'information issue de l'imagerie de diffusion consiste en une quantification du déplacement des molécules d'eau exprimé par la diffusivité moyenne MD exprimée par la valeur de l'ADC. Cette mesure de l'ADC renseigne sur la nature des processus pathologiques atteignant le système nerveux central lorsque les structures cellulaires sont endommagées ou rompues.

Afin d'apprécier facilement le suivi de la diffusion le long des fibres, des algorithmes de « fiber tracking » sont utilisés ⁽²⁵⁶⁾. Ces algorithmes de tractographie qui s'appuient sur les vecteurs propres des tenseurs de diffusion permettent d'aller plus loin que la simple visualisation de la diffusion. En effet, le suivi et la reconstitution de la trajectoire d'un faisceau de fibres à travers la matière blanche permettent de cartographier les échanges entre les différentes aires cérébrales.

B. Application aux TCA :

a. IRM morphologique :

Les séquences anatomiques permettent de décrire les anomalies de taille, de forme, de structures, observées plus fréquemment chez les sujets AM ou obèses. Cela permet d'établir et de définir des corrélations entre neuroanatomie et symptômes, et potentiellement observer les effets de la renutrition pour les sujets AM dans différentes régions cérébrales.

Chez les adultes, des anomalies anatomiques reproductibles ont été décrites dans plusieurs études avec des sujets AM (257, 258) et plus spécifiquement des atrophies cérébrales durant les phases de dénutrition, avec une réduction du volume cérébral total qui se résout après renutrition. Une nette réduction de la matière blanche est aussi observée chez les AM (259). D'autres découvertes ont montré une réduction globale des volumes de matière grise et blanche mais surtout une pérennisation des altérations de matière grise une fois le poids normalisé (260).

Dans l'obésité des altérations de volume ont également été mises en évidence avec des réductions de volume cérébral total, surtout dans la substance grise, comparé à des contrôles

normopondéraux, et de façon linéaire en fonction de l'IMC (261). Au-delà de l'IMC ces altérations sont corrélées à l'adiposité en impédancemétrie dans cette autre étude (262). Ces altérations sont d'autant plus prononcées que l'âge avance avec un même type d'étude comparative chez des sujets âgés de 77 ans en moyenne qui retrouvera des volumes thalamiques, hippocampiques et du cortex frontal réduits chez les sujets obèses (263). Ces anomalies sont bien sûr à mettre en lien avec la proportion de troubles cognitifs et de démence plus importante chez les sujets obèses (264). A ma connaissance, aucune étude n'a spécifiquement identifié d'anomalies de la neuroanatomie dans le BED. Il n'est également pas fait mention d'altération spécifique à l'hypothalamus que ce soit pour l'anorexie ou l'obésité.

b. Spectroscopie par résonance magnétique :

Chez les patients AM, le NAA dans le cortex dorsolatéral et préfrontal est significativement diminué ayant pour conséquence de moindres performances dans l'apprentissage verbal, dans l'attention et dans les tâches exécutives (265). Le NAA, Glx and Ins sont significativement diminués dans la matière grise frontale d'adolescentes présentant une AM et d'ailleurs il existe une corrélation entre variation de NAA et modifications de paramètres nutritionnels et cognitifs (266). Dans une autre étude utilisant une IRM plus puissante et de haute résolution 7 Teslas, les auteurs retrouvent que les AM présentent des concentrations en Glu et Ins très atténuées dans 3 voxels (cortex cingulaire antérieur, cortex occipital et putamen) sans changement des autres neurométabolites Glu, NAA, Cr, et GABA. (267).

Chez des patients obèses cette étude retrouvera une élévation du myo inositol dans le cortex occipitopariétal (268).

La littérature est assez pauvre sur cette technique d'IRM dans la mesure où ce n'est pas son but premier. Aucune ne mentionne la spectroscopie hypothalamique. Par ailleurs il ne semble pas exister dans la littérature d'autres utilisations de la SRM dans d'autres types de comportement alimentaire, et dans tous les cas les études de neuroimagerie existantes ne concernent pas l'étude hypothalamique de la régulation homéostatique.

c. Tenseur de diffusion et tractographie :

Dans ce protocole, les auteurs retrouvent des connexions neuronales fortes entre le cortex pariéto-occipital gauche, et une connectivité structurelle plus faible dans le thalamus de 8 patientes AM comparées à des contrôles (269). Dans cette étude (270), des AM présentent une connectivité anormale des noyaux de la base et du cortex cingulaire postérieur comparé à des contrôles traduisant une organisation neuronale anormale dans ces régions chez les AM. Dans cette autre étude (271), les auteurs retrouvent une connectivité structurelle accrue dans le système préfrontal et du noyau accumbens dans des stades de dénutrition chez l'AM. Ces anomalies semblent persister après une restauration du poids et étaient corrélées avec une sévérité plus importante du TCA. Ces résultats montrent qu'une hyperconnectivité dans le circuit de la récompense est un substrat neuronal probable et important dans l'AM. Dans cette étude récente (272) réalisée sur 26 AM, 25 boulimiques et 26 contrôles, les auteurs retrouvent que la connectivité structurelle entre l'insula et le cortex orbito frontal et le cortex préfrontal

médian était plus importante dans les deux groupes de TCA alors que la force de cette connexion était moins importante sur les voies hypothalamiques. Cela suggère une plus grande connexion de matière blanche à travers le système frontostriatal impliqué dans la récompense, mais une réduction de connectivité vers l'hypothalamus qui pourrait suggérer que les patients TCA présente un court-circuit de la régulation homéostatique.

Dans le cadre de l'obésité, et avec une approche semblable à notre étude hypothalamique, cette équipe (273) a pu mettre en évidence sur une large cohorte de patients obèses un une diffusivité moyenne (MD) significativement supérieure dans l'hypothalamus entier versus une population contrôle normopondérale. Les auteurs avancent que ce constat est secondaire à des altérations micro structurelles survenant avec des IMC élevés peut être en lien avec l'inflammation, ou une atteinte microvasculaire. D'autres auteurs ont pu mettre en évidence en DTI des altérations de la substance blanche, ces altérations étant corrélées à l'IMC (274).

À ce jour, notre étude est la seule qui ait abouti à la réalisation d'une reconstruction à l'échelle intra-hypothalamique (275) permettant une analyse de chaque noyau hypothalamique et dont les résultats sont présentés ci-après.

Les techniques de neuroimagerie sont des outils très utiles pour l'étude précise de la structure et du fonctionnement cérébral des TCA *in vivo*. Il y a un cependant un manque cruel de données s'intéressant au contrôle homéostatique hypothalamique de la prise alimentaire. Dans le futur, la neuroimagerie pourrait devenir un outil diagnostique puissant pour différencier plusieurs types de TCA en considérant les différentes anomalies observées en IRM entre AN, obèses et contrôle, et éventuellement suivre le processus de rémission avec les variations neuroanatomiques observées au cours des étapes de reprise de poids.

HYPOTHESES & OBJECTIFS

Le comportement alimentaire dépend de l'intégration hypothalamique de signaux périphériques métaboliques ou hormonaux. Nous posons comme hypothèse qu'une résistance au passage de ces signaux périphériques est à l'origine de troubles du comportement alimentaire, de l'anorexie mentale à l'obésité.

Les mécanismes à l'origine de cette non-intégration des signaux périphériques sont mal compris. C'est ainsi que ce travail de thèse comprend deux grands axes d'étude :

- Le premier consiste à examiner comment évolue l'activation de certaines régions hypothalamiques impliquées dans la régulation de la prise alimentaire en réponse à la faim chez une population de patientes souffrant d'anorexie mentale de type restrictif ou chez des patients présentant une maigreur constitutionnelle. Ce projet permet d'étudier les mécanismes de contrôle hypothalamique de la prise alimentaire et de comprendre les mécanismes neurobiologiques impliqués dans les processus de restriction alimentaire volontaire observés chez les patientes anorexiques. L'activité hypothalamique, avant et après prise alimentaire, a été comparée entre des patientes contrôles volontaires saines, maigres constitutionnelles, et des patientes souffrant d'AM (**Axe 1**).

- En miroir du premier, le second axe a pour objectif principal de mettre en évidence des modifications neuro-hormonales, d'imagerie, de métabolisme, d'efficacité cognitive et de comportement alimentaire chez le sujet obèse, à l'issue d'un traitement améliorant le passage de la leptine dans le cerveau. Ces changements pourraient permettre une meilleure compréhension du mécanisme de leptinorésistance chez ces patients. Des résultats préliminaires obtenus dans un modèle de souris obèses montrent que la metformine est capable de restaurer le passage de la leptine circulante dans le cerveau. Nous pensons que le mécanisme d'altération du signal leptine au sein des tanycytes de l'hypothalamus médio-basal chez le patient obèse serait modulable par la metformine (**Axe 2**).

RESULTATS

I. AXE 1 : ETUDE FONCTIONNELLE DE L'HYPOTHALAMUS HUMAIN EN IRM HAUTE RESOLUTION : MODIFICATIONS INDUITES PAR LA PRISE ALIMENTAIRE CHEZ L'ANOREXIQUE MENTALE :

Dans l'anorexie mentale, l'hypothalamus a surtout été étudié pour son rôle dans la fonction de reproduction qui est très nettement altérée dans cette pathologie (aménorrhée hypothalamique fonctionnelle). Cependant sur le versant homéostatique les données sont peu nombreuses.

Dans cette première étude, nous nous sommes attachés à appréhender les mécanismes de contrôle de la prise alimentaire *in vivo*. Les modifications structurales et fonctionnelles hypothalamiques présentées par les patientes anorexiques mentales de type restrictives (n=10), ont été comparées à des sujets contrôles sains (n=10) ou présentant une maigreur constitutive (n=10). Afin de s'affranchir des modifications hypothalamiques liées au cycle menstruel (276) démontrées par Baroncini et al. en 2010 et récemment médiatisées par une équipe américaine dont les données ne sont pas encore publiées, chaque participante était synchronisée au 13^{ème} ou 14^{ème} jour du cycle sous contraception oestroprogestative ce qui a engendré de lourdes difficultés de programmation. Leur latéralisation était également consignée. Les patientes anorexiques mentales étaient de type restrictif pure avec un poids stabilisé de +/- 5% sur les 6 derniers mois ce qui reflétait une relative stabilité de leur trouble. Afin de s'affranchir d'inclure de potentielles maigres constitutives avec restriction alimentaire, un auto-questionnaire de restriction cognitive leur était proposé (TFEQ).

Les IRM cérébrales ont été effectuées à deux reprises, une première après une nuit de jeûne, une seconde après un petit déjeuner calibré afin d'étudier les deux statuts « nourri » et « à jeun ». Ce petit déjeuner correspondait à un complément nutritionnel oral dont la dose était calibrée à 25% de la dépense énergétique théorique des patientes comprenant leur niveau d'activité physique rapporté, soit l'équivalent calorique d'un petit déjeuner.

Différentes séquences d'IRM ont été réalisées : tout d'abord une séquence morphologique T1, ensuite une spectroscopie par résonance magnétique de l'hypothalamus après positionnement d'un voxel de 1 cm³ sur l'hypothalamus dominant qui permet une analyse neurobiochimique de cette région après mesure de la concentration de différents métabolites cérébraux. Enfin une séquence de diffusion permettant de mesurer le déplacement des molécules d'eau au sein de l'hypothalamus et par la suite grâce à un algorithme de tractographie de reconstruire les faisceaux de fibres nerveuses partant de l'hypothalamus.

Une longue phase de post-traitement des images et des données recueillies a été nécessaire, d'abord afin de segmenter manuellement chaque noyau hypothalamique dans les trois plans de l'espace avant de concentrer les analyses de diffusion et de tractographie sur ces noyaux. Ensuite la spectroscopie a nécessité l'analyse de chaque spectre afin d'éliminer les données artefactées.

Les résultats seront présentés en deux temps. Dans l'article original publié dans Neuro-endocrinology présenté en I.A. (275) et introduit par une « Nouvelle » publiée dans

Médecine/sciences (277), les séquences de spectroscopie par résonance magnétique nucléaire puis de diffusion et de tractographie seront présentés. Par la suite (en I.B.) une étude complémentaire de volumétrie, qui fera l'objet d'une autre publication, a été réalisée, associée à des analyses de corrélations et discriminantes obtenues à partir des constats des premières séquences.

A. Déséquilibre structurel et fonctionnel hypothalamique chez l'anorexique mentale :

Grâce à la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire, notre étude a démontré que la réponse glutamatergique hypothalamique à la prise alimentaire est très nettement altérée chez les AM (275). De plus, le ratio glutamine sur créatine était significativement supérieur chez les anorexiques mentales après une nuit de jeûne et avant ingestion d'un petit déjeuner calibré, comparé à des contrôles sains. Cependant, une heure après le petit déjeuner, la concentration du ratio glutamine sur créatine chute drastiquement chez les patients AM et pas chez les contrôles. Ainsi nos résultats suggèrent qu'un dysfonctionnement s'opère dans le tonus glutamatergique hypothalamique des patients AM, correspondant à une inversion de la réponse glutamatergique à la prise alimentaire, associée à un seuil basal plus élevé dans la condition "à jeun".

Ces changements du seuil glutamatergique sont hautement liés à la plasticité synaptique neuronale. En effet, ces altérations observées *in vivo* chez le sujet AM sont en miroir de constats connus sur modèle murin où l'activation spécifique de populations neuronales glutamatergiques dans le noyau arqué (ARH) et l'aire hypothalamique latérale (LHA), provoque une satiété chez des souris ayant un accès illimité à l'alimentation (278, 279). Ces premiers résultats mettent en évidence la possible implication d'une dysrégulation glutamatergique dans la physiopathologie de l'AM.

Grâce aux techniques de diffusion puis de tractographie, il est possible de reconstruire les faisceaux de fibres nerveuses entre deux régions d'intérêts cérébrales. Grâce à une segmentation manuelle de chaque noyau hypothalamique, notre étude a permis pour la première fois de constater que le nombre de fibres nerveuses passant par l'ARH était considérablement réduit chez les patientes anorexiques et maigres constitutionnelles, alors que les fibres passant par la LHA sont bien moins importantes dans le groupe témoin. Or ces deux zones sont toutes les deux impliquées dans la régulation de la prise alimentaire, et dans la prise de décision et le schéma corporel pour la LHA.

L'IRM hypothalamique, un nouvel outil diagnostique dans l'anorexie mentale ?

Hypothalamic MRI, a new diagnostic tool in anorexia nervosa ?

Vincent Florent^{1,2}, Marc Baroncini^{1,3}, Vincent Prevot¹

1 Université Lille, Inserm UMRS 1172, CHU Lille, laboratoire de développement et plasticité du cerveau neuroendocrine, centre de recherche Jean-Pierre-Aubert, 59000 Lille, France

2 Service de nutrition, centre hospitalier d'Arras, 62000 Arras, France

3 Clinique de neurochirurgie, CHU Lille, 59000 Lille, France

Vincent.FLORENT@gh-artoisternois.fr

Marc.BARONCINI@CHRU-LILLE.FR

vincent.prevot@inserm.fr

L'anorexie mentale est une forme grave de trouble du comportement alimentaire (TCA), qui met souvent en jeu le pronostic vital [1, 2, 3]. Sa pathogenèse implique des facteurs socioculturels et psychopathologiques, mais aussi biologiques. En effet, des dysrégulations d'adipocytokines périphériques, de peptides gastro-intestinaux, ou de neurotransmetteurs centraux ont été rapportées [4]. Une prise en charge précoce des individus atteints, très majoritairement de sexe féminin, est un facteur important du pronostic. D'où l'intérêt d'évaluer la contribution possible de techniques non invasives d'imagerie cérébrale, comme celles utilisant la résonance magnétique nucléaire, pour un diagnostic précoce de la maladie.

L'imagerie par résonance magnétique (IRM), non invasive et non irradiante, est une technique de choix pour étudier, en recherche clinique, les changements morphologiques et fonctionnels de la région hypothalamique au cours des TCA [5]. Actuellement, il est possible d'étudier les sous-régions et les différents noyaux hypothalamiques en IRM « à haut champ » (3 teslas) [6]. On peut ainsi déterminer leur éventuelle contribution, agoniste ou antagoniste, dans la dérégulation de la balance énergétique chez les individus souffrant d'anorexie mentale.

La spectroscopie par résonance magnétique (SRM) est une technique d'IRM qui permet d'étudier la composition biochimique d'une région d'intérêt d'un volume minimal d'un cm³ (voxel) en IRM 3 Teslas. De nombreux métabolites peuvent être analysés, parmi lesquels le N-acétylaspartate (NAA), qui est un marqueur neuronal, le glutamate-glutamine (Glx), un marqueur de neurotransmission, ou encore le myo-inositol (ml), un marqueur glial. Nous avons montré que la réponse glutamatergique de l'hypothalamus à la prise alimentaire est très altérée chez les individus souffrant d'anorexie mentale. De plus, le rapport glutamine-glutamate / créatine chez les individus souffrant d'anorexie mentale après une nuit de jeûne et avant ingestion d'un petit déjeuner calibré s'est avéré être significativement supérieur à celui des témoins. En revanche, une heure après le petit déjeuner, ce rapport diminue considérablement chez les individus souffrant d'anorexie mentale, mais pas chez les témoins [7]. Ainsi nos résultats indiquent l'existence d'un dysfonctionnement dans le tonus

glutamatergique hypothalamique des individus souffrant d'anorexie mentale, correspondant à une inversion de la réponse glutamatergique à la prise alimentaire, associée à un tonus basal « à jeun » plus élevé (**Figure 1**). Ces changements doivent être interprétés à la lumière de résultats obtenus précédemment chez la souris : l'activation spécifique de populations neuronales glutamatergiques dans le noyau arqué de l'hypothalamus (ARH) et l'aire hypothalamique latérale (LHA) provoque en effet une satiété chez des souris ayant un accès illimité à l'alimentation [8, 9].

L'IRM de diffusion (diffusion tensor imaging, DTI), quant à elle, permet de mesurer le déplacement des molécules d'eau dans le parenchyme cérébral. Cela permet ensuite, grâce à l'anisotropie de la diffusion des molécules d'eau dû à la « barrière » des gaines de myéline, de « reconstruire » les faisceaux d'axones (tractographie), et il devient possible de comptabiliser le nombre de fibres nerveuses passant entre deux régions d'intérêt, ici différents noyaux hypothalamiques [10]. Afin d'étudier les changements de la microstructure hypothalamique pouvant expliquer les altérations fonctionnelles détectées en SRM, une « segmentation » est effectuée sur les séquences d'IRM anatomique pour individualiser chaque noyau hypothalamique. Un algorithme probabiliste détermine ensuite le nombre de fibres passant à travers chaque noyau hypothalamique. Notre étude, la première à réaliser une tractographie intra-hypothalamique, a ainsi permis de mettre en évidence une altération des « connectomes » de l'ARH et de la LHA chez les sujets souffrant d'anorexie mentale [7]. Le nombre de fibres nerveuses passant à travers l'ARH était considérablement réduit par rapport à celui de sujets témoins. Une altération de la connectivité de l'ARH en cas de sous-poids a d'ailleurs déjà été rapportée chez la souris [11, 12]. À l'inverse, la densité de fibres nerveuses dans la LHA était significativement plus importante que chez les sujets témoins. Or cette sous-région de l'hypothalamus joue un rôle capital non seulement dans le contrôle de la prise alimentaire, mais aussi dans l'intégration des informations intéroceptives et la modulation de l'activité des centres corticaux impliqués dans la prise de décision et la représentation du corps, qui est également perturbée dans l'anorexie mentale [13, 14].

Les techniques récentes de neuroimagerie sont donc très utiles pour explorer les anomalies structurelles et fonctionnelles présentes chez les individus souffrant d'anorexie mentale. Les résultats de notre étude centrée sur l'hypothalamus nous ont permis de formuler l'hypothèse de l'implication du « cerveau homéostatique » dans la pathogenèse de cette maladie considérée jusqu'alors comme purement comportementale, et fournissent un nouvel outil diagnostique au clinicien. Sur le plan thérapeutique, quelques essais de neurostimulation cérébrale profonde sont en cours, mais centrés sur des régions extra-hypothalamiques [15]. Nos résultats permettent désormais d'envisager la possibilité d'une activation ou d'une inhibition de sous-structures hypothalamiques dysfonctionnelles chez les patients afin de faciliter le retour à une prise alimentaire suffisante.

Remerciements

Ce projet a été soutenu par l'agence nationale de la recherche (ANR-16-CE37-0006).

Liens d'Intérêts

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

Références

1. Westmoreland P, Krantz MJ, Mehler PS. Medical complications of anorexia nervosa and bulimia. *Am J Med* 2016 ; 129 : 30-7.
2. Sullivan PF. Mortality in anorexia nervosa. *Am J Psychiat* 1995 ; 152 : 1073-4.
3. Hudson JI, Hiripi E, Pope HG Jr, Kessler RC. The prevalence and correlates of eating disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Biol Psychiat* 2007 ; 61 : 348-58.
4. Tortorella A, Brambilla F, Fabrazzo M, et al. Central and peripheral peptides regulating eating behaviour and energy homeostasis in anorexia nervosa and bulimia nervosa: a literature review. *Eur Eat Disord Rev* 2014 ; 22 : 307-20.
5. Frank GK, Bailer UF, Henry S, et al. Neuroimaging studies in eating disorders. *CNS spectrums*. 2004 ; 9 : 539-48.
6. Baroncini M, Jissendi P, Balland E, et al. MRI atlas of the human hypothalamus. *Neuroimage* 2012 ; 59 :168-80.
7. Florent V, Baroncini M, Jissendi-Tchofo P, et al. Hypothalamic structural and functional imbalances in anorexia nervosa. *Neuroendocrinology* 2019 ; DOI: 10.1159/000503147.
8. Fenselau H, Campbell JN, Verstegen AM, et al. A rapidly acting glutamatergic ARC → PVH satiety circuit postsynaptically regulated by a μ MSH. *Nat Neurosci* 2017 ; 20 : 42-51.
9. Jennings JH, Rizzi G, Stamatakis AM, et al. The inhibitory circuit architecture of the lateral hypothalamus orchestrates feeding. *Science* 2013 ; 341 : 1517-21.
10. Behrens TE, Johansen-Berg H, Woolrich MW, et al. Non-invasive mapping of connections between human thalamus and cortex using diffusion imaging. *Nat Neurosci* 2003 ; 6 : 750-7.
11. Caron E, Ciofi P, Prevot V, Bouret SG. Alteration in neonatal nutrition causes perturbations in hypothalamic neural circuits controlling reproductive function. *J Neurosci* 2012 ; 32 : 11486-94.
12. Bouret SG. Être connecté pour mieux manger. *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 958-9.
13. Carus-Cadavieco M, Gorbati M, Ye L, et al. Gamma oscillations organize top-down signalling to hypothalamus and enable food seeking. *Nature* 2017 ; 542 : 232-6.
14. Parnet P, Paillé V, Bolanos Jimenez F, et al. L'expérience sensorielle et nutritionnelle des parents et leur état métabolique orientent le comportement alimentaire de leur descendance. *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 85-92.
15. Lipsman N, Lam E, Volpini M, et al. Deep brain stimulation of the subcallosal cingulate for treatment-refractory anorexia nervosa: 1 year follow-up of an open-label trial. *Lancet Psychiat* 2017 ; 4 : 285-94.

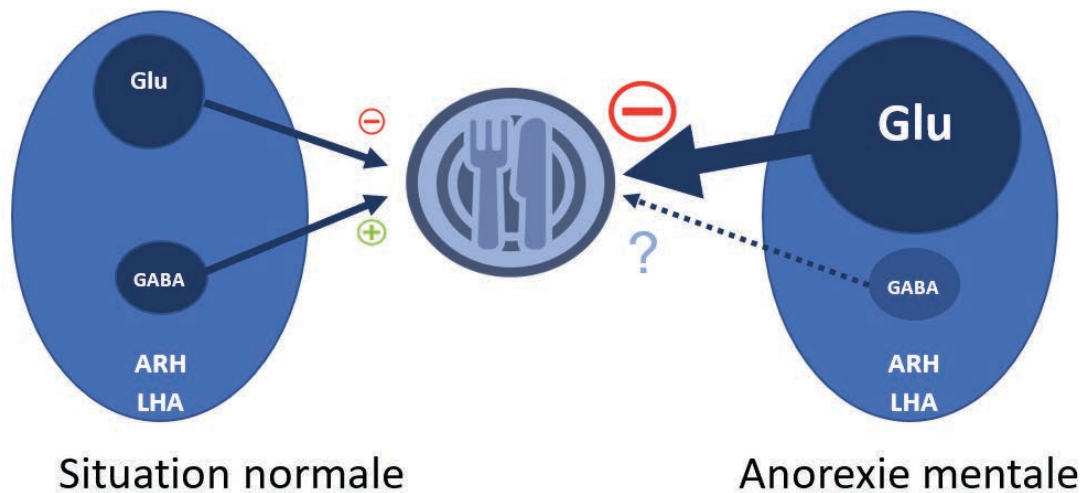


Figure 1: Hypothèse de la dysrégulation du tonus glutamatergique hypothalamique dans l'anorexie mentale. Les populations neuronales GABAergiques à neuropeptide Y et agouti-related protein (NPY/AgRP) du noyau arqué de l'hypothalamus (ARH), mais aussi celles de l'aire hypothalamique latérale (LHA), sont activatrices de la prise alimentaire (i.e., orexigènes), alors que les neurones glutamatergiques à pro-opiomélanocortine (POMC) de l'ARH et les neurones glutamatergiques de la LHA sont inhibiteurs de la prise alimentaire (i.e., anorexigènes) [8, 9]. Dans l'anorexie mentale, l'activité neuronale glutamatergique basale (avant prise alimentaire) est anormalement élevée dans l'hypothalamus, ce qui pourrait entraîner un défaut de perception de la sensation de faim et ainsi limiter la prise alimentaire.

Hypothalamic structural and functional imbalances in anorexia nervosa

Vincent Florent^{1,2,3,14}, Marc Baroncini^{1,2,4,13,14,15}, Patrice Jissendi-Tchofo^{5,6}, Renaud Lopes⁵, Matthieu Vanhoutte⁵, S. Rasika⁷, Jean-Pierre Pruvo^{2,5}, Jean Vignau⁸, Stephane Verdun⁹, Jeanette E. Johansen¹⁰, Marie Pigeyre^{2,11,12}, Sebastien G. Bouret^{1,2,13}, Ida A.K. Nilsson^{10,15}, Vincent Prevot^{1,2,15*}

¹ Inserm, Laboratory of Development and Plasticity of the Neuroendocrine Brain, U1172, Lille, France,

² Univ. Lille, school of medicine, Lille, France

³ Nutrition, Arras General Hospital, France

⁴ Neurosurgery, CHU Lille, France

⁵ Neuroradiology, CHU Lille France

⁶ CHU Saint-Pierre, ULB, Brussels, Belgium

⁷ APHP-R DEBRE, PROTECT, University Hospital, France

⁸ Psychiatry, CHU Lille, France

⁹ Biostatistics Department of the GHICL, Lomme, France

¹⁰ Department of Molecular Medicine & Surgery and Center for Molecular Medicine, Karolinska Institutet/Hospital, Stockholm, Sweden,

¹¹ Nutrition, CHU Lille

¹² U1190, European Genomic Institute for Diabetes (EGID), Lille, France

¹³ The Saban Research Institute, Developmental Neuroscience Program & Diabetes and Obesity Program, Center for Endocrinology, Diabetes and Metabolism, Children's Hospital Los Angeles, University of Southern California, Los Angeles, CA 90027, USA

¹⁴ These authors contributed equally to this work

¹⁵ These authors jointly directed this work

Running title: Hypothalamic defects in anorexia nervosa

* Corresponding author: Vincent Prevot, Ph.D., Inserm 1172, Bâtiment Biserte,
Place de Verdun, 59045 Lille Cedex, France
Tel : +33 612-90-38-76
E-mail : vincent.prevot@inserm.fr

ABSTRACT

The hypothalamus contains integrative systems that support life, including physiological processes such as food intake, energy expenditure and reproduction. Here, we show that anorexia nervosa patients, contrary to normal weight and constitutionally lean individuals, respond with a paradoxical reduction in hypothalamic levels of glutamate/glutamine (Glx) upon feeding. This reversal of the Glx response is associated with decreased wiring in the arcuate nucleus and increased connectivity in the lateral hypothalamic area, which are involved in the regulation on a variety of physiological and behavioral functions including the control of food intake and energy balance. The identification of distinct hypothalamic neurochemical dysfunctions and associated structural variations in anorexia nervosa paves the way for the development of new diagnostic and treatment strategies in conditions associated with abnormal body mass index and a maladaptive response to negative energy balance.

INTRODUCTION

Anorexia nervosa (AN) is a severe and complex mental disorder mainly affecting young adult women (1, 2). Patients with AN present with low body weight in conjunction with self-induced starvation, intense fear of gaining weight and body image distortion (3). One of the most questioning features of individuals with AN is their ability to chronically restrict energy intake whereas they are in an emaciated condition often for many years, and not rarely to the point of death. These alterations of interoception clearly illustrates a communication breakdown between the body and the brain, i.e. the inability of the brain to translate circulating factors that signal the energy state of the organism into the appropriate adaptive behavior (4). In fact, recent genome-wide association studies provide evidence of a genetic predisposition for a lower body weight set-point in AN, and also indicate that it is not merely a psychiatric but also a metabolic disorder (5, 6). However, among the wealth of functional MRI studies on the brain of AN patients (7), few if any have examined differences in the hypothalamus, a region crucially involved in perceiving and integrating metabolic signals. Moreover, very little is known about the mechanisms by which the brain reacts to acute energetic challenges such as those caused by the ingestion of a meal, either physiologically or in eating disorders. Deciphering these mechanisms is thus a prerequisite not only to obtaining insight into appropriate food intake regulation in healthy individuals, but also into how its deregulation could subtend pathological conditions such as AN.

To explore differences in brain structure and function in patients with AN and control subjects, and thus gain insight into the putative neurobiological mechanisms underlying maladaptive food intake, we used proton magnetic resonance (MR) spectroscopy (8) to measure brain metabolites as an index of function, and a probabilistic tractography algorithm (9) combined with diffusion-tensor imaging (10) to measure connectivity in the hypothalamus. Hunger and the hunger-mediated perception of food as a reward are thought to be mediated by circuits linking energy state to motivational drive to eat, which involves distributed and interconnected neuronal networks (11-14). One of these networks includes the arcuate nucleus of the hypothalamus (ARH) (12) that communicates with extra-hypothalamic structures such as the thalamus, which in turn project to cortical areas that integrate sensory

cues and the energy needs of the body (15). Appetite, the reward value of feeding and motor actions associated with ingestive behaviors also involve the lateral hypothalamic area (LHA) (13, 16, 17), which is bidirectionally connected with more than fifty distinct brain areas including in the midbrain, brainstem and the telencephalon (17, 18).

MATERIALS AND METHODS

Subjects

The study was carried out with the approval of the Comité de Protection des Personnes Nord Ouest IV (N°EudraCT: 2012-A01331-42), and informed consent was obtained from all included subjects. Three groups of ten female subjects with a mean age of 23.5 ± 0.8 were included (because only 10% of AN patients are male); all participants were under oral contraception to avoid any confounding effects of the menstrual cycle on the hypothalamus (8), except six out of ten women with AN who were in hypothalamic amenorrhea (i.e. an arrest of the menstrual cycle). Importantly, circulating estradiol levels in women receiving oral contraceptives, usually in the range of 20-30 ng/l (19), is comparable to the one found in AN patients with hypothalamic amenorrhea (20) and both type of subjects show low or absent pulsatile secretion of luteinizing hormone (21, 22).

Patients included in the study were diagnosed with AN of a restrictive subtype (AN-R) according to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Edition (DSM-IV), at least 1 year prior to the study ($n = 10$, $BMI < 18$), and were in treatment at the eating disorders unit of Lille university hospital. From a prescreening of 185 volunteers corresponding to the inclusion criteria, patients were selected according to a correspondence between the 13th or 14th day of the pill-induced menstrual cycle (the phase of the artificial menstrual cycle in which the hypothalamus is fully inhibited with regard to reproductive function, most similar to hypothalamic amenorrhea) and available time-slots for MRI for clinical research. Two control groups were constituted from among selected volunteers: normal-weight controls ($n = 10$, $20 < BMI < 25$) and individuals with constitutional leanness ($n = 10$, $BMI < 18.5$), defined as non-pathological underweight that does not meet the DSM-IV

criteria for AN-R. No subjects included in any of the two control groups had a personal or family history of eating disorders or a food cognitive restraint score lower than 13 on the three-factor eating questionnaire (TFEQ) (23). The predicted basal energy expenditure of each volunteer was calculated using the Harris and Benedict equation (24).

The incidence of treatment-seeking AN patients being very low, i.e. about 8 per 100,000 person-years (1), the recruitment of the ten AN patients willing to participate to the study required more than one year. This sample size was chosen in order to give sufficient power to detect a difference in metabolic MRI activity in the same subject before and after food intake as well as in connectivity between groups. This number compares favorably with previous MR spectroscopy (8, 25) and diffusion weighted imaging studies (8, 26) that have been conducted in the human hypothalamus. This, together with the aforementioned stringent screening of the population of subjects to restrict as much as possible inter-individual variability, ensured adequate power to detect significant differences while also allowing for natural variation in responses (Table S1-S5).

Investigative protocol

The participants had a first MRI after overnight fasting at 08:00 a.m. This first MRI session lasted 45 minutes and comprised 1 morphological sequence and 3 functional sequences. The participants were then asked to ingest a nutritional supplement as breakfast. This breakfast was calibrated to 25% of the predicted basal energy expenditure for each participant (Table 1). One hour after food intake, the participants were subjected to a second 45-min MRI session (i.e. at 10:00 a.m.). Importantly, all subjects, including AN patients, had volunteered to ingest this calibrated breakfast, which was consumed together with a medical team trained for the purpose, in order to limit the anxiety of patients.

Image acquisition

All MR exams were performed at the University Hospital of Lille on a 3T Philips Achieva scanner (Philips Healthcare, Best, the Netherlands) using an 8-channel phased-array head coil and a whole-body coil transmission. First, high-resolution three-dimensional T1-weighted

images were acquired as a series of thick 176 sagittal slices, using a Turbo Field Echo sequence (TR = 7.20 ms; TE = 3.3 ms; flip-angle = 9°; voxel size = 1 x 1 x 1 mm³, FOV = 256 x 256 x 176 mm³). Then, two diffusion-weighted imaging were performed using a single-shot Echo-Planar Imaging sequence in normal and reversed phase-encoding polarity, for further distortion correction (TR = 13 s, TE = 55 ms, flip angle = 90°; voxel size = 2 x 2 x 2 mm³, FOV = 256 x 256 mm², 66 slices, acceleration factor of 2, 64 gradient-encoded directions with a b-value of 1000 s/mm², one b = 0 s/mm² image). Finally, two PRESS localized spectra were acquired over hypothalamus and thalamus volumes (TR = 2000 ms, TE = 37 ms, FOV = 10 x 10 x 10 mm³ and a spectral resolution of 1.95 Hz/point). In the hypothalamus, the voxel used for spectroscopy was placed between the plates number 31 and 41 of the atlas of Mai (27) on the wall of the third ventricle and just above the optic tract. In the thalamus, the voxel was placed between the plates number 45 and 52 (27), 5 and 15 mm above the bi-commissural line, and 5 mm lateral from the midline. While the voxel did not include the paraventricular thalamic nucleus, which lies at the immediate proximity of the third ventricle, it comprised mainly the mediodorsal thalamic nucleus and the posterior ventrolateral nucleus, and some of the lateral and medial thalamic ventroposterior nuclei as well as the centromedial thalamic nucleus at the most posterior aspect of the voxel.

Spectral analysis

The absolute metabolite concentrations were obtained using the LCmodel (28) quantification algorithm. Within LCmodel, concentrations of metabolites are determined using a linear combination fit of the individual *in vitro* metabolite spectra that comprise the “basis set” to the *in vivo* data. The basis set was acquired with long TR and short TE to minimize relaxation effects. Only voxels within the excitation region were presented for LCmodel analysis without any other preprocessing such as zero filling or apodization. Peak registration in LCmodel was performed using the prominent peaks of glutamine, glutamate and creatine observed inside hypothalamus volume of interest (VOI), while using thalamus as control VOI. The spectral analysis window, 3.85 ppm to 1.0 ppm was used for 3T data to prevent variability in

the results from lipid artifacts that are more prominent at 3T. Spectra were included in the final analysis based on quality criteria defined by objective output parameters from the LCmodel analysis: sufficient spectral resolution (full width at half minimum 0.07 ppm), sufficient information (SNR 4) and residuals that were randomly scattered about zero to indicate a reasonable fit to data. By using the analysis window of 3.85 ppm, deviations in the fit due to baseline distortion from improper water suppression were avoided. All spectra included in the results had smooth and reasonably flat baseline estimates.

Processing of T1-weighted images

T1-weighted images were processed with the Freesurfer software package (v5.3, <http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>), which provided non-uniformity and intensity correction, skull stripping, and gray/white matter segmentation (box 1 in Figure S4). The thirty-four regions of interest (ROIs), constituting the sub-segmentation of the hypothalamus, were manually defined on each T1-weighted patient image (box 2 in Figure S4) based on anatomy (Figure S2) and using the MRI atlas of the human hypothalamus (10), as a reference. T1-weighted images were coregistered onto b0 images using a rigid-body model implemented in the Statistical Parametric Mapping software (SPM, v12, <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>) (box 3 in Figure S4). Coregistration between T1-weighted and b0 images was validated by a neuroradiologist expert from visual assessment. All hypothalamic ROIs defined in T1 space had to be transformed into diffusion space, where all calculations were done, using the coregistration matrix above. The white matter mask was computed by floodfilling the interior of the white surface in intersection with the brain mask, creating a volume containing both white matter and ROIs defining sub-segmentation of the hypothalamus.

Processing of diffusion weighted imaging (DWI)

First, each DWI dataset was aligned to its b0 image using affine registration to correct for patient motion and Eddy currents using FSL (FMRIB Software Library, <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>) (box a in Figure S4). Then, CMTK (Computational

Morphometry Toolkit, <https://www.nitrc.org/projects/cmtk/>) was used to estimate the deformation field from opposite phase-encoding polarity (box b in Figure S4) and apply correction to DWI images (box c in Figure S4) to get free images from geometric distortions (29). Diffusion tensors were fitted at each voxel (box d in Figure S4) to calculate fractional anisotropy (FA) and mean diffusivity (MD) maps (box e in Figure S4). Whole-brain tractography was done with the MRtrix software package (v0.2.12, Brain Research Institute, Melbourne, Australia, <http://www.brain.org.au/software/>) (boxes f-f'' in Figure S4). Fiber orientation distribution (FOD) at highly anisotropic voxels ($FA > 0.7$) determined the response function (box f' in Figure S4), which was then used for constrained spherical deconvolution (box f'' in Figure S4) to accurately estimate the FOD (30). Fibers were then generated with a probabilistic tracking algorithm that samples FOD at each step (9). The algorithm generated 150000 fibers of minimum length 20 mm. All voxels in the 1-mm dilated white matter mask were used as seeds and the tracking procedure was stopped if a fiber reached a voxel outside the mask or if a stop criterion was met (high fiber curvature or low FOD) (box f''' in Figure S4). Finally, two features were computed for each coregistered ROI defining sub-segmentation of the hypothalamus: (i) Connectivity information is computed from whole brain tractography as the number of fibers passing through the ROI (box g in Figure S4) and (ii) the mean MD/FA inside each of these ROI (box e in Figure S4). Importantly, there was no difference between participants in the ratio of the volume of the distinct ROIs under scrutiny to the intracranial volume. A visual quality control of the tractography was made based on well-known bundles as the postcommissural fornix and the principal mammillary bundle passing through the hypothalamus. These bundles were used as reference to exclude any aberrant tractography.

Statistics

All analyses were performed using Prism 7 (GraphPad Software) and assessed for normality (D'Agostino & Pearson normality test) and variance, when appropriate. Even though the study was conducted with 10 subjects in each group, the number of independent values plotted in the graphs (n) varied between 8 and 10, because one of the two spectra acquired

during functional MRS was not exploitable or DWI data were lacking for a given ROI. Data had normal distributions and were compared using a one-way ANOVA for multiple comparisons or a two-way repeated-measures ANOVA. The significance level was set at $p < 0.05$. Data are indicated as means \pm SEM. The number of biologically independent experiments, P values and degrees of freedom are indicated either in the main text or in the figure legends.

RESULTS AND DISCUSSION

The hypothalamic glutamatergic response to food intake is markedly altered in anorexia nervosa

In order to determine whether hypothalamic neuronal activity responded differently to food intake in patients with AN as compared to control women, we used task-related proton magnetic resonance spectroscopy (MRS), whose sensitivity makes it suitable for the study of functional changes (31). We compared brain concentrations of glutamine+glutamate (Glx) as a marker of glutamatergic (dys)function, between women newly hospitalized for AN and healthy control women both before and after feeding (Table 1); other metabolites - N-acetyl aspartate (NAA), myoinositol (Ins) and choline (Chol) and creatin (Figure S1) were used to estimate overall neural integrity and function. A third group of women displaying constitutional leanness, i.e. a body mass index comparable to that of AN patients but with no food dysphoria, were also investigated (Table 1) (32). Participants underwent an overnight fast, followed by two multimodal magnetic resonance imaging (MRI) sessions before and after the ingestion of a calibrated breakfast, respectively. Voxel-based spectroscopic analyses of freely moving molecules were performed both in the hypothalamus and in the thalamus, and data were normalized to creatine, in a relative quantitative approach (Figure 1, Figure S1). In the hypothalamus, the feeding-evoked response of the Glx-to-creatine ratio differed significantly between the groups (one-way ANOVA: $F_{(2,23)} = 5.807$, $P = 0.009$, $n = 8-10$ women per group. Tukey's multiple comparison test: control vs. AN, $q_{(23)} = 4.42$, $P = 0.013$; constitutional leanness vs. AN, $q_{(23)} = 3.97$, $P = 0.026$; control vs. constitutional

leanness, $q_{(23)} = 0.69$, $P = 0.877$, Table S1) (Figure 1B). The ratio also varied at baseline, i.e. under fasting conditions, between the three groups (Figure 1C). Thus, while the mean Glx-to-creatine ratio was significantly higher before ingestion of the calibrated breakfast in women with AN than in healthy women (two-way repeated measure ANOVA: interaction, $F_{(2,23)} = 5.807$, $P = 0.009$; subjects, $F_{(2,23)} = 0.656$, $P = 0.528$; time, $F_{(1,23)} = 0.181$, $P = 0.674$; Sydac's multiple comparison test: Control fasting vs. AN fasting $t_{(46)} = 2.767$, $P = 0.020$, $n = 8$ persons per group, Table S2) (Figure 1C), one hour after feeding, the ratio of Glx-to-creatine concentrations in the hypothalamus dropped to below prefeeding levels in AN patients (AN fasting vs. AN fed $t_{(23)} = 2.964$, $P = 0.021$, $n = 8$ persons per group) (Figure 1C), in contrast to control (Control fasting vs. Control fed $t_{(23)} = 1.454$, $P = 0.406$, $n = 8$ persons per group) and constitutionally lean participants (Lean fasting vs. Lean fed $t_{(23)} = 0.891$, $P = 0.764$, $n = 10$ persons per group), who showed a slight increase (Figure 1C). The calibrated breakfast thus induced an acute decrease in the ratio of Glx-to-creatine concentrations only in AN patients (Figure 1C), reducing it to values comparable to those in control participants before breakfast (Figure 1C). Such a divergence in ratios between AN and normal-weight or lean individuals and the corresponding feeding-induced changes were not seen in the thalamus (Figure 1E, Table S3, Figure 1F, Table S4). The ratio of NAA to creatine concentrations did not differ between the three groups of women, and displayed no significant change in response to feeding in either the hypothalamus (Figure S1A, Table S1) or the thalamus (Figure S1B, Table S3). Altogether our MRS findings suggest a glutamatergic dysfunction in the hypothalamus of patients with AN, i.e. an inversion of the glutamatergic response to feeding combined with higher baseline levels in the fasting state. Rodent studies using advanced genetic tools have recently demonstrated that the selective activation of discrete glutamatergic neuronal populations in the ARH and in the LHA mediates satiety in mice fed ad libitum (33) and suppresses feeding in food-deprived mice (34), respectively. Unfortunately, due to physical limitations (3T magnet; 60-cm tunnel diameter; min-acquisition time) and ethical standards (short scanning times in non-anesthetized human volunteers), sub-regions of the hypothalamus are not amenable to scrutiny using MRS in the brain of living humans.

Glutamate and glutamine have several roles that are not related to neurotransmission. However, since Glx levels were measured both prior to and after a functional task, i.e. feeding, the changes we see likely reflect glutamatergic metabolism related to neuronal activation (31, 35). Because cellular glutamate changes are tightly linked to synaptic plasticity (36), the apparent glutamatergic alterations observed at the macroscopic level are likely to reflect experience-related plasticity as well. In this context, our data raise the intriguing possibility that glutamatergic dysfunction plays a role in the pathophysiology of AN, or indeed, of other eating disorders. Targeting the glutamatergic drive, which normally suppresses feeding (33, 34, 37), could thus hold therapeutic potential for treating this disorder. Moreover, the similarities between human AN and the constitutive activation of hypothalamic glutamatergic neuronal populations in mice suggest that the latter could constitute a novel and appropriate animal model for further studies of this disease.

In addition to glutamate, the hypothalamus also contains abundant neuronal populations releasing the neurotransmitter GABA, including the orexigenic neurons expressing AgRP and NPY in the ARH (12, 13) and cells in the LHA (13, 16); selective activation of GABA-producing neurons in the LHA produces voracious feeding (17, 38). Glutamatergic and GABAergic neurons in the hypothalamus are thus poised to exert opposing effects on food intake. Hence, it is tempting to speculate that GABA levels may mirror changes in glutamate levels before and after feeding in AN patients. Assessment of GABA levels using MRS requires the use of the MEGA-PRESS method that has to be run separately from the classical sequence allowing the direct detection of Glx and other metabolites. The use of this sequence implies to increase the scan time for the volunteers and this is something that could not be done in the present protocol for ethical standards (i.e. our participants have indeed been subjected to two consecutive sessions of 45 min, which is the maximum acceptable scan time in unanesthetized and live humans). Further studies will thus need to be designed to investigate the putative changes in GABA levels with feeding in the hypothalamus of AN patients and controls in the future.

The arcuate nucleus and lateral hypothalamic area show inverse malwiring in anorexia nervosa

To investigate changes in the microstructure of the hypothalamus that could underlie these functional changes, we next manually segmented each hypothalamic structure or nucleus using high-resolution anatomical MRI sequences (10) for all thirty participants individually (Figure 2; Figure S2). Each of the hypothalamic segments thus constituted a region of interest for diffusion-weighted imaging after their transformation into diffusion space. We then used a probabilistic tractography algorithm to determine the number of fibers passing through or present in the distinct regions of interest in a single subject (9). The results showed that both AN and constitutional leanness were associated with a profound reduction in the number of fibers in the ARH (one-way ANOVA: $F_{(2,22)} = 5.059$, $P = 0.016$; Tukey's multiple comparison test: Control vs. Lean $q_{(22)} = 4.073$, $P = 0.023$, $n = 8$ and 9 persons per group and Control vs. AN $q_{(22)} = 3.733$, $P = 0.038$, $n = 8$ persons per group, Table S5) (Figure 3A). In contrast, tractography data revealed that the average density of fibers in the LHA was significantly higher only in patients with AN (one-way ANOVA: $F_{(2,27)} = 4.345$, $P = 0.023$; Tukey's multiple comparison test: Control vs. AN $q_{(27)} = 3.832$, $P = 0.03$, $n = 10$ persons per group, Table S5) but not in participants with constitutional leanness (Control vs. Lean $q_{(27)} = 0.495$, $P = 0.935$, $n = 10$ persons per group) (Figure 3B). Even though diffusion tensor imaging does not enable us to distinguish between incoming and outgoing fibers (or fibers of passage) in a given region of interest, fiber tracts connecting to the ARH were shown to travel via the LHA, the dorsomedial hypothalamic nucleus (DMH), the paraventricular hypothalamic nucleus (PaPo) and the paraventricular thalamic nucleus (PV) (Figure 3A), hypothalamic and extrahypothalamic structures to which ARH neurons are known to project in rodents (12, 13, 40). No differences between groups were noted in the other hypothalamic regions of interest analyzed (Figure S3, Table S5). These data provide direct evidence that conditions with a low body mass index may be associated with an alteration of the connectivity of the ARH, a phenomenon that is, intriguingly, reminiscent of observations in mice (41). Indeed, mouse studies have demonstrated that in animals exhibiting constitutionally low body weight due to nutritional manipulation during postnatal

development, projections from the ARH to its hypothalamic targets, which develop relatively late in postnatal life (42-45), are significantly and permanently decreased when compared to mice with normal body weight (41). An alternative hypothesis is that axons projecting to or from the ARH undergo selective degeneration, as has been shown in a genetic animal model of anorexia (46) via a process involving inflammation (47) and mitochondrial dysfunction (48). However, our spectroscopic data showing that hypothalamic levels of NAA, routinely used in the clinic to detect neurodegenerative processes (49), are unchanged compared to controls (Figure S1A) argues against the involvement of a degenerative process in the hypothalamus of individuals with a low body mass index. Interestingly, when the lean phenotype is associated with maladaptive feeding behavior, i.e. in participants with AN, the decrease in the ARH fiber density, also evident in constitutionally lean individuals, is accompanied by a more specific increase in connectivity of the LHA (Figure 3), a critical neuroanatomical substrate for motivated behavior (13, 16). In line with this putative alteration of neuronal wiring, genome-wide association studies in AN have identified genetic variants in neurodevelopmental genes regulating synapse and neuronal network formation (50).

This study compared metabolites in the hypothalamus under fasting conditions and after the ingestion of a meal, and the structure of the underlying neuroanatomical substrate in individuals with AN and constitutional leanness. Prior functional MRI studies, limited to extra-hypothalamic structures, have examined the effect of feeding and of the peripheral administration of metabolically active molecules on appetite and brain activation in healthy volunteers (51, 52), and of the neural responses to the passive viewing of food (53-55) or food choice in AN (56). Our results raise the provocative idea that the origin of the disconnect between the body's needs and behavioral choices in patients with AN could lie in the hypothalamus, the metabolic window to the brain, which could fail to accurately sense circulating metabolic signals (57, 58) and post-ingestive cues (59, 60), and thus relay erroneous information to higher decision centers. The recent correlation of genetic variants, including some expressed in the hypothalamus, with metabolic traits in AN (5, 6), provides further corroboration for this hypothesis. In addition, our data suggest that, as proposed for obesity (61), AN could be a neurodevelopmental disorder in which an individual's

predisposition is determined by the malwiring and dysfunction of hypothalamic nuclei that communicate with the neuroendocrine and autonomous nervous systems and key decision centers in the telencephalon via subcortical circuits. These centers are crucial for certain important and interrelated functions such as the control of energy homeostasis and food intake, the attribution of reward value to food, and bodily representation. Our results shed new light on the pathophysiology of AN by providing potential neurobiological explanations to the aberrant response to low energy state and may thus prove key to developing effective treatments for this debilitating illness.

SUPPLEMENTAL INFORMATION

Supplemental information includes 5 tables and 4 figures.

STATEMENT OF ETHICS

The study was carried out with the approval of the Comité de Protection des Personnes Nord Ouest IV (N°EudraCT: 2012-A01331-42), and informed consent was obtained from all included subjects.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

FUNDING SOURCES

This research was supported by the Agence Nationale de la Recherche (ANR, ANR-16-CE37-0006, France to V.P.), a NARSAD YI Grant from the Brain and Behavior Research Foundation (to I.A.K.N), the Swedish Foundations; Brain and Lundbeck (to I.A.K.N) and the NEUROBESE International Associated Laboratory (Inserm, University of Lille, Children Hospital of Los Angeles, to S.G.B. and V.P.), and the National Institutes of Health (Grants DK84142, DK102780, and DK118401 to SGB).

AUTHORS CONTRIBUTION

V.F., M.B., I.A.K.N. and V.P. designed the experiments. V.F., J.V. and M. P. screened and included the volunteers in the study. V.F., P.J.-T., R.L., M.V., M.M., D.L., A.L., M.T.S., P.C., A.S. and V.P. performed the experiments. V.F., M.B., P.J.-T., R.L., M.V. and V.P. analyzed the data. V.F. and S.V. performed the statistical analyses. All authors discussed the results and made edits to the manuscript. V.F., M.B., I.A.K.N. and V.P. wrote the manuscript.

REFERENCES

1. Treasure J, Zipfel S, Micali N, Wade T, Stice E, Claudino A, et al. Anorexia nervosa. *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1:15074.
2. Zipfel S, Giel KE, Bulik CM, Hay P, Schmidt U. Anorexia nervosa: aetiology, assessment, and treatment. *Lancet Psychiatry*. 2015;2(12):1099-111.
3. Kaye WH, Wierenga CE, Bailer UF, Simmons AN, Bischoff-Grethe A. Nothing tastes as good as skinny feels: the neurobiology of anorexia nervosa. *Trends Neurosci*. 2013;36(2):110-20.
4. Schorr M, Miller KK. The endocrine manifestations of anorexia nervosa: mechanisms and management. *Nature reviews Endocrinology*. 2017;13(3):174-86.
5. Duncan L, Yilmaz Z, Gaspar H, Walters R, Goldstein J, Anttila V, et al. Significant Locus and Metabolic Genetic Correlations Revealed in Genome-Wide Association Study of Anorexia Nervosa. *Am J Psychiatry*. 2017;174(9):850-8.
6. Hinney A, Kesselmeier M, Jall S, Volckmar AL, Focker M, Antel J, et al. Evidence for three genetic loci involved in both anorexia nervosa risk and variation of body mass index. *Mol Psychiatry*. 2017;22(2):321-2.
7. King JA, Frank GK, Thompson PM, Ehrlich S. Structural Neuroimaging of Anorexia Nervosa: Future Directions in the Quest for Mechanisms Underlying Dynamic Alterations. *Biol Psychiatry*. 2018;83(3):224-34.
8. Baroncini M, Jissendi P, Cateau-Jonard S, Dewailly D, Pruvo JP, Francke JP, et al. Sex steroid hormones-related structural plasticity in the human hypothalamus. *Neuroimage*. 2010;50(2):428-33.
9. Behrens T, Johansen-Berg H, Woolrich M, Smith S, Wheeler-Kingshott C, Boulby P, et al. Non-invasive mapping of connections between human thalamus and cortex using diffusion imaging. *Nature neuroscience*. 2003;6(7):750-7.
10. Baroncini M, Jissendi P, Balland E, Besson P, Pruvo JP, Francke JP, et al. MRI atlas of the human hypothalamus. *Neuroimage*. 2012;59(1):168-80.
11. Gautron L, Elmquist JK, Williams KW. Neural control of energy balance: translating circuits to therapies. *Cell*. 2015;161(1):133-45.
12. Andermann ML, Lowell BB. Toward a Wiring Diagram Understanding of Appetite Control. *Neuron*. 2017;95(4):757-78.
13. Sternson SM, Eiselt AK. Three Pillars for the Neural Control of Appetite. *Annu Rev Physiol*. 2017;79:401-23.
14. Zimmerman CA, Leib DE, Knight ZA. Neural circuits underlying thirst and fluid homeostasis. *Nat Rev Neurosci*. 2017;18(8):459-69.
15. Livneh Y, Ramesh RN, Burgess CR, Levandowski KM, Madara JC, Fenselau H, et al. Homeostatic circuits selectively gate food cue responses in insular cortex. *Nature*. 2017;546(7660):611-6.
16. Stuber GD, Wise RA. Lateral hypothalamic circuits for feeding and reward. *Nat Neurosci*. 2016;19(2):198-205.
17. Carus-Cadavieco M, Gorbati M, Ye L, Bender F, van der Veldt S, Kosse C, et al. Gamma oscillations organize top-down signalling to hypothalamus and enable food seeking. *Nature*. 2017;542(7640):232-6.
18. Croizier S, Chometton S, Fellmann D, Risold PY. Characterization of a mammalian prosencephalic functional plan. *Front Neuroanat*. 2014;8:161.
19. Mishell DR, Jr., Thorneycroft IH, Nakamura RM, Nagata Y, Stone SC. Serum estradiol in women ingesting combination oral contraceptive steroids. *Am J Obstet Gynecol*. 1972;114(7):923-8.
20. Estour B, Germain N, Diconne E, Frere D, Cottet-Emard JM, Carrot G, et al. Hormonal profile heterogeneity and short-term physical risk in restrictive anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(5):2203-10.
21. Marshall JC, Kelch RP. Low dose pulsatile gonadotropin-releasing hormone in anorexia nervosa: a model of human pubertal development. *J Clin Endocrinol Metab*. 1979;49(5):712-8.
22. Hemrika DJ, Slaats EH, Kennedy JC, de Vries Robles-Korsen TJ, Schoemaker J. Pulsatile luteinizing

- hormone patterns in long term oral contraceptive users. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1993;77(2):420-6.
23. de Lauzon B, Romon M, Deschamps V, Lafay L, Borys JM, Karlsson J, et al. The Three-Factor Eating Questionnaire-R18 is able to distinguish among different eating patterns in a general population. *J Nutr*. 2004;134(9):2372-80.
 24. Frankenfield DC, Muth ER, Rowe WA. The Harris-Benedict studies of human basal metabolism: history and limitations. *J Am Diet Assoc*. 1998;98(4):439-45.
 25. Joers JM, Deelchand DK, Kumar A, Moheet A, Seaquist E, Henry PG, et al. Measurement of Hypothalamic Glucose Under Euglycemia and Hyperglycemia by MRI at 3T. *J Magn Reson Imaging*. 2017;45(3):681-91.
 26. Lemaire JJ, Frew AJ, McArthur D, Gorgulho AA, Alger JR, Salomon N, et al. White matter connectivity of human hypothalamus. *Brain Res*. 2011;1371:43-64.
 27. Mai JK, Majtanik M, Paxinos G. Atlas of the human brain. 4th edition ed: Academic press; 2016.
 28. Provencher SW. Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magnetic resonance in medicine*. 1993;30(6):672-9.
 29. Rohlfing T, Maurer CR. Nonrigid image registration in shared-memory multiprocessor environments with application to brains, breasts, and bees. *IEEE transactions on information technology in biomedicine*. 2003;7(1):16-25.
 30. Tournier J-D, Calamante F, Connelly A. Robust determination of the fibre orientation distribution in diffusion MRI: non-negativity constrained super-resolved spherical deconvolution. *Neuroimage*. 2007;35(4):1459-72.
 31. Stanley JA, Raz N. Functional Magnetic Resonance Spectroscopy: The "New" MRS for Cognitive Neuroscience and Psychiatry Research. *Front Psychiatry*. 2018;9:76.
 32. Estour B, Marouani N, Sigaud T, Lang F, Fakra E, Ling Y, et al. Differentiating constitutional thinness from anorexia nervosa in DSM 5 era. *Psychoneuroendocrinology*. 2017;84:94-100.
 33. Fenselau H, Campbell JN, Versteegen AM, Madara JC, Xu J, Shah BP, et al. A rapidly acting glutamatergic ARC-->PVH satiety circuit postsynaptically regulated by alpha-MSH. *Nat Neurosci*. 2017;20(1):42-51.
 34. Jennings JH, Rizzi G, Stamatakis AM, Ung RL, Stuber GD. The inhibitory circuit architecture of the lateral hypothalamus orchestrates feeding. *Science*. 2013;341(6153):1517-21.
 35. Duarte JMN, Xin L. Magnetic Resonance Spectroscopy in Schizophrenia: Evidence for Glutamatergic Dysfunction and Impaired Energy Metabolism. *Neurochem Res*. 2018.
 36. McEwen BS, Morrison JH. The brain on stress: vulnerability and plasticity of the prefrontal cortex over the life course. *Neuron*. 2013;79(1):16-29.
 37. Nectow AR, Schneeberger M, Zhang H, Field BC, Renier N, Azevedo E, et al. Identification of a Brainstem Circuit Controlling Feeding. *Cell*. 2017;170(3):429-42 e11.
 38. Jennings JH, Ung RL, Resendez SL, Stamatakis AM, Taylor JG, Huang J, et al. Visualizing hypothalamic network dynamics for appetitive and consummatory behaviors. *Cell*. 2015;160(3):516-27.
 39. Puts NA, Edden RA. In vivo magnetic resonance spectroscopy of GABA: a methodological review. *Progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy*. 2012;60:29-41.
 40. Elmquist JK, Coppari R, Balthasar N, Ichinose M, Lowell BB. Identifying hypothalamic pathways controlling food intake, body weight, and glucose homeostasis. *J Comp Neurol*. 2005;493(1):63-71.
 41. Caron E, Ciofi P, Prevot V, Bouret SG. Alteration in neonatal nutrition causes perturbations in hypothalamic neural circuits controlling reproductive function. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2012;32(33):11486-94.
 42. Bouret SG, Draper SJ, Simerly RB. Trophic action of leptin on hypothalamic neurons that regulate feeding. *Science*. 2004;304(5667):108-10.
 43. Bouret SG, Draper SJ, Simerly RB. Formation of projection pathways from the arcuate nucleus of the hypothalamus to hypothalamic regions implicated in the neural control of feeding behavior in mice. *JNeurosci*. 2004;24(11):2797-805.
 44. Vogt MC, Paeger L, Hess S, Steculorum SM, Awazawa M, Hampel B, et al. Neonatal insulin action impairs hypothalamic neurocircuit formation in response to maternal high-fat feeding. *Cell*. 2014;156(3):495-509.
 45. Steculorum SM, Collden G, Coupe B, Croizier S, Lockie S, Andrews ZB, et al. Neonatal ghrelin programs development of hypothalamic feeding circuits. *J Clin Invest*. 2015;125(2):846-58.
 46. Broberger C, Johansen J, Johansson C, Schalling M, Hokfelt T. The neuropeptide Y/agouti gene-related protein (AGRP) brain circuitry in normal, anorectic, and monosodium glutamate-treated mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(25):15043-8.
 47. Nilsson IA, Thams S, Lindfors C, Bergstrand A, Cullheim S, Hokfelt T, et al. Evidence of hypothalamic degeneration in the anorectic anx/anx mouse. *Glia*. 2011;59(1):45-57.
 48. Lindfors C, Nilsson IA, Garcia-Roves PM, Zuberi AR, Karimi M, Donahue LR, et al. Hypothalamic mitochondrial dysfunction associated with anorexia in the anx/anx mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A*.

2011;108(44):18108-13.

49. Kantarci K. Magnetic resonance spectroscopy in common dementias. *Neuroimaging Clin N Am*. 2013;23(3):393-406.
50. Boraska V, Franklin CS, Floyd JA, Thornton LM, Huckins LM, Southam L, et al. A genome-wide association study of anorexia nervosa. *Mol Psychiatry*. 2014;19(10):1085-94.
51. De Silva A, Salem V, Long CJ, Makwana A, Newbould RD, Rabiner EA, et al. The gut hormones PYY 3-36 and GLP-1 7-36 amide reduce food intake and modulate brain activity in appetite centers in humans. *Cell Metab*. 2011;14(5):700-6.
52. Luo S, Monterosso JR, Sarpelleh K, Page KA. Differential effects of fructose versus glucose on brain and appetitive responses to food cues and decisions for food rewards. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(20):6509-14.
53. Uher R, Brammer MJ, Murphy T, Campbell IC, Ng VW, Williams SC, et al. Recovery and chronicity in anorexia nervosa: brain activity associated with differential outcomes. *Biol Psychiatry*. 2003;54(9):934-42.
54. Ellison Z, Foong J, Howard R, Bullmore E, Williams S, Treasure J. Functional anatomy of calorie fear in anorexia nervosa. *Lancet*. 1998;352(9135):1192.
55. Kuhn AB, Feis DL, Schilbach L, Kracht L, Hess ME, Mauer J, et al. FTO gene variant modulates the neural correlates of visual food perception. *Neuroimage*. 2016;128:21-31.
56. Foerde K, Steinglass JE, Shohamy D, Walsh BT. Neural mechanisms supporting maladaptive food choices in anorexia nervosa. *Nat Neurosci*. 2015;18(11):1571-3.
57. Galusca B, Jeandel L, Germain N, Alexandre D, Leprince J, Anouar Y, et al. Orexigenic neuropeptide 26RFa: new evidence for an adaptive profile of appetite regulation in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(6):2012-8.
58. Collden G, Tschop MH, Muller TD. Therapeutic Potential of Targeting the Ghrelin Pathway. *Int J Mol Sci*. 2017;18(4).
59. Su Z, Alhadeff AL, Betley JN. Nutritive, Post-ingestive Signals Are the Primary Regulators of AgRP Neuron Activity. *Cell Rep*. 2017;21(10):2724-36.
60. Clemmensen C, Muller TD, Woods SC, Berthoud HR, Seeley RJ, Tschop MH. Gut-Brain Cross-Talk in Metabolic Control. *Cell*. 2017;168(5):758-74.
61. Bouret SG. Development of Hypothalamic Circuits That Control Food Intake and Energy Balance. In: Harris RBS, editor. *Appetite and Food Intake: Central Control*. 2nd ed. Boca Raton (FL)2017.

FIGURE LEGENDS

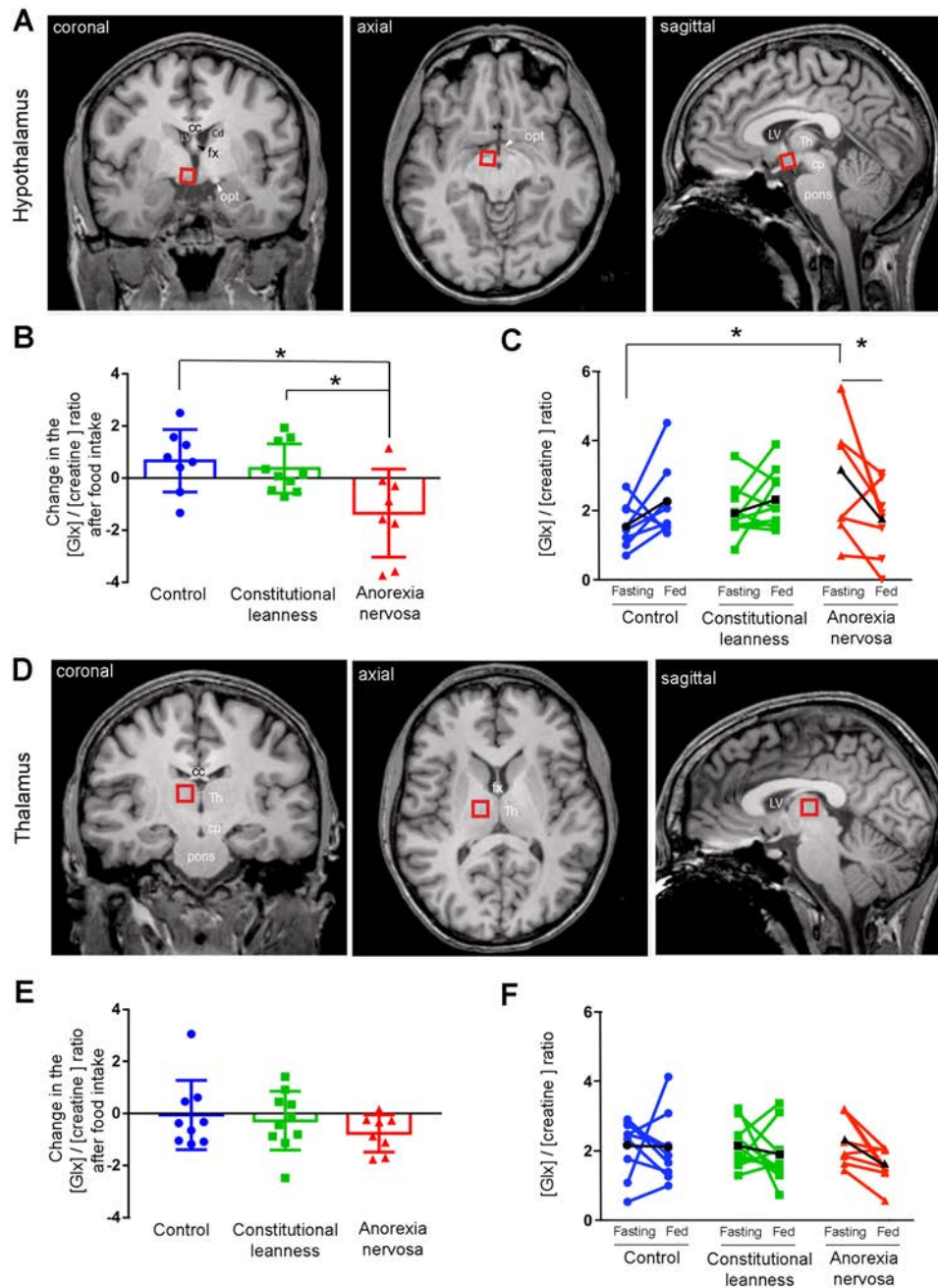


Figure 1. Hypothalamic glutamine/glutamate levels drop after feeding in individuals with anorexia nervosa. MR spectroscopic analysis of the hypothalamus (A-C) and thalamus (D-F) using the volumes of interest shown in A and D, respectively. Effect of food intake on the ratios of the concentration of glutamine + glutamate (Glx) to that of creatine (B, C, E, F) in the hypothalamus (B, C) and the thalamus (E, F) of participants with a normal body mass index (control), constitutional leanness or anorexia nervosa. Cc, corpus callosum; Cd, caudate nucleus; fx, fornix; opt, optic tract, Th, thalamus; cp, cerebral peduncle; LV, lateral ventricle. * $P < 0.05$; the exact P values and statistical analyses are detailed in the text.

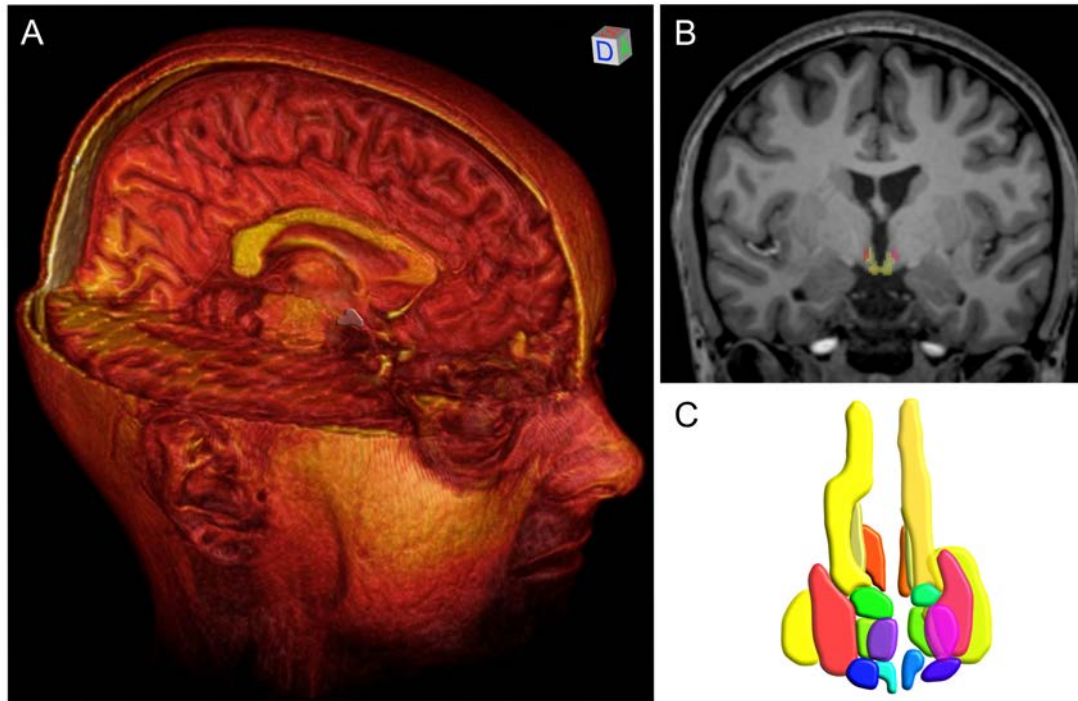


Figure 2. Anatomically-based segmentation of the hypothalamus in a single subject.

(A) Three-dimensional reconstruction of the head of a participant using the Osirix software, with the hypothalamus drawn in grey. (B) Coronal section of a high-resolution anatomical image used to identify the distinct regions of the hypothalamus according to previously established anatomical landmarks (10) (see Materials and Methods). Individual hypothalamic nuclei have been assigned color codes as elaborated in Figure S2. (C) Three-dimensional rendering of the segmented hypothalamus.

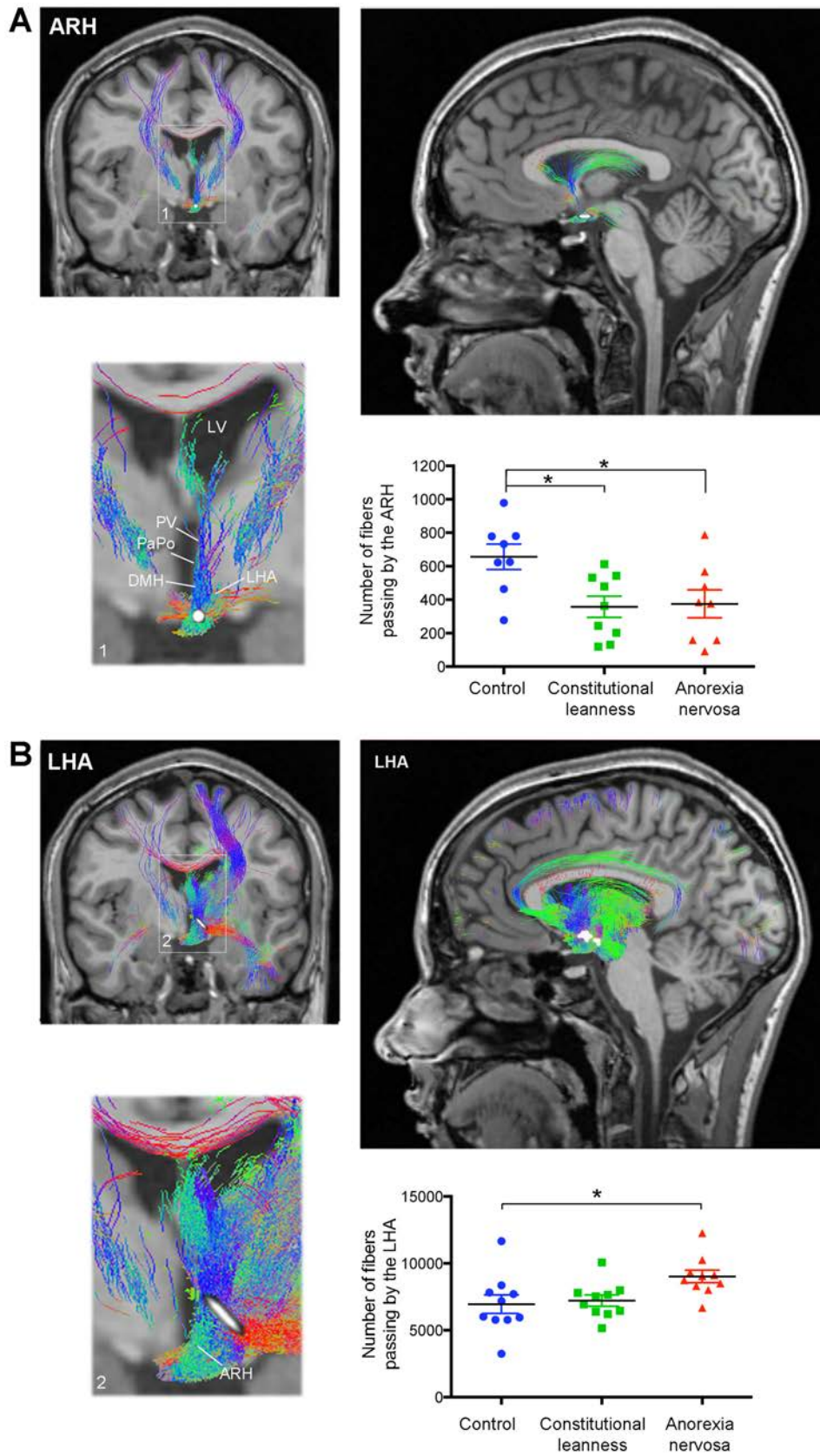


Figure 3. Anorexia nervosa increases the connectivity of the lateral hypothalamic area while decreasing the wiring of the arcuate nucleus of the hypothalamus.

Diffusion weighted imaging showing tractography analysis from two regions of interest transformed into diffusion space (white labels) and corresponding to the arcuate nucleus of the hypothalamus (ARH) (A) and the lateral hypothalamic area (LHA) (B). The graphs show the number of fibers present in the ARH (A) and the LHA (B). The coronal anatomical image on which tractography data have been superimposed in A and B corresponds to anatomical plate 38 of the anatomical atlas of the human brain (27). DMH, dorsomedial hypothalamus; LV, lateral ventricle; PaPo, paraventricular hypothalamic nucleus; PV, paraventricular nucleus of the thalamus. * $P < 0.05$; the exact P values and statistical analyses are detailed in the text.

	Control group (n=10)	Constitutional thinness group (n=10)	Anorexia nervosa group (n=10)	P value CTL vs. CL	P value CTL vs. AN	P value CL vs AN
Age (years)	21.8 ± 0,7	22.4 ± 0.8	26.4 ± 1.9	0.9409	0.0427	0.0858
Weight (kg)	61.8 ± 2.1	46.4 ± 0.9	42.6 ± 1.8	<0.0001	<0.0001	0.2761
BMI (kg/m ²)	21.9 ± 0.4	17.1 ± 0.3	15.3 ± 0.6	<0.0001	<0.0001	0.0244
TFEQ (food cognitive restraint score)	10.3 ± 0.7	9.3 ± 0.8	16.5 ± 0.9	0.6640	<0.0001	<0.0001
Predicted BEE (kCal/24h)	2116 ± 55	1922 ± 68	1731 ± 55	0.0725	0.0003	0.0892
Administred oral nutritional supplement 2kCal/ml (volume in ml)	264 ± 6.8	240 ± 8.5	216 ± 6.8	0.0675	0.0003	0.0853
Calorie intake (kCal)	529 ± 14	480 ± 17	433 ± 14	0.0706	0.0003	0.0873

Mean (± SEM)

BMI : body mass index

TFEQ : three factor eating questionnaire

BEE : basal energy expenditure

CTL vs. CL significance of the statistical difference between the control group (CTL) and the constitutional lean group (CL)

CTL vs. AN significance of the statistical difference between the control group (CTL) and the anorexia nervosa group (AN)

CL vs. AN significance of the statistical difference between the constitutional lean group (CL) and the anorexia nervosa group (AN)

Table S1 : characteristics of the participants according group

SUPPLEMENTAL FIGURE LEGENDS

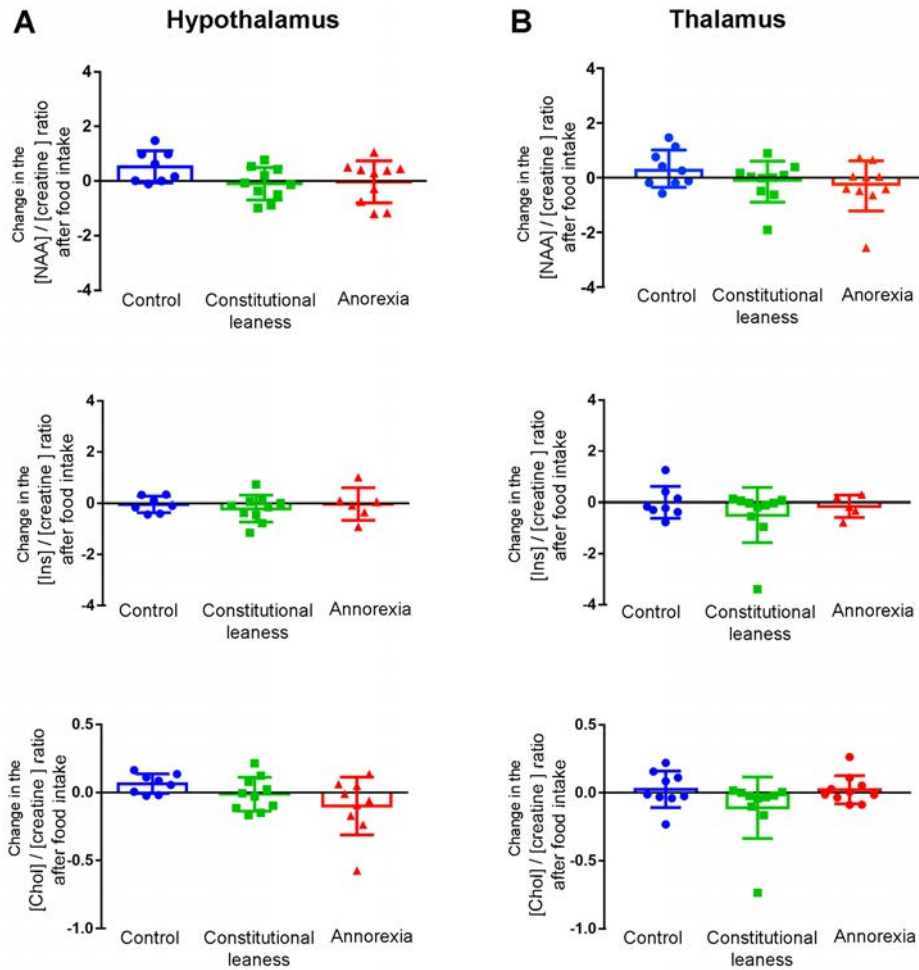


Figure S1. Task-based MR spectroscopic analysis of *N*-Acetyl-aspartate (NAA), myo-inositol (Ins) and choline (Cho) within the hypothalamus (A) and the thalamus (B).

Metabolites	Comparisons	Mean diff.	95,00% CI of diff.	Significant?	Adjusted P Value	N1	N2	q	DF
Glx/Cr $F_{(2,23)} = 5.807$ $P = 0.0091$	CTL vs. CT	0.299	-1.23 to 1.828	No	0.877	8	10	0.692	23
	CTL vs. AN	2.011	0.399 to 3.623	Yes	0.013	8	8	4.418	23
	CT vs. AN	1.712	0.183 to 3.241	Yes	0.026	10	8	3.965	23
NAA/Cr $F_{(2,25)} = 2.251$ $P = 0.1262$	CTL vs. CT	0.619	-0.163 to 1.401	No	0.140	8	10	2.790	25
	CTL vs. AN	0.548	-0.234 to 1.329	No	0.209	8	10	2.468	25
	CT vs. AN	-0.071	-0.808 to 0.665	No	0.968	10	10	0.341	25
Ins/Cr $F_{(2,20)} = 0.3412$ $P = 0.7150$	CTL vs. CT	0.164	-0.454 to 0.782	No	0.783	7	10	0.949	20
	CTL vs. AN	-0.017	-0.715 to 0.681	No	0.998	7	6	0.088	20
	CT vs. AN	-0.181	-0.828 to 0.467	No	0.762	10	6	0.999	20
GPC/Cr $F_{(2,24)} = 2.571$ $P = 0.0973$	CTL vs. CT	0.077	-0.100 to 0.254	No	0.533	8	10	1.533	24
	CTL vs. AN	0.164	-0.017 to 0.345	No	0.081	8	9	3.198	24
	CT vs. AN	0.0875	-0.084 to 0.259	No	0.424	10	9	1.800	24

Table S1. Feeding-evoked response of the metabolite-to-Creatine (Cr) ratio in the hypothalamus. One-way ANOVA followed by a Tukey's multiple comparisons test. CTL, control; CL, constitutional leanness; AN, anorexia nervosa. Glx, glutamine + glutamate; NAA, *N*-acetyl-aspartate; Ins, myoinositol; Cho, choline.

Comparisons	Mean diff.	95,00% CI of diff.	Significant?	Adjusted P Value	n1	n2	t	DF
CTL fasting vs. CTL fed	-0.662	-1.833 to 0.510	No	0.406	8	8	1.454	23
CTL fasting vs. CL fasting	-0.357	-1.635 to 0.922	No	0.870	8	10	0.691	46
CTL fasting vs. AN fasting	-1.505	-2.853 to -0.157	Yes	0.020	8	8	2.767	46
CTL fed vs. CL fed	-0.058	-1.337 to 1.221	No	0.999	8	10	0.1118	46
CTL fed vs. AN fed	0.506	-0.842 to 1.854	No	0.735	8	8	0.9294	46
CL fasting vs. CL fed	-0.363	-1.411 to 0.685	No	0.764	10	10	0.8912	23
CL fasting vs. AN fasting	-1.148	-2.427 to 0.130	No	0.090	10	8	2.225	46
CL fed vs. AN fed	0.563	-0.716 to 1.842	No	0.628	10	8	1.091	46
AN fasting vs. AN fed	1.349	0.177 to 2.521	Yes	0.021	8	8	2.964	23

Table S2. Evolution of the Glx/Cr ratio in the hypothalamus. Two-way repeated measures ANOVA followed by a Sidak's multiple comparisons test. CTL, control; CL, constitutional leanness; AN, anorexia nervosa.

Metabolites	Comp.	Mean diff.	95,00% CI of diff.	Significant?	Adjusted P Value	n1	n2	q	DF
Glx/Cr $F_{(2,24)} = 0.913$ $P = 0.415$	CTL vs. CT	0.218	-1.048 to 1.485	No	0.903	9	10	0.608	24
	CTL vs. AN	0.711	-0.629 to 2.050	No	0.396	9	8	1.874	24
	CT vs. AN	0.493	-0.815 to 1.800	No	0.620	10	8	1.330	24
NAA/Cr $F_{(2,26)} = 1.593$ $P = 0.223$	CTL vs. CT	0.475	-0.429 to 1.379	No	0.405	9	10	1.846	26
	CTL vs. AN	0.627	-0.278 to 1.531	No	0.216	9	10	2.435	26
	CT vs. AN	0.152	-0.728 to 1.031	No	0.904	10	10	0.605	26
Ins/Cr $F_{(2,20)} = 0.841$ $P = 0.446$	CTL vs. CT	0.496	-0.496 to 1.488	No	0.431	8	10	1.789	20
	CTL vs. AN	0.155	-1.037 to 1.347	No	0.942	8	5	0.465	20
	CT vs. AN	-0.341	-1.486 to 0.805	No	0.735	10	5	1.065	20
Cho/Cr $F_{(2,26)} = 2.163$ $P = 0.135$	CTL vs. CT	0.135	-0.052 to 0.323	No	0.192	9	10	2.536	26
	CTL vs. AN	0.004	-0.184 to 0.191	No	0.999	9	10	0.0679	26
	CT vs. AN	-0.132	-0.314 to 0.051	No	0.192	10	10	2.536	26

Table S3. Feeding-evoked response of the metabolite-to-Creatine (Cr) ratio in the thalamus. One-way ANOVA followed by a Tukey's multiple comparisons test. CTL, control; CL, constitutional leanness; AN, anorexia nervosa. Glx, glutamine + glutamate; NAA, *N*-acetyl-aspartate; Ins, myoinositol; Cho, choline.

Comparisons	Mean diff.	95,00% CI of diff.	Significant?	Adjusted P Value	n1	n2	t	DF
CTL fasting vs. CTL fed	0.056	-0.888 to 1.000	No	0.998	9	9	0.152	24
CTL fasting vs. CL fasting	-0.011	-0.887 to 0.864	No	>0.999	9	10	0.032	48
CTL fasting vs. AN fasting	-0.206	-1.132 to 0.720	No	0.928	9	8	0.551	48
CTL fed vs. CL fed	0.207	-0.669 to 1.082	No	0.916	9	10	0.585	48
CTL fed vs. AN fed	0.504	-0.422 to 1.430	No	0.457	9	8	1.347	48
CL fasting vs. CL fed	0.274	-0.622 to 1.170	No	0.825	10	10	0.785	24
CL fasting vs. AN fasting	-0.195	-1.099 to 0.709	No	0.934	10	8	0.534	48
CL fed vs. AN fed	0.298	-0.606 to 1.201	No	0.804	10	8	0.814	48
AN fasting vs. AN fed	0.766	-0.235 to 1.768	No	0.173	8	8	1.964	24

Table S4. Evolution of the Glx/Cr ratio in the thalamus. Two-way repeated measures ANOVA (Interaction: $F_{(2,24)} = 0.913$, $P = 0.415$; Subjects: $F_{(2,24)} = 0.099$; $P = 0.844$; Time: $F_{(1,24)} = 2.934$; $P = 0.100$) followed by a Sidak's multiple comparisons test. CTL, control; CL, constitutional leanness; AN, anorexia nervosa.

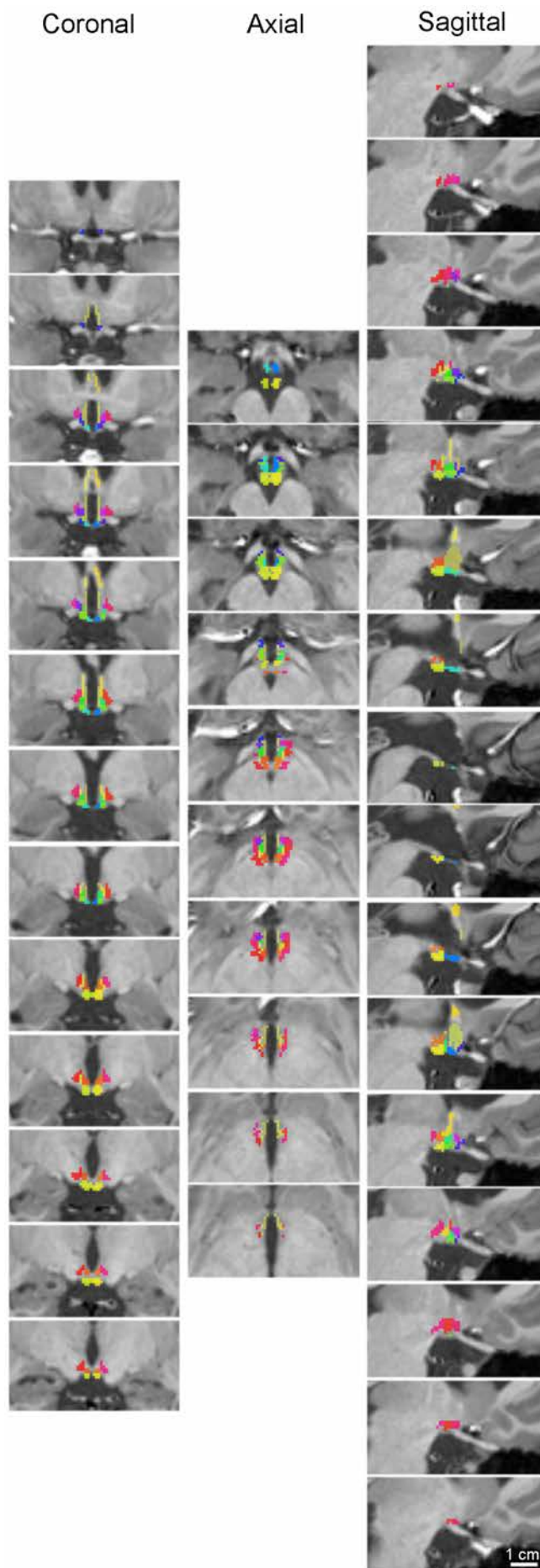


Figure S2. Segmentation of the hypothalamus in a single subject. The different regions of the hypothalamus were identified manually from thirteen 1-mm thick T1-weighted anatomical coronal sections using the MRI atlas of the hypothalamus (see reference ¹³) for each participant to the study. The color-codes are as follows (LH, left hypothalamus; RH, right hypothalamus; MR, mammillary region; PH, posterior hypothalamic nucleus; LHAp, posterior lateral hypothalamic area; VMH, ventromedial hypothalamic nucleus; DMH, dorsomedial hypothalamic nucleus; LHAt, tuberal LHA; ARH, arcuate nucleus of the hypothalamus; LHAA, anterior LHA; PaPe, paraventricular nucleus; MPO, medial preoptic nucleus; SO, supraoptic nucleus; fx, fornix):

	MR_LH	= région mamillaire droite
	MR_RH	= région mamillaire gauche
	PH_LH	= noyau hypothalamique postérieur G
	PH_RH	= noyau hypothalamique postérieur D
	LHAp_RH	= aire hypothalamique latérale postérieure D
	LHAp_LH	= aire hypothalamique latérale postérieure G
	VMH_RH	= noyau ventro-médian D
	VMH_LH	= noyau ventro-médian G
	DMH_RH	= noyau dorso-médial D
	DMH_LH	= noyau dorso-médial G
	LHAt_RH	= aire hypothalamique latérale tubérale D
	LHAt_LH	= aire hypothalamique latérale tubérale G
	arc_RH	= noyau arqué D
	arc_LH	= noyau arqué G
	LHAa_RH	= aire hypothalamique latérale antérieure D
	LHAa_LH	= aire hypothalamique latérale antérieure G
	PaPe_RH	= noyaux para et périvertriculaires D
	PaPe_LH	= noyaux para et périvertriculaires G
	MPO_RH	= noyau pré-optique médial D
	MPO_LH	= noyau pré-optique médial
	SO_RH	= noyau supra-optique médial D
	SO_LH	= noyau supra-optique médial G
	fx_RH	= fornix droit
	fx_LH	= fornix gauche

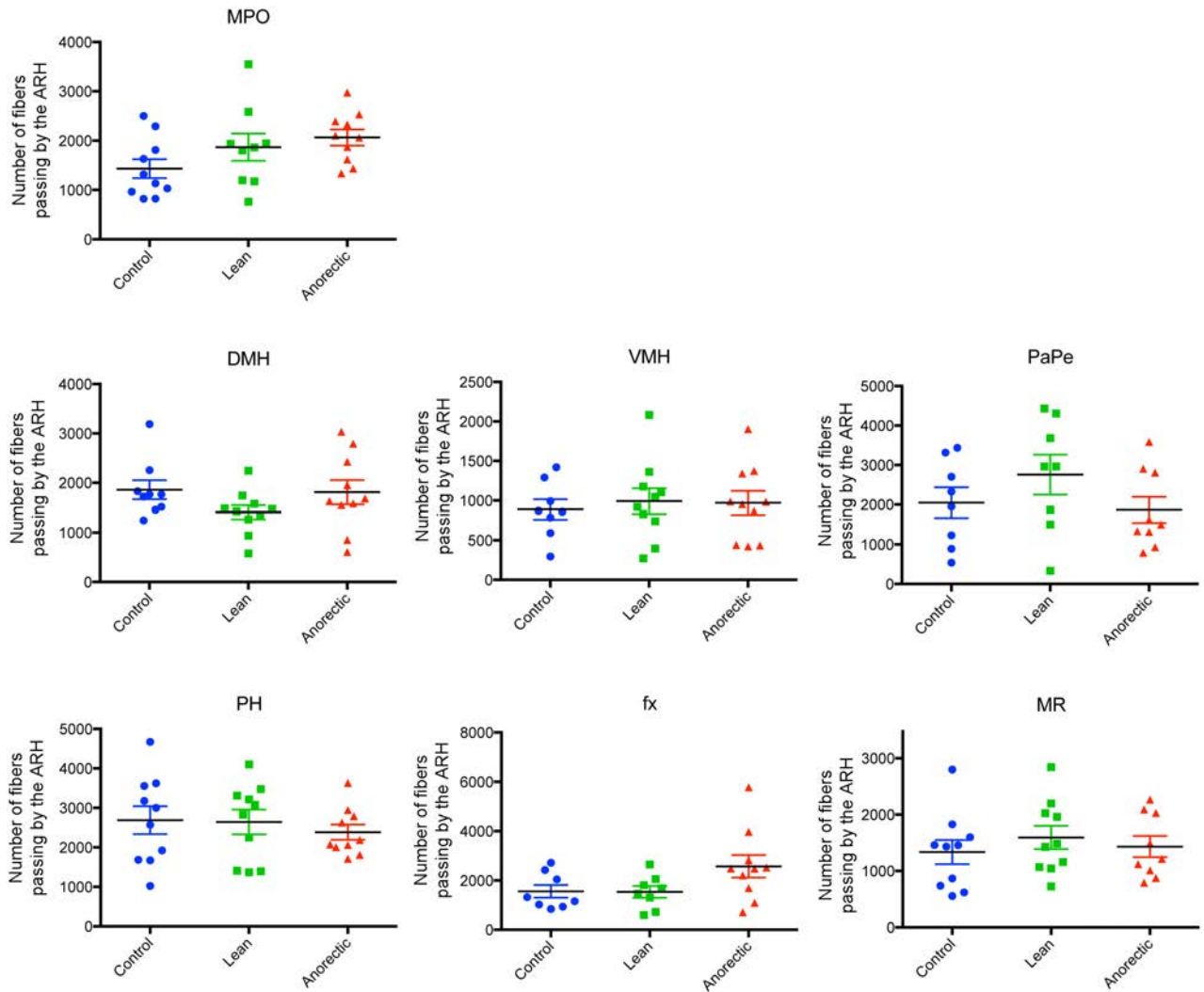


Figure S3. Tractography analysis from distinct regions of the hypothalamus and the fornix (fx). MPO, medial preoptic area; DMH, dorsomedial hypothalamic nucleus; VMH, ventromedial hypothalamic nucleus; PaPe, paraventricular hypothalamic nucleus; PH, posterior hypothalamic nucleus; MR, mammillary region.

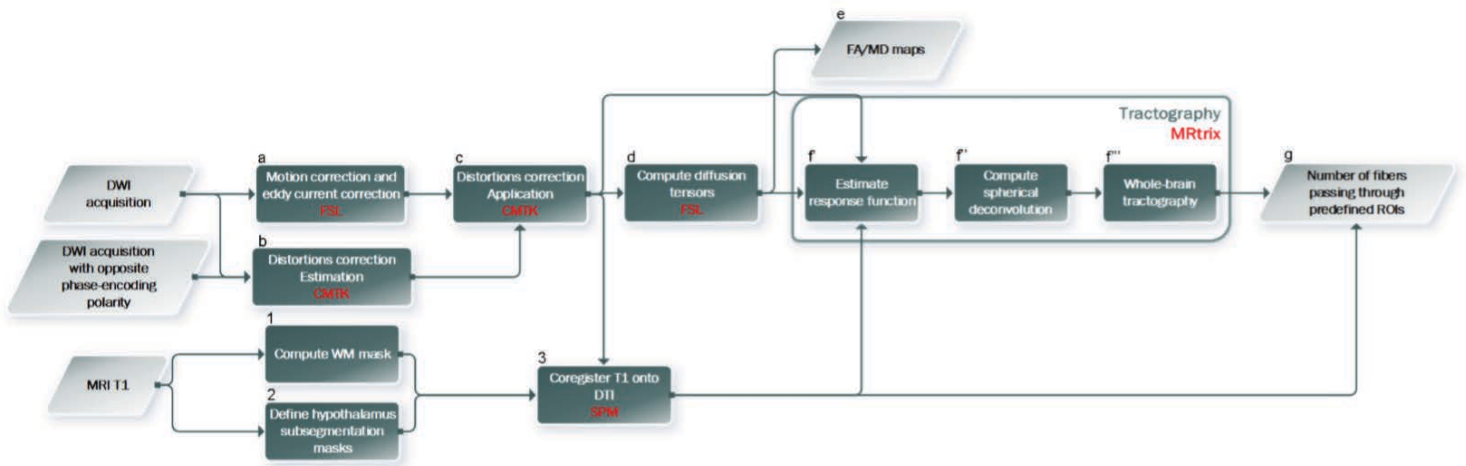


Figure S4. Flowchart of tractography data processing. Numbers and letters differentiate the different steps of the process detailed in the text of the materials and methods. The red labels correspond to the name of the software's that have been used at each one of these steps.

ROI	Comparisons	Mean diff.	95.00% CI of diff.	Significant?	Adjusted P Value	n1	n2	q	DF
ARH	CTL vs. CT	299	38 to 560	Yes	0.023	8	9	4.073	22
	CTL vs. AN	282	14 to 550	Yes	0.038	8	8	3.733	22
	CT vs. AN	-16.99	-278 to 244	No	0.985	9	8	0.231	22
$F_{(2,22)} = 5.059$ $P = 0.0156$									
LHA	CTL vs. CT	-267.9	-2166 to 1630	No	0.935	10	10	0.495	27
	CTL vs. AN	-2075	-3973 to -176	Yes	0.030	10	10	3.832	27
	CT vs. AN	-1807	-3705 to 91	No	0.064	10	10	3.337	27
$F_{(2,27)} = 4.345$ $P = 0.0231$									
MPO	CTL vs. CT	-435.5	-1184 to 313	No	0.3330	10	9	2.045	26
	CTL vs. AN	-631.9	-1361 to 97	No	0.0983	10	10	3.048	26
	CT vs. AN	-196.4	-945 to 552	No	0.7930	9	10	0.922	26
$F_{(2,26)} = 2.425$ $P = 0.1082$									
DMH	CTL vs. CT	452.6	-247.6 to 1153	No	0.2610	9	10	2.272	26
	CTL vs. AN	49.59	-650.6 to 750	No	0.9831	9	10	0.249	26
	CT vs. AN	-403	-1085 to 279	No	0.3217	10	10	2.078	26
$F_{(2,26)} = 1.6$ $P = 0.2212$									
VMH	CTL vs. CT	-104.6	-648 to 439	No	0.8816	8	10	0.678	25
	CTL vs. AN	-82.18	-625.4 to 461	No	0.9250	8	10	0.533	25
	CT vs. AN	22.4	-490 to 535	No	0.9935	10	10	0.154	25
$F_{(2,25)} = 0.1238$ $P = 0.8841$									
PaPe	CTL vs. CT	-708.9	-2186 to 768	No	0.4625	8	8	1.705	22
	CTL vs. AN	182.3	-1253 to 1618	No	0.9456	8	9	0.451	22
	CT vs. AN	891.2	-544 to 2327	No	0.2838	8	9	2.205	22
$F_{(2,22)} = 1.326$ $P = 0.2858$									
PH	CTL vs. CT	47	-982 to 1076	No	0.9930	10	10	0.160	27
	CTL vs. AN	305.5	-724 to 1335	No	0.7445	10	10	1.041	27
	CT vs. AN	258.5	-771 to 1288	No	0.8090	10	10	0.881	27
$F_{(2,27)} = 0.3141$ $P = 0.7331$									
MR	CTL vs. CT	-258.4	-965 to 448	No	0.6397	10	10	1.285	26
	CTL vs. AN	-95.77	-822 to 630	No	0.9426	10	9	0.464	26
	CT vs. AN	162.6	-563 to 889	No	0.8440	10	9	0.787	26
$F_{(2,26)} = 0.4215$ $P = 0.6604$									

Table S5. Diffusion weighted imaging showing tractography analysis with the number of fibers present in different regions of interest (ROI). One-way ANOVA followed by a Tukey's multiple comparisons test. CTL, control; CL, constitutional leanness; AN, anorexia nervosa; ARH, arcuate nucleus of hypothalamus; LHA, lateral hypothalamic area; MPO, medial preoptic area; DMH, dorsomedial hypothalamic nucleus; VMH, ventromedial hypothalamic nucleus; PaPe, paraventricular hypothalamic nucleus; PH, posterior hypothalamic nucleus; MR, mammillary region.

B. Résultats complémentaires :

a. Volumétrie :

Grâce aux résultats obtenus en première partie de cette étude, je me suis ensuite interrogé sur le lien éventuel entre les altérations structurelles observées en tractographie au niveau de l'ARH et de la LHA, et le volume de ces noyaux. En effet des études notamment sur modèle murins montrent que le statut nutritionnel de la mère lors de la gestation ainsi que des sevrages précoces de la lactation vont influencer sur les volumes de plusieurs noyaux hypothalamiques (280) avec probablement à long terme une régulation homéostatique affectée. D'autres mécanismes périnataux sont à l'œuvre avec entre autres l'action de la leptine sur la maturation des circuits neuronaux de l'ARH. Une altération de l'état nutritionnel à l'origine de variation des concentrations en leptine pourrait donc amener à une perturbation de cette maturation (115). Les volumes cérébraux totaux sont eux aussi affectés sur certains modèles comme les souris *ob/ob* qui présentent en moyenne 7.9% de volume cérébral total en moins (281).

Afin d'investiguer les changements potentiels de la microstructure cérébrale chez l'anorexique mentale, et grâce à la segmentation précédemment effectuée, nous avons pu comparer les volumes cérébraux totaux des trois groupes de sujets (n=10 anorexiques mentales restrictives, n=10 maigres constitutives, n=10 témoins normopondéraux). Ensuite les volumes hypothalamiques totaux et latéralisés ont permis de normaliser le volume de chaque noyau hypothalamique pour les trois groupes.

Les résultats obtenus confortent les constats faits plus haut sur les anomalies de tractographie à savoir un nombre de fibres nerveuses accrues dans l'aire hypothalamique latérale dominante. En effet la LHA droite des sujets anorexiques mentale est 15% plus grande que dans le groupe contrôle des sujets minces constitutifs. (One-way ANOVA: $F(2,27)=6,007$, $P=0,0069$; Tukey's multiple comparison test: Constitutional leanness vs. Anorexia $q(27)=4.899$ n= 10 and 10 persons per group) Tableau 5) (Figure 28). (Constitutional leanness vs. Anorexia, $0,1903 \pm 0,002596$ vs $0,2243 \pm 0,006489$).

Par ailleurs le volume du PaPe droit du groupe anorexie est significativement diminué par rapport à celui du groupe contrôle d'environ 25% (One-way ANOVA: $F(2,27)=3,153$, $P=0,0588$, Tukey's multiple comparison test: Control vs Anorexia $q(27)=3,549$ n= 10 and 10 persons per group Tableau 5) (Figure 28)). (control Vs Anorexia $0,07236 \pm 0,01918$ vs $0,0544 \pm 0,01339$). Un constat similaire est fait sur le côté opposé.

Par contre on ne retrouvera pas de variation dans le volume de l'ARH (One-Way ANOVA: $F(2, 27)=0,9747$, $P=0,3902$), du volume intracrânien total (One-Way ANOVA: $F(2, 27) =0,128$, $P=0,8804$), du volume hypothalamique normalisé sur le volume intracrânien total (One-Way ANOVA: $F(2, 27)=1,135$, $P=0,3364$), ou des ventricules latéraux normalisés sur le volume intracrânien total (One-Way ANOVA: $F(2, 27)=0,128$, $P=0,8804$) Tableau 5.

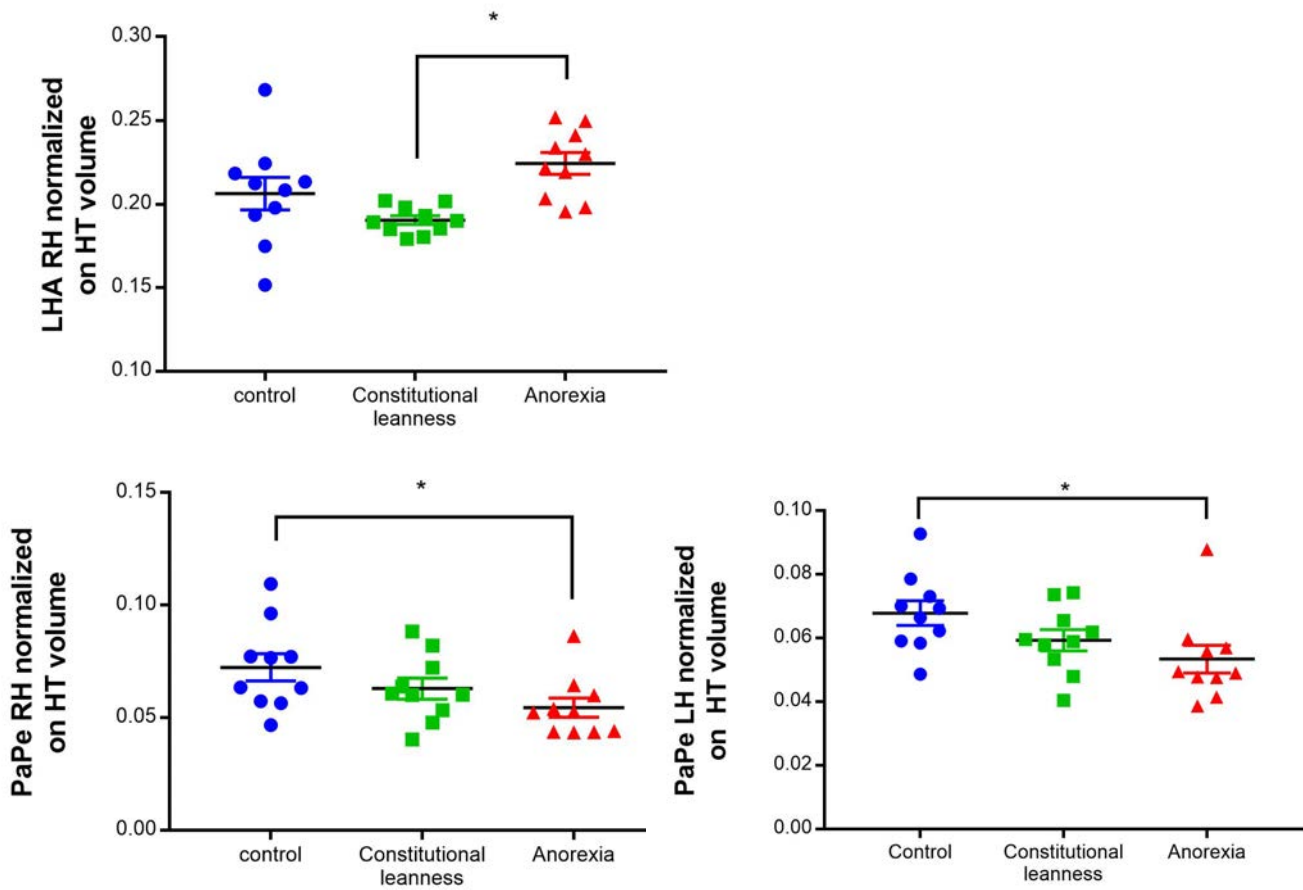


Figure 28: Anorexia nervosa increases the volume of the lateral hypothalamic area and decreased the volume of PaPe

The graphs show the volume in mm^3 of LHA, ARC and PaPe normalized on hypothalamic volume. One-way ANOVA followed by a Tukey's multiple comparisons test. LHA: lateral hypothalamic area; PaPe: para periventriculaire nucleus. HT: hypothalamus; RH: right hypothalamus, LH: left hypothalamus.

	Group	Mean diff.	95,00% CI of diff.	Significant ?	Adjusted P Value	n1	n2	q	DF	
F(2,27)=0,9747 P=0,3902	ARH RH	CTL vs. CT	0,003551	-0,002942 to 0,01004	No	0,3776	10	10	1,918	27
		CTL vs. AN	0,00253	-0,003963 to 0,009023	No	0,6041	10	10	1,366	27
		CT vs. AN	-0,001021	-0,007514 to 0,005472	No	0,9198	10	10	0,5515	27
F(2,27)=0,968 P=0,3923	ARH LH	CTL vs. CT	0,003182	-0,003106 to 0,009469	No	0,4324	10	10	1,774	27
		CTL vs. AN	0,0002662	-0,006022 to 0,006554	No	0,9939	10	10	0,1484	27
		CT vs. AN	-0,002915	-0,009203 to 0,003372	No	0,4927	10	10	1,626	27
F(2,27)=0,0066 02 P=0,9934	DMH RH	CTL vs. CT	-0,000407	-0,0115 to 0,01068	No	0,9954	10	10	0,1289	27
		CTL vs. AN	6,71e-005	-0,01102 to 0,01116	No	0,9999	10	10	0,02123	27
		CT vs. AN	0,0004748	-0,01061 to 0,01156	No	0,9938	10	10	0,1501	27
F(2,27)=0,141 P=0,8690	DMH LH	CTL vs. CT	0,001369	-0,00928 to 0,01202	No	0,9456	10	10	0,4509	27
		CTL vs. AN	-0,000896	-0,01155 to 0,009753	No	0,9763	10	10	0,2952	27
		CT vs. AN	-0,002266	-0,01292 to 0,008383	No	0,8586	10	10	0,7461	27
F(2,27)=2,998 P=0,0667	MPO RH	CTL vs. CT	-0,01021	-0,0226 to 0,002174	No	0,1210	10	10	2,891	27
		CTL vs. AN	0,000724	-0,01166 to 0,01311	No	0,9885	10	10	0,205	27
		CT vs. AN	0,01094	-0,00145 to 0,02332	No	0,0912	10	10	3,096	27
F(2,27)=4,639 P=0,0185	MPO LH	CTL vs. CT	-0,0128	-0,02478 to -0,0008162	*	0,0345	10	10	3,745	27
		CTL vs. AN	-0,0001	-0,01208 to 0,01188	No	0,9998	10	10	0,02929	27
		CT vs. AN	0,0127	0,0007161 to 0,02468	*	0,0362	10	10	3,716	27
F(2,27)=0,348 P=0,7092	MR RH	CTL vs. CT	-0,004189	-0,0178 to 0,00942	No	0,7283	10	10	1,079	27
		CTL vs. AN	-0,000493	-0,0141 to 0,01312	No	0,9956	10	10	0,1272	27
		CT vs. AN	0,003696	-0,009914 to 0,01731	No	0,7808	10	10	0,9522	27
F(2,27)=1,809 P=0,1831	MR LH	CTL vs. CT	-0,009992	-0,02445 to 0,004461	No	0,2184	10	10	2,424	27
		CTL vs. AN	-0,000831	-0,01529 to 0,01362	No	0,9888	10	10	0,2018	27
		CT vs. AN	0,00916	-0,005293 to 0,02361	No	0,2750	10	10	2,222	27
F(2,27)=3,153 P=0,0588	PaPe RH	CTL vs. CT	0,00946	-0,008233 to 0,02715	No	0,3936	10	10	1,875	27
		CTL vs. AN	0,01791	0,0002157 to 0,0356	*	0,0468	10	10	3,549	27
		CT vs. AN	0,008449	-0,009244 to 0,02614	No	0,4727	10	10	1,674	27
F(2,27)=3,533 P=0,0434	PaPe LH	CTL vs. CT	0,00853	-0,00504 to 0,0221	No	0,2805	10	10	2,204	27
		CTL vs. AN	0,01447	0,0009012 to 0,02804	*	0,0349	10	10	3,739	27
		CT vs. AN	0,005941	-0,007629 to 0,01951	No	0,5310	10	10	1,535	27

PH RH F(2,27)=0,2229 P=0,8017	CTL vs. CT	0,002411	-0,01043 to 0,01525	No	0,8878	10	10	0,6586	27
	CTL vs. AN	0,003351	-0,009486 to 0,01619	No	0,7955	10	10	0,9153	27
	CT vs. AN	0,0009398	-0,0119 to 0,01378	No	0,9820	10	10	0,2567	27
PH LH F(2,27)=0,383 P=0,6853	CTL vs. CT	0,003318	-0,009001 to 0,01564	No	0,7840	10	10	0,9444	27
	CTL vs. AN	0,004094	-0,008224 to 0,01641	No	0,6915	10	10	1,166	27
	CT vs. AN	0,0007769	-0,01154 to 0,0131	No	0,9866	10	10	0,2212	27
SO RH F(2,27)=1,362 P=0,2733	CTL vs. CT	-0,000692	-0,006282 to 0,004897	No	0,9494	10	10	0,4346	27
	CTL vs. AN	0,002819	-0,002771 to 0,008408	No	0,4348	10	10	1,768	27
	CT vs. AN	0,003512	-0,002078 to 0,009101	No	0,2809	10	10	2,203	27
SO LH F(2,27)=1,875 P=0,1728	CTL vs. CT	0,0002494	-0,00457 to 0,005068	No	0,9910	10	10	0,1815	27
	CTL vs. AN	0,003377	-0,001442 to 0,008196	No	0,2100	10	10	2,457	27
	CT vs. AN	0,003127	-0,001692 to 0,007946	No	0,2592	10	10	2,276	27
VMH RH F(2,26)=1,216 P=0,3127	CTL vs. CT	-0,006439	-0,0167 to 0,003826	No	0,2811	9	10	2,204	26
	CTL vs. AN	-0,003568	-0,01383 to 0,006697	No	0,6674	9	10	1,222	26
	CT vs. AN	0,002871	-0,007121 to 0,01286	No	0,7575	10	10	1,01	26
VMH LH F(2,26)=0,549 P=0,5841	CTL vs. CT	-0,003898	-0,0133 to 0,005508	No	0,5652	9	10	1,456	26
	CTL vs. AN	-0,002675	-0,01208 to 0,00673	No	0,7617	9	10	0,9994	26
	CT vs. AN	0,001223	-0,007932 to 0,01038	No	0,9412	10	10	0,4694	26
LHA RH F(2,27)=6,007 P=0,0069	CTL vs. CT	0,01591	-0,008418 to 0,04024	No	0,2541	10	10	2,293	27
	CTL vs. AN	-0,01808	-0,0424 to 0,006251	No	0,1752	10	10	2,605	27
	CT vs. AN	-0,03399	-0,05831 to - 0,009658	**	0,0049	10	10	4,899	27
LHA LH F(2,27)=2,095 P=0,1426	CTL vs. CT	0,007319	-0,02184 to 0,03648	No	0,8092	10	10	0,8802	27
	CTL vs. AN	-0,0162	-0,04536 to 0,01296	No	0,3664	10	10	1,948	27
	CT vs. AN	-0,02352	-0,05268 to 0,005637	No	0,1315	10	10	2,828	27
HT RH F(2,27)=0,323 P=0,7264	CTL vs. CT	0,005979	-0,01297 to 0,02493	No	0,7169	10	10	1,106	27
	CTL vs. AN	0,001752	-0,0172 to 0,0207	No	0,9715	10	10	0,3241	27
	CT vs. AN	-0,004227	-0,02318 to 0,01472	No	0,8458	10	10	0,7822	27
HT LH F(2,27)=0,323 P=0,7264	CTL vs. CT	-0,005979	-0,02493 to 0,01297	No	0,7169	10	10	1,106	27
	CTL vs. AN	-0,001752	-0,0207 to 0,0172	No	0,9715	10	10	0,3241	27
	CT vs. AN	0,004227	-0,01472 to 0,02318	No	0,8458	10	10	0,7822	27

VL F(2,27)=0,105 P=0,9002	CTL vs. CT	1,144e-006	-5,598e-006 to 7,886e-006	No	0,9074	10	10	0,5949	
	CTL vs. AN	1,008e-006	-5,734e-006 to 7,75e-006	No	0,9273	10	10	0,5241	27
	CT vs. AN	-1,361e-007	-6,878e-006 to 6,606e-006	No	0,9986	10	10	0,07078	27
HT total F(2,27)=1,135 P=0,3364	CTL vs. CL	8,677e-005	-5,659e-005 to 0,0002301	No	0,3065	10	10	2,122	27
	CTL vs. AN	3,678e-005	-0,0001066 to 0,0001801	No	0,8017	10	10	0,8996	27
	CL vs. AN	-4,999e-005	-0,0001933 to 9,337e-005	No	0,6668	10	10	1,223	27
Intracranial volume F (2, 27)=0,128 P=0,8804	CTL vs. CL	-47486	-303925 to 208952	No	0,8908	10	10	0,6493	27
	CTL vs. AN	-42794	-299232 to 213645	No	0,9103	10	10	0,5851	27
	CL vs. AN	4693	-251746 to 261131	No	0,9989	10	10	0,06416	27

Tableau 5. T1 imaging showing volumetry analysis with the volume of different regions of interest (ROI) normalized on total hypothalamic volume (except HT total and VL normalized on intracranial volume and intracranial volume without normalization)

One-way ANOVA followed by a Tukey's multiple comparisons test. CTL, control; CL, constitutional leanness; AN, anorexia nervosa

RH : right hypothalamus LH : Left Hypothalamus; ARH: Noyau arqué hypothalamique; DMH: Noyau dorso medial; MPO: Noyau pré-optique; MR: region mamillaire; PaPe: Noyau para et péri-ventriculaires; PH: Noyau hypothalamique postérieur; SO: Noyau supra optique; VMH: Noyau ventro median; LHA: aire hypothalamique latérale; HT: hypothalamus; VL: ventricules latéraux

b. Analyses de corrélation :

En regard des modifications hypothalamiques structurelles précédemment observées d'abord en tractographie puis en volumétrie, il nous a semblé pertinent de rechercher d'éventuels liens entre ces modifications et un phénotype particulier. En effet, comme nous le savons maintenant au plan biologique il y a une linéarité positive entre leptinémie et IMC (97), ou négative entre IMC et leptinorésistance (174). Sur ce même principe nous avons voulu vérifier si des corrélations existaient entre profil anthropométrique avec poids et IMC bas (groupe anorexique mentale et minces constitutives) et variations de la microstructure hypothalamique.

Dans ce type d'analyse plus le coefficient de corrélation (r de Pearson) est proche des valeurs extrêmes -1 et 1, plus la corrélation linéaire entre les variables est forte. On emploiera simplement l'expression « fortement corrélées » pour qualifier les deux variables. Une corrélation égale à 0 signifie que les variables ne sont pas corrélées linéairement, mais elles peuvent néanmoins être corrélées non-linéairement.

Les résultats obtenus viennent à nouveau conforter l'implication de « structures clefs » dans les voies de dérégulation présentes chez l'anorexique mentale : ARH, LHA

- Tractographie et poids :

On retrouvera une corrélation positive forte entre poids et nombre de fibres nerveuses passant au travers de l'ARH dans le groupe contrôle (Figure 29 et Tableau 6). Or c'est justement dans l'ARH que le nombre de fibres dans le groupe contrôle est significativement plus important comparé à la fois aux anorexiques et aux minces constitutifs, comme si le sous poids était lié à un nombre de fibres dans l'ARH moins important. Cette altération des faisceaux de l'ARC est bien démontrée chez la souris avec des phénotypes de sous-poids (282).

A contrario il existe une corrélation négative significative entre nombres de fibres passant au travers le VMH et la LHA et poids dans les groupes anorexie et maigreur constitutive respectivement (Figure 29 et Tableau 6). Concernant la LHA il semblerait que cela soit un marqueur inverse du poids : en effet chez les minces constitutives plus le poids augmente moins il y a de fibres passant au travers de la LHA. On rappellera que les données de tractographie retrouvaient de manière très significative un nombre de fibres moins important chez les contrôles que chez les anorexiques.

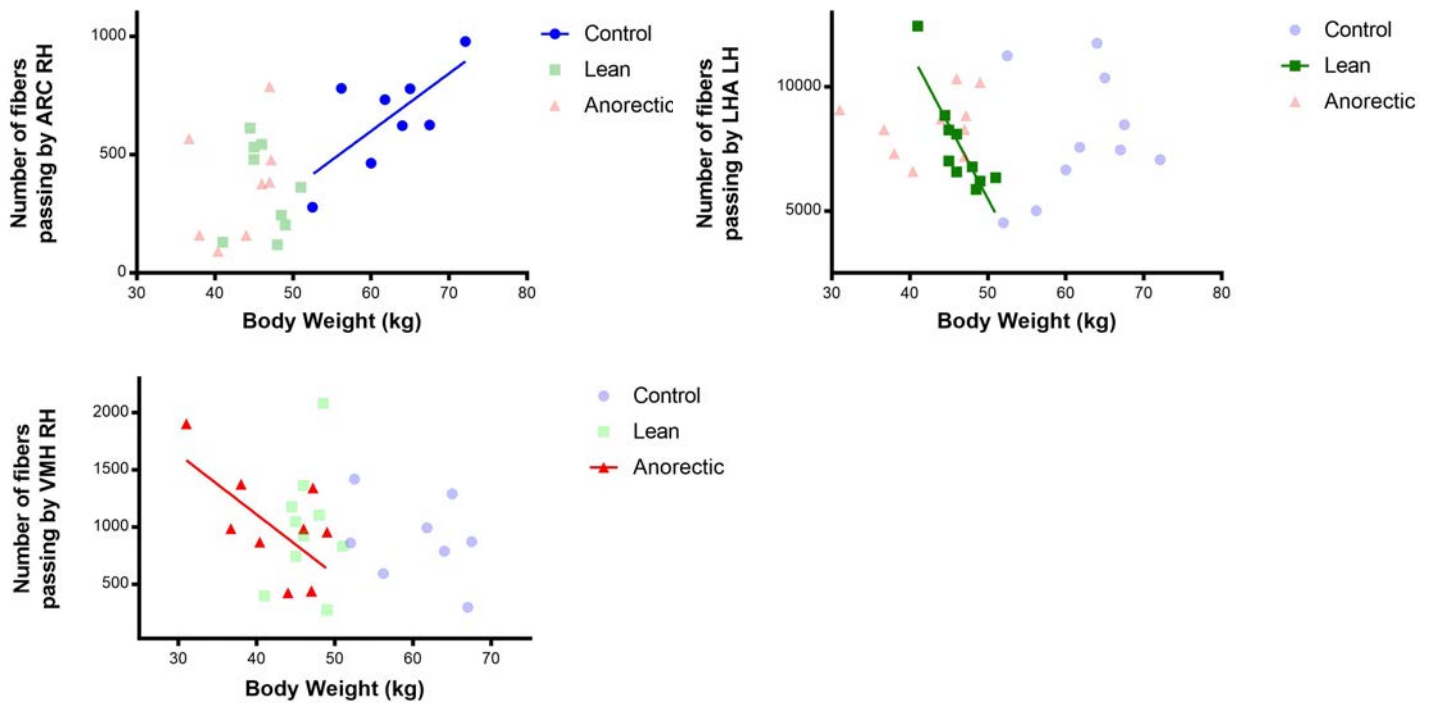


Figure 29 : Correlation (Pearson r) between body weight and tractography (number of fiber)
 ARC : noyau arqué hypothalamique, VMH : noyau ventro médian, LHA : aire hypothalamique latérale, RH : right hypothalamus LH : left hypothalamus

Nuclei	Control group (n=10)		Constitutional thinness group (n=10)		Anorexia nervosa group (n=10)	
	Pearson r	P value	Pearson r	P value	Pearson r	P value
ARH RH	0,7076	0,0496	-0,164	0,6732	0,3509	0,3941
ARH LH	-0,07088	0,8562	-0,05475	0,8806	0,4907	0,1498
DMH RH	-0,3005	0,4320	0,07634	0,8340	-0,4092	0,2403
DMH LH	0,02866	0,9374	0,06834	0,8613	0,4406	0,2746
MPO RH	-0,1029	0,7921	0,08198	0,8219	0,2216	0,5666
MPO LH	0,3725	0,2892	-0,01629	0,9644	0,2092	0,5619
MR RH	0,2692	0,4519	-0,2172	0,5466	0,03995	0,9187
MR LH	-0,2723	0,4465	-0,5667	0,0876	-0,3549	0,3142
PaPe RH	0,2126	0,6131	0,04952	0,9073	0,3173	0,3717
PaPe LH	0,6244	0,0723	0,3063	0,4228	-0,04513	0,9082
PH RH	-0,4745	0,1658	-0,3133	0,3781	-0,1069	0,7689
PH LH	0,09691	0,7900	-0,1861	0,6067	-0,3719	0,2900
VMH RH	-0,3207	0,4386	0,2216	0,5383	-0,6492	0,0422
VMH LH	0,1972	0,6398	-0,3004	0,3991	0,3325	0,3819
LHA RH	-0,1114	0,7593	-0,221	0,5395	0,4425	0,2004
LHA LH	0,1971	0,5851	-0,8617	0,0014	0,253	0,4807

Table 6 : Correlation (Pearson r) between body weight and tractography (number of fiber)
 RH : right hypothalamus LH : Left Hypothalamus; ARH: Noyau arqué hypothalamique; DMH: Noyau dorso medial; MPO: Noyau pré-optique; MR: region mamillaire; PaPe: Noyau para et péri-ventriculaires; PH: Noyau hypothalamique postérieur; SO: Noyau supra optique; VMH: Noyau ventro median; LHA: aire hypothalamique latérale; HT: hypothalamus; VL: ventricules latéraux

- Diffusion et BMI :

Comme vu en introduction, l'IRM de diffusion permet de déterminer en chaque point de l'image la distribution des directions de diffusion des molécules d'eau. La présence d'obstacles diminue le coefficient de diffusion effectif car les molécules situées à proximité des obstacles ont un parcours moyen diminué. Cette diffusion étant contrainte par les tissus environnants, cette modalité d'imagerie permet d'obtenir indirectement la position, l'orientation et l'anisotropie des structures fibreuses, notamment les faisceaux de matière blanche du cerveau.

On observera une corrélation négative significative dans le groupe anorexie mentale entre l'IMC et la diffusion dans le noyau arqué et l'aire hypothalamique latérale (Figure 30 et Tableau 7). Autrement dit, les patientes anorexiques à IMC plus faibles ont une diffusivité moyenne plus importante dans ces deux noyaux hypothalamiques, donc un espace extracellulaire plus important. Cela corrobore les données de la littérature objectivant une réduction de matière grise chez ces patientes surtout en phase de dénutrition avancée (259), réduction partiellement récupérable après rétablissement du poids.

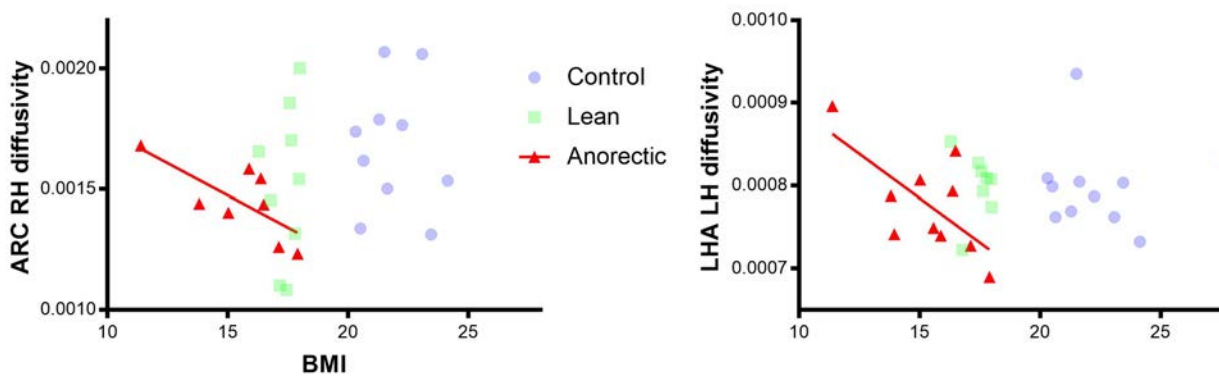


Figure 30 : Correlation (Pearson r) between diffusivity and BMI

ARC : noyau arqué hypothalamique, LHA : aire hypothalamique latérale, RH : right hypothalamus LH : left hypothalamus

Nuclei	Control group (n=10)		Constitutional thinness group (n=10)		Anorexia nervosa group (n=10)	
	Pearson r	P value	Pearson r	P value	Pearson r	P value
ARH RH	-0,0412	0,9100	0,2024	0,04096	-0,722	0,0431
ARH LH	-0,2764	0,4395	-0,1483	0,7033	-0,3139	0,4107
DMH RH	-0,6435	0,0447	0,108	0,01165	-0,4313	0,2133
DMH LH	0,03925	0,9143	-0,0849	0,8281	-0,4656	0,1750
MPO RH	0,08785	0,8093	-0,5029	0,1676	-0,2557	0,4758
MPO LH	-0,5615	0,0912	-0,208	0,5913	0,09357	0,7971
MR RH	-0,2161	0,5488	-0,1688	0,6641	-0,3136	0,3776
MR LH	-0,2004	0,5789	-0,1447	0,7104	-0,2831	0,4279
PaPe RH	0,4033	0,2478	-0,6144	0,0784	-0,4437	0,1990
PaPe LH	0,02462	0,9462	-0,04644	0,9056	-0,07763	0,8312
PH RH	-0,1568	0,6654	-0,1263	0,7460	-0,4985	0,1425
PH LH	-0,1398	0,7001	-0,4694	0,2406	-0,2416	0,5013
SO RH	-0,2619	0,4648	0,0976	0,8027	-0,4201	0,2603
SO LH	-0,009845	0,9785	-0,1452	0,7093	-0,6711	0,0336
VMH RH	-0,6024	0,0860	-0,1941	0,6168	-0,2367	0,5103
VMH LH	-0,4709	0,2007	-0,2101	0,5874	0,006495	0,9858
LHA RH	0,3371	0,3409	-0,2513	0,5143	-0,4672	0,1733
LHA LH	-0,3026	0,3955	-0,1636	0,6740	-0,67	0,0340

Table 7 : Correlation (Pearson r) between diffusivity and BMI

RH : right hypothalamus *LH* : Left Hypothalamus; *ARH*: Noyau arqué hypothalamique; *DMH*: Noyau dorso medial; *MPO*: Noyau pré-optique; *MR*: region mamillaire; *PaPe*: Noyau para et péri-ventriculaires; *PH*: Noyau hypothalamique postérieur; *SO*: Noyau supra optique; *VMH*: Noyau ventro median; *LHA*: aire hypothalamique latérale; *HT*: hypothalamus; *VL*: ventricules latéraux

- Volumétrie et tractographie :

Enfin nous avons voulu déterminer si des liens existaient entre le volume de chaque noyau hypothalamique et le nombre de fibres passant au travers. C'est effectivement le cas dans le groupe contrôle où le nombre de fibres est proportionnel au volume de l'ARH et du VMH (Figure 31 et tableau 8). Or c'est justement dans le groupe contrôle que le nombre de fibres est le plus important comparé aux groupes minces constitutives et anorexiques mentales. En revanche il n'y a pas de lien entre volumétrie, poids et IMC (données non présentées).

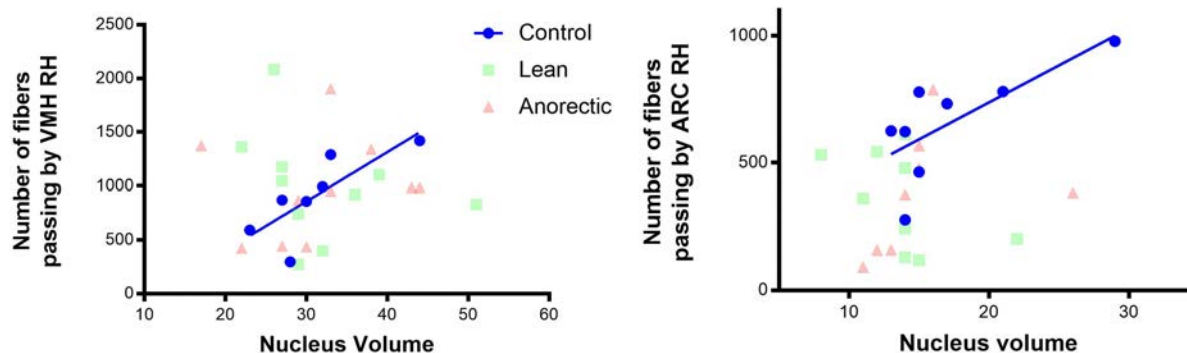


Figure 31 : Correlation (Pearson r) between tractography and volumetry

ARC : noyau arqué hypothalamique, VMH : noyau ventro médian, RH : right hypothalamus
LH : left hypothalamus

Nuclei	Control group (n=10)		Constitutional thinness group (n=10)		Anorexia nervosa group (n=10)	
	Pearson r	P value	Pearson r	P value	Pearson r	P value
ARH RH	0,7271	0,0410	-0,5066	0,1640	0,3544	0,3891
ARH LH	0,06138	0,8662	-0,08421	0,8171	0,4303	0,2145
DMH RH	0,01034	0,9789	-0,474	0,1664	-0,3632	0,3023
DMH LH	0,28	0,4333	-0,2758	0,4726	-0,0319	0,9351
MPO RH	0,09267	0,7990	-0,1351	0,7097	-0,06838	0,8612
MPO LH	-0,04343	0,9052	0,3676	0,2960	0,3105	0,3826
MR RH	-0,09052	0,8036	-0,2529	0,4808	0,08443	0,8290
MR LH	-0,1765	0,6256	-0,2847	0,4253	-0,1341	0,7120
PaPe RH	-0,4638	0,2470	0,1757	0,6773	0,6561	0,0550
PaPe LH	0,6328	0,0674	0,3065	0,4224	0,2483	0,5194
PH RH	0,2056	0,5688	0,02387	0,9478	0,4095	0,2400
PH LH	0,3276	0,3555	0,13	0,7203	0,3046	0,3922
VMH RH	0,785	0,0365	-0,2892	0,4177	0,1874	0,6042
VMH LH	-0,09555	0,8219	0,1884	0,6023	-0,0698	0,8584
LHA RH	0,4063	0,2439	0,1313	0,7177	0,04658	0,8983
LHA LH	0,1097	0,7960	-0,05283	0,8848	0,6042	0,0849

Table 8 : Correlation (Pearson r) between tractography and volumetry

RH : right hypothalamus LH : Left Hypothalamus; ARH: Noyau arqué hypothalamique;
DMH: Noyau dorso medial; MPO: Noyau pré-optique; MR: region mamillaire; PaPe: Noyau
para et péri-ventriculaires; PH: Noyau hypothalamique postérieur; SO: Noyau supra
optique; VMH: Noyau ventro median; LHA: aire hypothalamique latérale; HT:
hypothalamus; VL: ventricules latéraux

c. Analyses discriminantes :

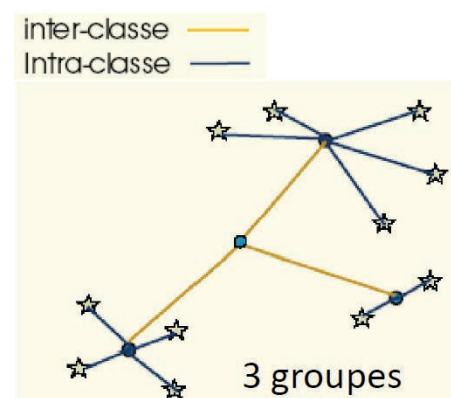
Grâce à ces nombreuses données descriptives, qui précisent de plus en plus la « mécanistique » défaillante dans l'anorexie mentale, j'ai souhaité pouvoir en tirer un outil diagnostique. En effet à ce jour le dépistage des troubles du comportement alimentaire est limité du fait de l'absence totale d'explorations paracliniques dans ce domaine. Or la précocité du diagnostic conditionne le pronostic de cette pathologie grave dont la mortalité atteint les 10% et dont les perspectives de guérison ne sont que de 30%.

De plus, de nombreux diagnostics erronés de troubles de comportement alimentaire sont posés sur des sujets maigres constitutifs à cause de leur sous poids, de l'argumentaire déployé (ces personnes rapportent manger convenablement comme dans les phases initiales de déni dans l'anorexie mentale), et de la méconnaissance globale de ce statut anthropométrique particulier. Cela est à l'origine d'une forte stigmatisation, discrimination parfois, et d'un impact psychologique non négligeable poussant certains à consulter en milieu spécialisé. Bien entendu après un interrogatoire poussé et un bilan paraclinique irréprochable, le diagnostic différentiel est rapidement posé.

Pouvoir prédire l'existence ou pas d'un trouble du comportement alimentaire par une simple IRM cérébrale, examen non irradiant, de plus en plus accessible avec un maillage territorial de plus en plus important, est une idée séduisante surtout à des stades précoces de la pathologie. C'est dans ce contexte que des analyses discriminantes ont été réalisées en reprenant les données quantitatives précédemment développées.

L'analyse factorielle discriminante est une méthode statistique qui vise à décrire, expliquer et prédire l'appartenance à des groupes prédéfinis (dans notre cas l'un des trois groupes de patients : contrôle, maigre constitutionnelle ou anorexique) à partir d'une série de variables prédictives (correspondant ici à toutes les données quantitatives mesurées précédemment à savoir : spectroscopie, diffusion, tractographie, volumétrie). Dans notre cas l'analyse sera descriptive, permettant ainsi de discerner le plus possible les groupes d'individus, via une représentation graphique. Chaque groupe est représenté par un code couleur et tous les individus sont reliés au centre du groupe (centroïde de groupe) ce qui permet d'avoir une idée de leur étendue.

Cette étendue est ensuite chiffrée via un coefficient d'inertie totale en % décomposée en inertie inter-classe (dispersion entre les groupes) et intra-classe (dispersion entre les individus d'un même groupe). Le pouvoir discriminant des données testées sera d'autant meilleur si l'inertie inter-classe est grande et l'inertie intra-classe est faible. Si les 3 classes ont des centres de gravité différents et sont bien compactes autour de ces centres de gravité, l'inertie intra-classe devient faible et c'est le % d'inertie inter-classe qui augmente. Seront présenté ici les inerties inter-classe le but étant de discriminer les groupes. Plus il sera élevé plus le pouvoir discriminant sera important.



- Spectroscopie :

Pour cette séquence d'IRM, l'inertie inter-classe de 30% (Figure 32). La séparation des trois groupes n'est pas très bonne. Toutefois, les patientes anorexiques ont quand même tendance à avoir des valeurs plus élevées sur le premier axe X. Le deuxième axe Y n'est pas très discriminant.

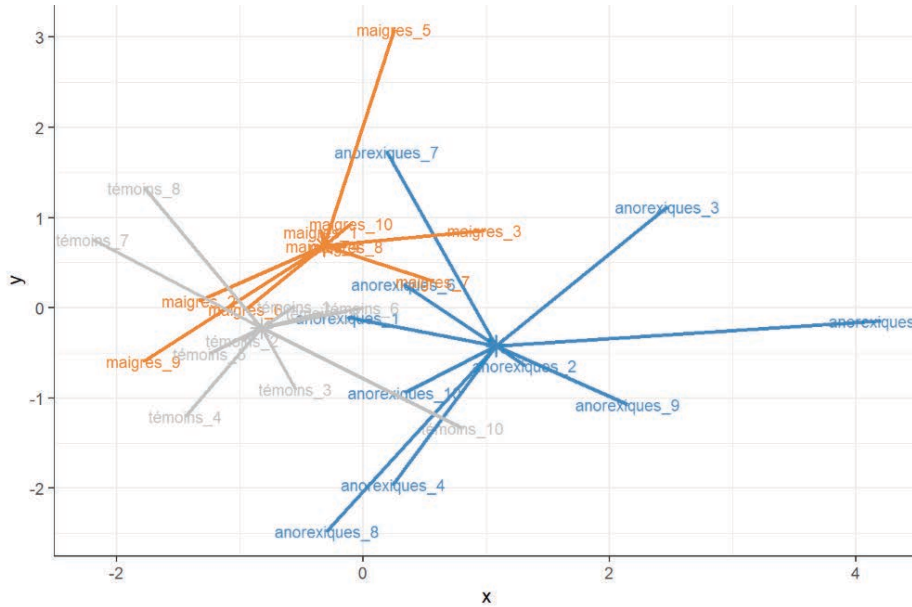


Figure 32 : Analyse discriminante basée sur les données de spectroscopie

- Diffusion :

Pour cette séquence d'IRM, l'inertie inter-classe de 43% (Figure 33). L'axe X permet de distinguer aisément le groupe maigre des deux autres, l'axe Y permet de distinguer le groupe témoin des deux autres. Par contre distinguer le groupe anorexique des deux autres est difficile.

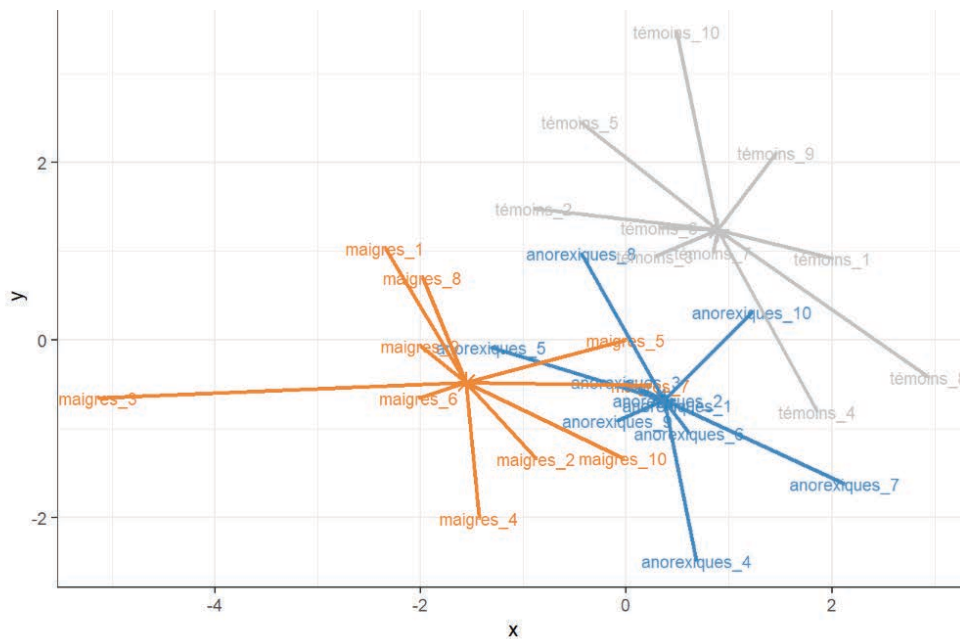


Figure 33 : Analyse discriminante basée sur les données de diffusion

- Tractographie :

Pour cette séquence d'IRM, l'inertie inter-classe de 39% (Figure 34). Le premier axe X sépare les anorexiques des témoins, les maigres se retrouvant entre les 2. Sur le 2ème axe Y, les maigres semblent avoir des valeurs plus élevées.

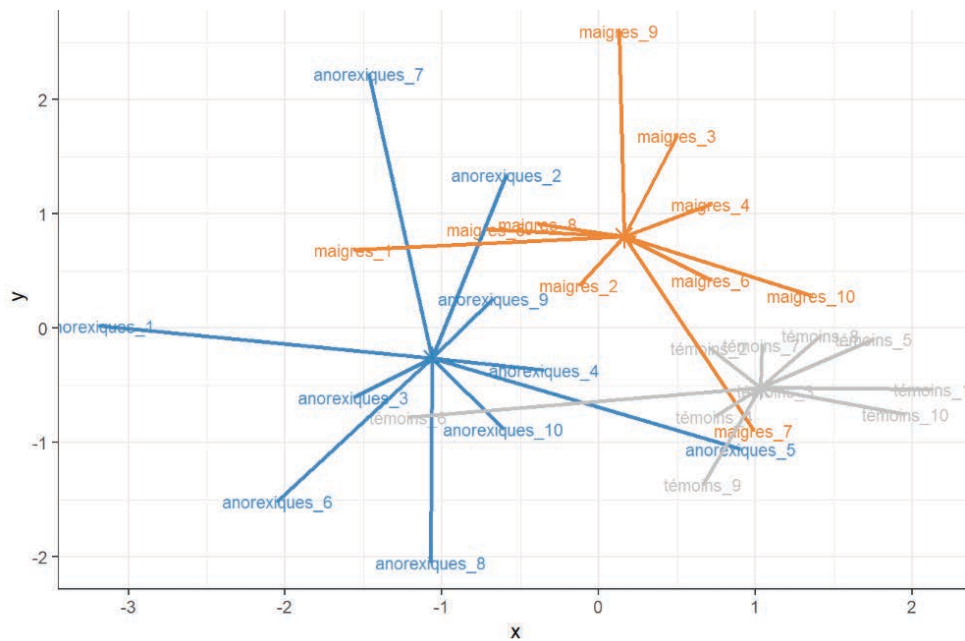


Figure 34 : Analyse discriminante basée sur les données de tractographie

- Volumétrie :

Pour cette séquence d'IRM, l'inertie inter-classe de 28% (Figure 35). Il y a beaucoup de chevauchement entre les groupes, la séparation est assez mauvaise. Le premier axe sépare toutefois un peu les anorexiques des maigres, mais les témoins sont mélangés à ces 2 groupes.

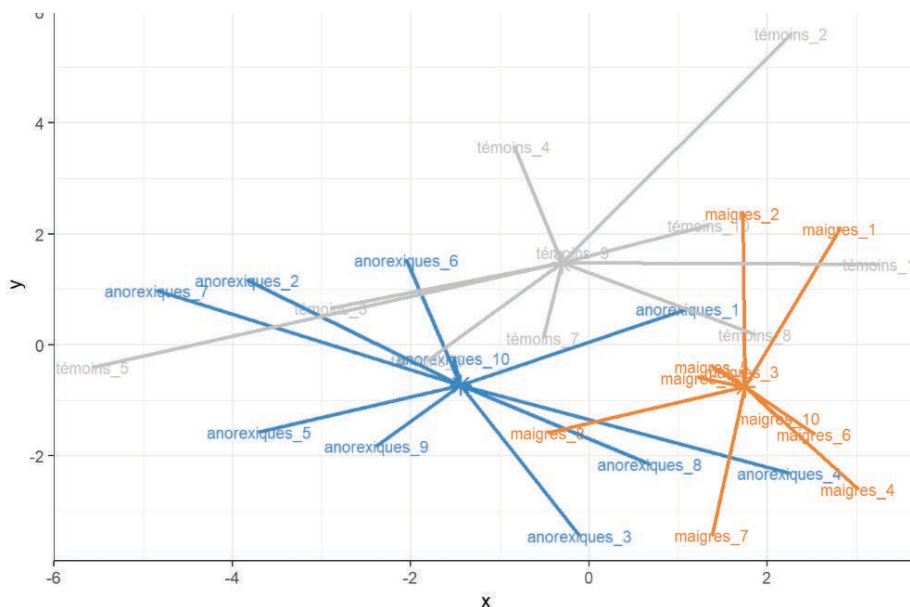


Figure 35 : Analyse discriminante basée sur les données de volumétrie

- Totalité des données (hors volumétrie) :

Pour la somme des différentes données hors volumétrie (de par le faible pouvoir discriminant de ces données), l'inertie inter-classe de 56% (Figure 36). En regroupant l'ensemble des variables, on obtient une bonne séparation des 3 groupes. Les maigres ont des mesures plus faibles sur le premier axe X, et les anorexiques des mesures plus faibles sur le deuxième axe Y.

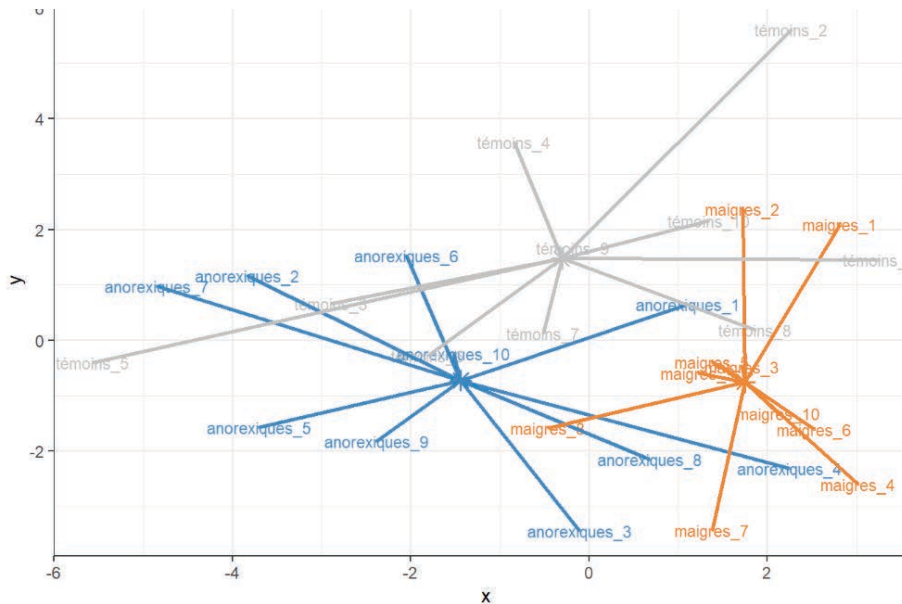


Figure 36 : Analyse discriminante basée sur la totalité des données (hors volumétrie)

Cette analyse se veut très exploratoire. Elle vise à comprendre comment se structurent les données observées, mais il est loin d'être certain de pouvoir généraliser les conclusions. En premier lieu, certains patients ont été retirés de l'analyse (outliers). Il est tout à fait possible qu'il ne s'agisse pas de patients "aberrants", au sens de mesures faussées, mais simplement de cas particuliers. Il serait probablement nécessaire d'inclure plus de patients pour comprendre la structure sous-jacente. Ensuite, il y a un risque de faux positifs et de sur-apprentissage très fort. En effet, nous avons 30 patients pour un total de 133 variables. Le risque que certaines variables permettent de séparer les groupes par hasard est très fort...

Une estimation des performances de prédiction en validation croisée (procédure Leave-One-Out : chaque individu est tour à tour retiré des données, le modèle est construit et le groupe de l'individu est prédit. Ainsi, il n'est pas pris en compte dans la construction du modèle qui cherche à prédire son groupe). Les performances sont très moyennes, avec 32% maximum de bien classés.

Ainsi, ces résultats sont à prendre avec de grandes précautions et devraient être confirmés avec de nouveaux patients. La construction d'un algorithme à plus large échelle reste néanmoins tout à fait possible et pertinente.

II. AXE 2 : ETUDE DE LA LEPTINORESISTANCE DANS L'OBESITE : IMPACT DE LA METFORMINE SUR LE TRANSPORT DE LA LEPTINE DANS LE LIQUIDE CEREBROSPINAL DE PATIENTS OBESES :

Dans l'obésité, l'étude de l'hypothalamus humain *in vivo* et de son rôle de chef d'orchestre homéostatique est à ce jour assez limitée compte tenu des difficultés évidentes soulevées par son accessibilité...

A ce jour seulement 4 études (174, 175, 283, 284) se sont intéressées au ratio entre la leptine sérique et la leptine cérébro-spinale. L'approche de ces études ne comprenait pas l'étude du phénomène de migration du signal leptine au travers des tanycytes, de surcroît sans traitement par metformine.

En miroir de notre première étude basée uniquement sur des données radiologiques en IRM cérébrale chez l'anorexique mentale, le second axe de cette thèse a pour but de mettre en évidence des modifications neuro-hormonale, d'imagerie, de métabolisme, de comportement alimentaire et d'efficacité cognitive chez le sujet obèse, à l'issue d'un traitement par metformine améliorant le phénomène de leptinorésistance sur un modèle murin.

Pour ce faire, j'ai prévu de recruter 31 sujets obèses volontaires, de mesurer le degré de leptinorésistance via la mesure du ratio leptinorachie/leptinémie avant et après 3 mois de traitement par metformine. Chaque sujet sera ainsi son propre témoin. En plus du volet biologique qui comprendra également l'analyse de nombreux autres peptides que la leptine, impliqués dans la régulation de la prise alimentaire et détaillés en introduction, j'ai prévu de comparer l'évolution structurelle et fonctionnelle de l'hypothalamus avant et après traitement en IRM cérébrale 3 Teslas. Une analyse de la composition corporelle totale en impédancemétrie bioélectrique multifréquences, et de la dépense énergétique de repos via calorimétrie indirecte seront également prévues. Une étude précise du comportement alimentaire des sujets et de leur efficacité cognitive sera réalisée au cours d'un entretien neuropsychologique, en analysant l'évolution des résultats aux tests après la modulation de la leptinorésistance. La mise en évidence de ces modifications neurohormonales, pourrait permettre une meilleure compréhension du mécanisme de leptinorésistance du sujet obèse et éventuellement la mise au point de nouvelles cibles thérapeutiques dans le traitement de l'obésité et des pathologies neurodégénératives.

Compte tenu de la complexité de ces procédures, des questions éthiques évidentes en regard du degré d'invasivité des explorations réalisées (ponctions lombaires, prise médicamenteuse, IRM ...), la mise en application de ce protocole a été longue mais finalement acceptée au plan réglementaire. La première étape fut de trouver un promoteur en capacité d'encadrer ce protocole complexe, et qui acceptait de prendre la responsabilité administrative de suivre le projet. Le GHICL a finalement accepté de jouer ce rôle. Les autorisations réglementaires ont été décrochées en première instance, probablement grâce à la maturité du protocole, à ces multiples justifications, et à toutes les précautions mises en avant pour se prémunir du risque individuel de chaque participant en regard du bénéfice collectif sur un enjeu de santé publique qu'est l'obésité.

Un premier amendement a dû être rédigé afin d'accroître la portée du protocole vers la sphère cognitive peu étudiée et pourtant capitale en regard du surrisque de démence chez les sujets obèses. Devant des difficultés de recrutement et d'inclusion, non liées à la file active de patients qui est conséquente, mais liées aux nombreux critères de non-inclusion, un second amendement a été rédigé afin d'alléger certains critères.

Les inclusions sont donc en cours mais à ce jour le nombre limité de sujets inclus ne nous permet pas de débiter les analyses. La durée prévisionnelle de cette étude est de 28 mois. L'intégralité du protocole de recherche est reproduit ci-dessous.



PROTOCOLE RECHERCHE INTERVENTIONNELLE TYPE 1

« LEPTOB »

ETUDE DE LA COMMUNICATION DE L'HYPOTHALAMUS AVEC LA PERIPHERIE : IMPACT DE LA METFORMINE SUR LE TRANSPORT DE LA LEPTINE DANS LE LIQUIDE CEREBROSPINAL DE PATIENTS OBESES. ETUDE MONOCENTRIQUE, PROSPECTIVE

N° Protocole

RC-P0054

N° EUDRACT

2017-00082-72

Avis favorable du CPP le 26/11/18

Autorisation de l'ANSM le 03/01/19

Promoteur de l'étude

Groupe des Hôpitaux de l'Institut
Catholique de Lille (GHICL)
Hôpital Saint Philibert
115 rue du Grand But
BP 249
59462 Lomme Cedex

Investigateur coordonnateur

Dr FLORENT Vincent, MD MSc
INSERM U1172
Praticien Hospitalier, médecin nutritionniste
Centre hospitalier d'Arras
Boulevard Georges Besnier
62022 Arras
Tel : 03 21 21 15 65
Email : vincent.FLORENT@gh-artoisternois.fr

Responsables scientifiques

Dr PREVOT Vincent, Ph.D.
INSERM U1172
Development and Plasticity of the
Neuroendocrine Brain
Neurobese International Associated
Laboratory
Jean-Pierre Aubert Research Center
1 place de Verdun 59045 Lille cedex
Email : vincent.prevot@inserm.fr
Tel : +33 3 20 62 20 64

Dr BARONCINI Marc, MD PhD
Praticien Hospitalier, Neurochirurgie
Hôpital Roger Salengro, CHRU Lille
2 avenue Oscar Lambret 59000 Lille
Email : marc.baroncini@chru-lille.fr

Dr PIGEYRE Marie, MD PhD
MCU-Praticien Hospitalier, Nutrition
Hôpital Huriez, CHRU Lille
2 avenue Oscar Lambret 59000 Lille
Email : marie.pigeyre@chru-lille.fr

Clause de confidentialité

Ce document est la propriété exclusive du promoteur, le GHICL Lomme. Il vous est confié à titre confidentiel pour être examiné par vous-même, votre équipe, les membres des Autorités administratives. Les informations contenues dans ce document ne doivent pas être communiquées à des tiers sans l'autorisation écrite préalable du Promoteur, à l'exception des éléments nécessaires à l'obtention du consentement éclairé des personnes qui se prêteront à la recherche.

Responsable de la protection et du contrôle des données

Centre Investigateur

N° Centre	Nom -Titre	Service	Adresse	Mail	Téléphone	Fonction
1	Dr FLORENT Vincent	Nutrition	Centre Hospitalier d'Arras Boulevard Georges Besnier 62022 ARRAS	Vincent.FLORENT@gh- artoisternois.fr	03 21 21 15 65	Investigateur principal
	Dr ANDRIEUX Séverine			Severine.ANDRIEUX@gh- artoisternois.fr	03 21 21 16 00	Co-investigateurs
	Dr LEROY Marie Céline	Médecine de spécialité		Marie-Celine.LEROY@gh- artoisternois.fr	03 21 21 10 10	
	Dr CANDELIER Jean-Baptiste			Jean-baptiste.candelier@gh- artoisternois.fr	03 21 21 10 10	

Responsable de la recherche agissant pour le compte du promoteur / et autorisé à signer le protocole et ses modifications éventuelles au nom du promoteur

Responsable de la Délégation à la Recherche Clinique et à l'Innovation

Dr LANSIAUX Amélie

Tél : 03 20 22 52 69 - Mail : lansiaux.amelie@ghicl.net

Déléguée à la Protection des données de Recherche du GHICL :

correspondant.recherche@ghicl.net

Statistiques/Méthodologie

Biostatisticien : VERDUN Stéphane

Tél : 03.20.22.59.27 / poste 8..59.27 - Mail : verdun.stephane@ghicl.net

Gestion et coordination de l'étude

ARC promoteur : PLETS Mélody

Tél : 03.20.22.57.33 - Mail : plets.melody@ghicl.net

Pharmacie responsable du Produit (reconditionnement, étiquetage, approvisionnement, ...)

Nom : Dr Céline PINGAUD

Service : Pharmacien chef de service

Adresse: Hôpital Saint Vincent de Paul (GHICL) - Bd de Belfort – BP 387, 59020 Lille cedex

Mail : pingaud.celine@ghicl.net

Evaluation neuropsychologique

Dr Maxime BERTOUX, PhD

Chargé de Recherche Inserm - Neuropsychologue

Unilille, Inserm, CHU (CMRR) de Lille, UMR1171 Troubles cognitifs dégénératifs et vasculaires

maximel.bertoux@gmail.com

Gestion et analyse des échantillons biologiques

Docteur Vincent PREVOT
Laboratoire INSERM U1172

Centre de recherche Jean Pierre Aubert, bâtiment Biserte, 1 place de Verdun, 59045 Lille cedex

Email : vincent.prevot@inserm.fr - Tél : 03 20 29 88 50

Pr Pascal PIGNY

Institut de biochimie et de biologie moléculaire

Email : Pascal.pigny@chru-lille.fr – Tél : 03 20 44 59 62

Imagerie

CHU de Lille - Hôpital Salengro

Pr Leclerc

IRM 3T Recherche - Service de Neuroradiologie

2 Avenue Oscar Lambret

59037 Lille Cedex

Tél : 03 20 44 65 63

Ingénieur IRM

Mr LOPES Renaud

Neuroradiologie Hôpital Roger Salengro

Renaud.lopes@chru-lille.fr

Tél : 03 20 44 59 62

Vigilance

Nom : Dr HOUDAS Sophie

Service : service de Recherche Clinique

Adresse : Fondation Adolphe de Rothschild – 29 rue Manin – 75019 PARIS

Mail : shoudas@for.paris

HISTORIQUE DES MISES A JOUR DU PROTOCOLE

VERSION	DATE	RAISON DE LA MISE A JOUR
1.0	24/10/2018	Version initiale
1.1	22/11/2018	Réponse aux remarques du CPP
1.2	19/12/2018	Réponse aux remarques de l'ANSM
2.0	15/05/2019	MS1
3.0	13/02/2020	MS2

PAGE DE SIGNATURE DU PROTOCOLE

Code interne de la recherche : RC-P0054

Titre : « Etude de la communication de l'hypothalamus avec la périphérie : impact de la Metformine sur le transport de la leptine dans le liquide cébrospinal de patients obèses. Etude monocentrique, prospective»

Version N° 3.0 du 13/02/2020

La recherche sera conduite conformément au protocole et aux dispositions législatives et réglementaires en vigueur.

L'investigateur principal :

Dr FLORENT Vincent

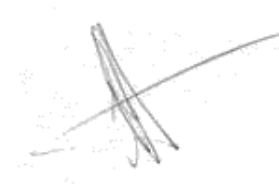
Service de Nutrition

Centre hospitalier d'Arras

Boulevard Georges Besnier

62022 Arras

Signature :



Date : 13/02/2020

Le promoteur

GHICL

Dr. LANSIAUX Amélie

Responsable de la Délégation à la Recherche

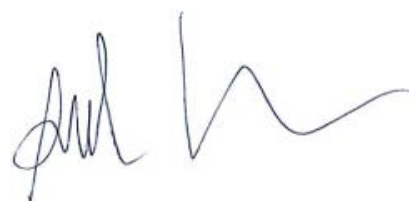
Clinique et à l'Innovation

Hôpital Saint Philibert

115 Rue du Grand But

BP249, 59462 Lomme cedex

Signature :



Date : 13/02/2020

SYNOPSIS

1. Résumé

TITRE	Etude de la communication de l'hypothalamus avec la périphérie : impact de la Metformine sur le transport de la leptine dans le liquide cébrospinal de patients obèses. Etude monocentrique, prospective.
TITRE ABREGE	LEPTOB : Etude de la leptinorésistance dans l'obésité
PROMOTEUR	GROUPEMENT DES HOPITAUX DE L'INSTITUT CATHOLIQUE DE LILLE-GCS
INVESTIGATEUR COORDINATEUR	Dr Vincent FLORENT Unité de Nutrition Centre Hospitalier d'Arras
VERSION DU PROTOCOLE	V3.0 du 13/02/2020
JUSTIFICATION / CONTEXTE	<p>L'obésité est un enjeu de santé publique dont les conséquences en termes de morbi mortalité ne sont plus à démontrer. Les seules options thérapeutiques efficaces sur le long terme à ce jour relèvent de la chirurgie bariatrique dont le risque opératoire est important, et dont la iatrogénie post-opératoire à la fois sur le plan somatique et psychiatrique est majeure. Le comportement alimentaire dépend de l'intégration hypothalamique de signaux périphériques comme le glucose ou la leptine. En effet, la glycémie module la faim et le rassasiement. La plupart des cas d'obésité présentent des taux de leptine circulante élevés qui échouent à réduire l'appétit ou majorer la dépense énergétique. Les mécanismes à l'origine de cette non-intégration des signaux périphériques sont mal compris.</p> <p>Les tanocytes sont des cellules gliales situées au niveau de l'éminence médiane. Ceux-ci forment un pont entre les vaisseaux sanguins et le système nerveux central et contrôlent l'accès des hormones périphériques. Les tanocytes capturent la leptine circulante qui active ensuite une voie de signalisation ERK (Extracellular signal-regulated kinases) qui la libère dans le liquide cébrospinal (LCS). Or des données récentes montrent que la voie ERK est défaillante dans les tanocytes de souris obèses, participant au mécanisme de leptinorésistance. Nos résultats préliminaires obtenus dans un modèle de souris obèses, montrent que la metformine (antidiabétique oral commercialisé en France depuis 1979 sous le nom de marque Glucophage) est capable d'activer la voie ERK et de restaurer le passage de la leptine circulante dans le cerveau (48).</p> <p>Nous posons l'hypothèse d'un mécanisme d'altération du signal leptine au sein des tanocytes de l'hypothalamus médio-basal chez le patient obèse qui serait modulable par la metformine.</p>

METHODOLOGIE	Recherche interventionnelle de type 1, monocentrique, prospective, à un bras de type avant/après, évaluant l'impact de la metformine sur le transport de la leptine dans le liquide cébrospinal de patients obèses
OBJECTIF PRINCIPAL	Etudier l'impact de la metformine chez des patients obèses sur la leptinémie et la leptinorachie.
OBJECTIFS SECONDAIRES	Etudier l'impact de la metformine chez des patients obèses sur : 1. D'autres molécules impliquées dans la régulation de la prise alimentaire et dans l'axe « intestin-cerveau », au cours de la migration du signal leptine au travers des tanocytes, 2. Des neurotransmetteurs cérébraux impliqués dans la régulation de la prise alimentaire, 3. Du déplacement des molécules d'eau au sein de l'hypothalamus ainsi que la direction de ces déplacements au cours d'une séquence IRM de diffusion, 4. Du contenu neurobiologique et biochimique de l'hypothalamus in vivo par spectroscopie RM, 5. Des paramètres anthropométriques, 6. De composition corporelle, 7. De dépense énergétique 8. Du comportement et de prise alimentaire, 9. Des paramètres du métabolisme glucidique, lipidique, hépatique, 10. L'efficacité cognitive : les fonctions exécutives, l'attention, la mémoire 11. Evaluer la tolérance du traitement par metformine.
CRITERE DE JUGEMENT PRINCIPAL	Ratio leptinorachie/leptinémie à jeun après 3 mois de traitement.
CRITERES DE JUGEMENT SECONDAIRES	Mesure à M0 et M3 : 1. des ratios suivants : a. Glycorachie / glycémie à jeun, b. GLP1 LCS / GLP1 sérique à jeun, c. Insuline LCS / insuline sérique à jeun, d. Ghréline LCS / ghréline sérique à jeun. 2. des concentrations plasmatiques et dans le LCS à jeun en : a. AgRP b. POMC c. NPY d. récepteur soluble de la leptine 3. Du coefficient de Diffusion Apparent (ADC) obtenu par IRM de diffusion à jeun.

	<ol style="list-style-type: none"> 4. Des concentrations par Spectroscopie par Résonance Magnétique à jeun en métabolites hypothalamiques : <ol style="list-style-type: none"> a. N Acétyl Aspartate NAA, b. Créatine Cr, c. Choline Cho. d. Glutamine / glutamate e. GABA 5. des paramètres anthropométriques (poids, périmètre abdominal), 6. de la composition corporelle mesurée par impédancemétrie bioélectrique en kg et % de masse grasse et masse non grasse ainsi que l'angle de phase en degrés, 7. de la dépense énergétique mesurée par calorimétrie indirecte en kcal / 24h 8. des scores sur questionnaire de comportement alimentaire (TFEQ ; DEBQ) et enquête alimentaire avec ingestas en kcal/24h. 9. Des bilans : <ol style="list-style-type: none"> a. Lipidique (Cholestérol total, HDL cholestérol, LDL cholestérol, Triglycérides), b. Glucidique (glycémie à jeun, hémoglobine glyquée), c. Hépatique (TGO, TGP, GGT, Palc). 10. des scores sur questionnaires pour la mémoire verbale (RLRI A ou B), pour la mémoire exécutive (STROOP, TMT, Fluence verbale, MOCA, mini SEA, empan mnésiques de la WAIS), pour la prise de décision (questionnaires de choix financiers). 11. Tolérance traitement : évaluée selon l'échelle de toxicité NCI-CTC-AE v4.0 (gastro-intestinaux (nausées, vomissements, diarrhées), réaction cutanée (érythème, prurit, urticaire)).
CRITERES D'INCLUSION	<ul style="list-style-type: none"> - Homme ou femme d'âge > ou = à 18 et < ou = à 40 ans - Présentant une obésité avec un IMC > 30 - Patient affilié au régime de sécurité sociale - Patient ayant accepté de participer à l'étude et ayant signé le consentement - Pour les femmes en âge de procréer : utilisation d'une méthode de contraception efficace pendant la durée de l'étude
CRITERES DE NON-INCLUSION	<ul style="list-style-type: none"> - Obésité syndromique (d'origine génétique) - Diabète de type 2 (défini par 2 glycémies à jeun > à 1,26 g/L ou glycémie > 2g/L à 120min de l'HGPO à 75g de glucose) - Traitement par metformine déjà en place - Diabète de type 1 - Pathologie néoplasique active, dont le diagnostic est < 5 ans, ou en cours de traitement - Pathologie neurologique (démyélinisante, tumorale, vasculaire) - Pathologie du tissu adipeux (lipodystrophie) - Antécédent de chirurgie bariatrique - Contre-indication à la metformine : <ul style="list-style-type: none"> • Hypersensibilité à la metformine • Insuffisance rénale ou altération de la fonction rénale

	<p>(clairance de la créatinine < 60 mL/min)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Affection aiguë susceptible d'altérer la fonction rénale (déshydratation, infection sévère, choc) • Maladie aiguë ou chronique pouvant entraîner une hypoxie tissulaire, telle qu'insuffisance cardiaque ou respiratoire, infarctus du myocarde récent, choc • Insuffisance hépatique, intoxication alcoolique aiguë, alcoolisme • Tout type d'acidose métabolique aiguë (telle que l'acidose lactique, l'acidocétose diabétique) • Pré-coma diabétique <p>- Contre-indication à la ponction lombaire :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hypersensibilité à la lidocaïne • Hypertension intra crânienne • Sepsis au point de ponction • Troubles de la coagulation • Malformation rachidienne • Hypovolémie non corrigée <p>- Contre-indication à l'IRM :</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ claustrophobie, corps métallique intraoculaire, présence de matériel électronique implantable (implant cochléaire, pace maker, défibrillateur implantable, neurostimulateur, ...), corps étranger non compatible à l'IRM (anciennes valves cardiaques ou anciens clips d'anévrisme cérébraux), poids > à 130 kg ou diamètre corporel > à 60 cm. <p>- Personne incapable de consentir, ou bénéficiant d'un régime de protection juridique (tutelle/curatelle/sauvegarde de justice)</p> <p>- Femme enceinte ou allaitante</p> <p>- Contre-indication à l'impédancemétrie :</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Matériel électronique implantable (implant cochléaire, pace maker, défibrillateur implantable, neurostimulateur, ...) <p>- Contre-indication à la calorimétrie indirecte : claustrophobie</p>
PROCEDURES	<p>Les procédures spécifiques à l'étude sont :</p> <ul style="list-style-type: none"> - le recueil d'un prélèvement sanguin par ponction veineuse (30 ml) à 2 reprises et d'un prélèvement de liquide cébrospinal LCS par ponction lombaire (5 ml) à 2 reprises - la réalisation d'une IRM métabolique à 2 reprises - une évaluation neurocognitive à 2 reprises - un traitement par metformine durant 3 mois - questionnaires à remplir (enquête alimentaire et comportement alimentaire) - suivi téléphonique à 1 et 2 mois afin de s'assurer de la bonne tolérance et de l'observance du traitement (questionnaire de Morisky)
NOMBRE DE PATIENTS	31
NOMBRE DE CENTRE PARTICIPANT	1 : Unité de Nutrition, Centre Spécialisé Obésité du CH d'Arras

DUREE DE L'ETUDE	<ul style="list-style-type: none"> - Durée de la période d'inclusion : 24 mois - Durée de participation de chaque patient : 3,5 mois au maximum - Durée totale prévisionnelle de la recherche (durée d'inclusion, durée de participation des patients) : 27,5 mois
ANALYSE STATISTIQUE	<p>Tout d'abord une analyse descriptive des données sera réalisée.</p> <p>Pour répondre à l'objectif principal : Le ratio leptinorachie/ leptinémie à 3 mois sera comparé au ratio leptinorachie/ leptinémie relevé avant traitement. L'évolution des valeurs sera testée à l'aide d'un test de Student apparié en cas de normalité, de Wilcoxon sinon.</p> <p>Pour les objectifs secondaires : L'évolution des valeurs sera testée à l'aide d'un test de Student apparié en cas de normalité, de Wilcoxon sinon. Ces analyses seront réalisées en incluant tous les patients ayant reçu 80% de leur traitement, à l'exception de la tolérance qui sera analysée sur l'ensemble des patients.</p> <p>Le seuil de significativité sera de 5% dans toutes les analyses. Les analyses seront réalisées avec le logiciel R (version 3.2.5 ou supérieure).</p>
RESULTATS ATTENDUS	<p>Nous pensons mettre en évidence une variation du ratio leptinorachie/leptinémie ou d'autres neurohormones associée à des modifications d'imagerie après traitement par metformine ce qui conforterait l'hypothèse de modulation de la leptinorésistance au sein des tanocytes par la metformine.</p>

2. Liste des abréviations

ADC	Coefficient de diffusion apparent
AgRP	Agouti related peptid
ANSM :	Agence Nationale de Santé du Médicament et des produits de Santé
ARC :	Attaché de Recherche Clinique
ARH	Noyau arqué hypothalamique
ATP	Adénosine tri phosphate
BHE	Barrière hémato encéphalique
CART	Cocain amphetamine regulated transcript
CPP :	Comité de Protection des Personnes
CNIL :	Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés
CRF	Case Report Form (cahier d 'observation)
CSF	Cerebrospinal Fluid (= liquide cérébro spinal)
DIO	Diet Induced Obesity
DTI	Diffusion Tensor Imaging
EGF	Epidermal Growth Factor
EM	Eminence médiane
ERK	Extracellular signal-regulated kinase
GLP-1	Glucagon Like Peptide 1
HGPO	Hyperglycémie provoquée par voie orale
IM	Immunoréactivité
IMC	Indice de masse corporelle
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
LCS	Liquide cérébro spinal
LepR	Récepteur leptine
MBH	Hypothalamus medio basal
MAP	Mitogen activated protein
NPY	Neuropeptid Y
OMS	Organisation mondiale de la santé
PL	Ponction lombaire
POMC	Pro opio melanocortin
SNC	Système nerveux central
SRM	Spectroscopie par resonance magnétique
TCA	Trouble du comportement alimentaire

RATIONNEL DE L'ETUDE

En 2014, l'OMS comptabilisait 1,9 milliards de personnes en surpoids ($25 < \text{IMC} < 30$) et plus de 600 millions de personnes obèses ($\text{IMC} > 30$). Différentes études ont démontré une surmortalité toutes causes confondues dans ces populations (285, 286). Les seules options thérapeutiques efficaces sur le long terme à ce jour relèvent de la chirurgie bariatrique dont le risque opératoire est important, et dont la iatrogénie post-opératoire à la fois sur le plan somatique et psychiatrique est majeure.

La leptine est l'hormone clef de la régulation de la balance énergétique. La concentration de leptine plasmatique reflète à la fois la réserve énergétique de l'organisme (la leptinémie augmente de façon proportionnelle à l'IMC) et la prise alimentaire (102). La leptine exerce une action centrale anorexigène sur les circuits de l'hypothalamus médio-basal, notamment au niveau du noyau arqué hypothalamique (ARH) (103).

1. Leptinorésistance

Chez les modèles murins déficients en leptine ou dans le cadre de rares cas d'obésité humaine liée à ce même déficit, l'administration de leptine réduit l'hyperphagie et l'obésité qui lui est secondaire (98). De façon paradoxale, la plupart des cas d'obésité avec hyperphagie, présentent des taux de leptine circulante très élevés, et qui échouent à réduire l'appétit ou majorer la dépense énergétique (287). Ces constats ont soulevé l'hypothèse d'un mécanisme de résistance hormonale à l'action de la leptine.

Une des pistes de recherche est la barrière hémato-encéphalique (BHE) : le passage de la leptine au travers de la BHE est en effet un réel checkpoint pour la diffusion du signal de la leptine de la périphérie vers le SNC(240).

2. Mécanismes de la porte d'entrée de la leptine dans le cerveau

Les tanocytes sont une population de cellules gliales de l'épendyme, localisées sur le plancher du 3ème ventricule dans l'hypothalamus tubéral (205) et constituent une BHE « modulable » et plastique (224). Les tanocytes sont les premières cellules du SNC à percevoir la leptine circulante injectée en périphérie (48). Cela suggère que l'éminence médiane constitue l'une des portes d'entrée de la leptine dans le cerveau (figure 3). **Des données sur l'Homme ont montré que le transport de la leptine dans le LCS est dramatiquement réduit chez les patients obèses (174, 175, 283, 284).**

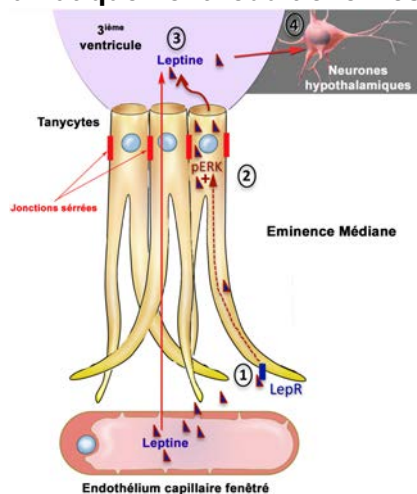


Figure 1 : Les tanocytes capturent la leptine circulante à partir des vaisseaux sanguins du système porte hypothalamo-hypophysaire dont l'endothélium a la particularité d'être fenêtrés (étape 1). Lors de son parcours dans le tanocyte, la leptine capturée par une voie nécessitant la présence de récepteurs fonctionnels (LepR) active une voie de signalisation "ERK" (extracellular-signal regulated kinase) (étape 2) qui enclenche sa libération dans le liquide céphalorachidien (étape 3). La leptine active alors les zones cérébrales qui expriment son récepteur et véhiculent son action anorexigène (étape 4).

3. Rôle de la voie de signalisation ERK dans le transport de la leptine

Les protéines ERK (Extracellular signal-regulated kinase) participent à une voie de signalisation de la leptine dans les tanocytes. Celle-ci est défaillante chez des souris

obèses, rendant la progression de la leptine impossible causant la leptinorésistance (48). Restaurer cette voie de signalisation induit une réactivation de la sensibilité à la leptine (48, 288). Cette découverte (dépôt de brevet WO 2014141124 A1 : "ERK-pathway activating compound for preventing or treating leptin résistance", (INSERM)) offre un moyen de restaurer le transport de la leptine. Cela pourrait permettre de mettre au point des traitements capables d'activer cette voie de signalisation ERK spécifiquement dans les tanycytes pour restaurer l'effet anorexigène de la leptine. Un constat similaire a été obtenu avec la metformine sur modèle murin.

4. Metformine et contrôle pondéral

La metformine est un traitement antidiabétique oral utilisé en première intention dans le traitement du diabète de type 2 depuis plus de 50 ans et d'utilisation facile avec peu d'effets secondaires. Son rôle est de diminuer l'insulinorésistance de l'organisme (289). La metformine a des effets amaigrissants dès son introduction (290). Plusieurs auteurs ont déjà utilisé ce traitement chez des patients non diabétiques obèses avec perte de poids et réduction des ingestas (291-295). **Plus récemment, des preuves d'une action centrale de la metformine sur la régulation de la prise alimentaire ont été obtenues : majoration de la POMC et diminution du NPY (296, 297) correspondant à une diminution de l'appétit et de la prise alimentaire.**

5. Metformine et voie de signalisation ERK

Nos résultats préliminaires obtenus dans un modèle de souris obèses, montrent que la metformine est capable d'activer ERK dans les tanycytes et de restaurer le passage de la leptine circulante dans le cerveau, en confirmant les résultats des autres groupes (298). Hors l'activation de la voie ERK est maintenant connue comme participant à l'amélioration de la leptinorésistance

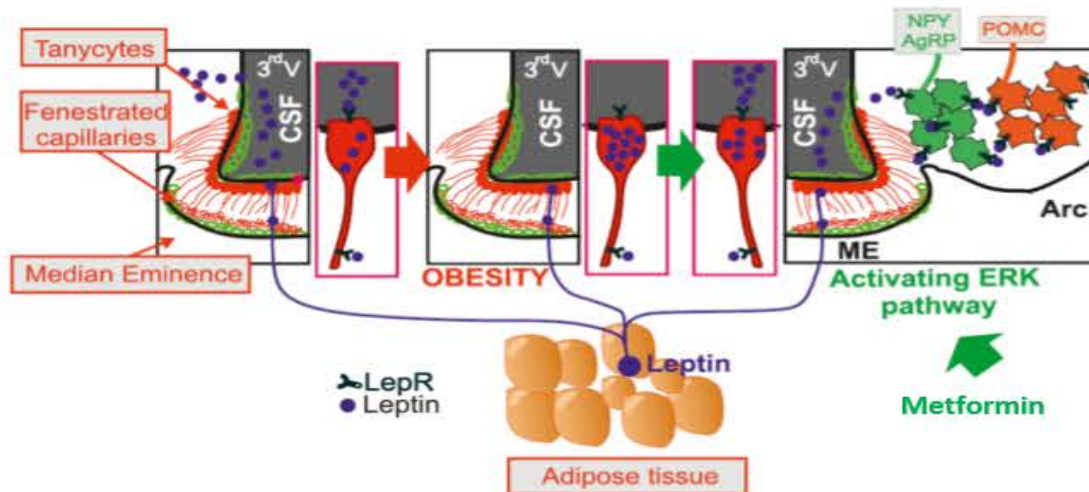


Figure 2 : scénarios du transport périphérique de la leptine médié par les tanycytes (299).

6. Apports de l'imagerie fonctionnelle

Notre équipe a une expertise dans l'imagerie par résonance magnétique (IRM) métabolique de l'hypothalamus (251, 276), ainsi que dans la cartographie des noyaux hypothalamique en IRM. L'apport de l'imagerie métabolique est capital car elle permet d'observer *in vivo* des modifications ultrastructurales et neurobiologiques de l'hypothalamus, ici au cours du cycle menstruel chez la femme (276), ou encore au cours de la prise alimentaire dans une population de patientes anorexiques mentales publié récemment dans neuroendocrinology (300).

7. Métabolisme, maladies neurodégénératives et metformine

Les pathologies neurodégénératives sont au carrefour des pathologies liées au vieillissement et aux troubles métaboliques. En effet, il existe une corrélation entre pathologies du métabolisme telles que l'obésité, et maladies neurodégénératives (301) comme la maladie d'Alzheimer. Cet effet serait potentiellement médié par la leptine avec une action pleiotropique, action incluant une régulation des fonctions cognitives avec des effets de neuroprotection, suggérant un lien potentiel entre leptine et maladie d'Alzheimer (302, 303). De plus, plusieurs essais thérapeutiques récents ont mis en évidence une action de la metformine sur la progression de pathologies neurodégénératives tel que la maladie d'Alzheimer (304) avec une amélioration des fonctions exécutives, de l'attention et de la mémoire (305).

8. Hypothèse

A ce jour seulement peu d'études (174, 175, 283, 284) se sont intéressées au ratio entre la leptine sérique et la leptine cérébro-spinale, à un moment où le phénomène de migration du signal leptine au travers des tanocytes au niveau de la barrière hémato-encéphalique n'était pas connu, sans traitement par metformine. Nos résultats préliminaires obtenus dans un modèle de souris obèses montrent que la metformine est capable d'activer la voie ERK et de restaurer le passage de la leptine circulante dans le cerveau. Nous pensons que probablement le mécanisme d'altération du signal leptine au sein des tanocytes de l'hypothalamus médio-basal chez le patient obèse sévère serait modulable par la metformine.

Nous posons comme hypothèse que le traitement par metformine influence le phénomène de résistance à la leptine. Ainsi, le ratio leptine dans le LCS / leptine sérique devrait être différent après traitement par metformine. Par ailleurs, nous pensons pouvoir trouver une observation identique pour d'autres hormones impliquées dans l'axe intestin-cerveau et régulant la prise alimentaire : l'insuline, la ghréline, le GLP1, ainsi que sur le plan des neurotransmetteurs (NPY, AgRP, POMC). Enfin nous espérons pouvoir corroborer ces changements neurobiologiques en imagerie cérébrale métabolique *in vivo*.

Nous espérons pouvoir mettre en évidence une association entre leptinorésistance et dégradation de l'efficacité cognitive, avec une action favorable de la metformine sur les fonctions neurocognitives comme le retrouvent les données récentes de la littérature. Une exploration neurocognitive complète sera ajoutée aux explorations déjà prévues. Cette piste ouvrirait la porte d'approches pharmacologiques avec une action métabolique dans la prévention et le traitement des pathologies neurodégénératives type Alzheimer.

La mise en évidence de ces modifications neurohormonales, pourrait permettre une meilleure compréhension du mécanisme de leptinorésistance du sujet obèse et éventuellement la mise au point de nouvelles cibles thérapeutiques dans le traitement de l'obésité et des pathologies neurodégénératives.

9. Faisabilité :

Le critère de jugement principal nécessite un recueil de liquide cébrospinal. Les ponctions lombaires sont des gestes invasifs, mais dont les complications sont rares (voir 6.10.c.). **Les ponctions lombaires se dérouleront dans des conditions de sécurité maximale pour les patients** : imagerie médullaire et cérébrale éliminant les contre-indications, utilisation de trocarts biseautés spécifiques de très faible calibre, geste réalisé par un praticien expérimenté, surveillance médicale au cours d'un hôpital de jour.

La balance « bénéfique collectif en regard du risque individuel » apparaît favorable compte tenu de la prévalence actuelle de l'obésité, de l'enjeu de santé publique que cela représente, de l'absence de thérapeutique pharmacologique disponible et efficace actuellement, et des techniques chirurgicales bariatriques utilisées dans le traitement de l'obésité sévère à l'origine de complications per et post opératoires multiples et d'une grande iatrogénie.

Des essais pré-cliniques sont très concluants sur la compréhension physiopathologique de la leptinorésistance (brevet WO 2014141124 A1 : "ERK-pathway activating compound for preventing or treating leptin resistance »), mécanisme responsable d'un défaut de régulation de la balance énergétique, nécessitant une application sur l'Homme.

Enfin la **metformine** est un traitement anti-diabétique oral ancien, dont les effets secondaires sont rarissimes si les contre-indications du traitement sont respectées, et dont l'utilisation sur le patient obèse non diabétique a été effectuée dans de nombreuses études (voir 2.4.).

Ce projet de recherche translationnelle est inséré dans un champ de recherche plus vaste :

- co-financé via le projet **HypNeurogen sélectionné par l'ANR en 2016**
- **plus récemment intégré dans les Labex DISTALZ** (coordonné par le Prof. Philippe Amouyel) **et EGID** (coordonné par le Prof. Philippe Froguel) **de par l'interface des maladies métaboliques et des maladies liées au vieillissement**
- **ce projet a été récompensé par l'appel à projet 2018 de l'association SANTELYS (20.000 €)**
- **Ce projet a remporté en 2018 l'allocation recherche de la Fondation de l'Avenir de 39.484 €**
- **Enfin ce projet constitue l'un des objectifs de l'ERC SYNERGY "WATCH" (Well-Aging and the Tanycytic Control of Health) n° 810331 (coordonné par Vincent Prévot) toujours dans le cadre de l'interface entre pathologies métaboliques et pathologies du vieillissement. Ce projet qui a obtenu un financement de 9,8 millions d'euros auprès du Conseil Européen de la Recherche après différentes étapes de validation qui entérinent la pertinence scientifique et clinique du projet a débuté le 1 mars 2019.** Par ailleurs le projet est soutenu par le centre hospitalier d'Arras.

LEPTOB est financé à hauteur de 100%.

Concernant l'intention des patients obèses à se prêter à la PL, il est à noter qu'un sondage a été effectué sur 100 personnes du service de nutrition retrouvant un taux de participation éventuelle à l'étude de 30%.

OBJECTIFS DE L'ETUDE

1. Objectif principal

Etudier l'impact de la metformine chez des patients obèses sur la leptinémie et la leptinorachie.

2. Objectifs secondaires

Etudier l'impact de la metformine chez des patients obèses sur :

1. D'autres molécules impliquées dans la régulation de la prise alimentaire et dans l'axe « intestin-cerveau », au cours de la migration du signal leptine au travers des tanocytes,
2. Des neurotransmetteurs cérébraux impliqués dans la régulation de la prise alimentaire,

3. Du déplacement des molécules d'eau au sein de l'hypothalamus ainsi que la direction de ces déplacements au cours d'une séquence IRM de diffusion,
4. Du contenu neurobiologique et biochimique de l'hypothalamus in vivo par spectroscopie RM,
5. Des paramètres anthropométriques,
6. De composition corporelle,
7. De dépense énergétique
8. Du comportement et de prise alimentaire,
9. Des paramètres du métabolisme glucidique, lipidique, hépatique,
10. L'efficacité cognitive : les fonctions exécutives, l'attention, la mémoire,
11. Evaluer la tolérance du traitement par metformine.

CRITERES DE JUGEMENT

1. Critère de jugement principal

Mesure avant et après 3 mois de traitement (M0 et M3) du ratio leptinorachie/leptinémie à jeun.

2. Critères de jugement secondaires

Mesure à M0 et M3 à jeun :

1. des ratios suivants :
 - a. Glycorachie / glycémie,
 - b. GLP1 LCS / GLP1 sérique,
 - c. Insuline LCS / insuline sérique,
 - d. Ghréline LCS / ghréline sérique.
2. des concentrations plasmatiques et dans le LCS en :
 - a. AgRP,
 - b. POMC,
 - c. NPY
 - d. Récepteur soluble de la leptine
3. Du coefficient de Diffusion Apparent (ADC) obtenu par IRM de diffusion à jeun. La diffusivité moyenne MD sera mesurée, après segmentation manuelle des noyaux hypothalamiques (via logiciels Freesurfer et Freeview), dans chaque région d'intérêt ROI ainsi individualisées. Celle-ci sera rapportée à la MD du LCS comme ratio. Enfin un protocole de fiber tracking sera effectué entre les ROI dans lesquelles des variations de MD auront été observées.
4. Des concentrations par Spectroscopie par Résonance Magnétique à jeun en métabolites hypothalamiques. Une spectroscopie monovoxel PRESS (point-resolved spectroscopy) sera réalisée avec le positionnement de 2 voxels, dans l'hypothalamus et le thalamus du côté dominant avec le protocole suivant : TR 2000 ms - TE court 37 ms - voxel size 10 x 10 x 10 mm³, half echo acquisition, nEx=1. Le post-traitement sera effectué avec le logiciel LC model. Les métabolites suivants seront étudiés :
 - a. N Acétyl Aspartate NAA,
 - b. Créatine Cr,
 - c. Choline Cho.
 - d. Glutamine / glutamate
 - e. GABA

5. des paramètres anthropométriques (poids, périmètre abdominal),
6. de la composition corporelle mesurée par impédancemétrie bioélectrique en kg et % de masse grasse et masse non grasse ainsi que l'angle de phase en degrés,
7. de la dépense énergétique par calorimétrie indirecte en kcal/24h00
8. des scores sur questionnaire de comportement alimentaire (TFEQ : identifier différents comportements alimentaires ou motivations à manger chez une population de personnes obèses, questionnaire reproductible, validé en français ; DEBQ : émotivité alimentaire, externalité et restriction cognitive, reproductible et validé en français) et enquête alimentaire avec ingestas en kCal/24h.
 - Three-Factor Eating Questionnaire (TFEQ) : il s'agit d'un questionnaire qui permet d'identifier différents comportements alimentaires ou motivations à manger chez une population de personnes obèses. Il est composé de 51 questions divisées en 2 parties : 1) 36 propositions de VRAI ou FAUX 2) 15 choix de réponses (en entourant le chiffre au-dessous de la réponse qui s'applique le plus à lui). Sa durée de passation est de 15 minutes. Ce questionnaire est reproductible et valide (306, 307). Il permet d'identifier 3 principaux types de comportements alimentaires :
 - Restriction alimentaire : attitude de contrôle de soi, comportement de restriction stratégique, évitement des aliments gras
 - Désinhibition alimentaire : susceptibilité habituelle, susceptibilité émotionnelle, susceptibilité situationnelle
 - Susceptibilité à la faim déclenchée par des stimuli interne et externe
 - Dutch Eating Behavior Questionnaire (DEBQ) : ce questionnaire est construit en 3 dimensions : émotivité alimentaire (alimentation secondaire à des stimuli émotionnels), externalité (alimentation secondaire à des stimuli alimentaires) et restriction cognitive (intention d'avoir un contrôle pondéral en contrôlant son alimentation) ; et déterminer comment cet outil peut être utilisé pour guider les interventions thérapeutiques. Il est validé en français. (308, 309)
 - Echelle de satiété sous la forme d'une échelle visuelle analogique
 - Enquête alimentaire des 24h avec apport caloriques sur les 24 dernières heures.

9. Des bilans :

- a. Lipidique (Cholestérol total, HDL cholestérol, LDL cholestérol, Triglycérides),
- b. Glucidique (glycémie à jeun, hémoglobine glyquée),
- c. Hépatique (TGO, TGP, GGT, Palc).

10. des scores sur des questionnaires validés utilisés en pratique courante :

- a. la mémoire verbale est évaluée avec le test du Rappel libre/Rappel indicé à 16 items : RLRI A ou B. ce test permet d'évaluer la présence et la nature des difficultés de mémoire épisodique verbale. Le test est composé de 16 mots appartenant à 16 catégories sémantiques différentes et comprend successivement une phase de contrôle de l'encodage, un rappel indicé immédiat, trois essais successifs de rappels libre et indicé, suivie par une phase de rappels libre et indicé différés. Lors des essais de rappel, le score de rappel libre est calculé en fonction du nombre de mots appris et rappelés spontanément par le sujet (un point par réponse correcte) et le score de rappel indicé est obtenu en fonction du nombre de mots restants correctement rappelés lorsque la catégorie sémantique est fournie comme indice par l'évaluatrice (un point par réponse correcte). Pour chaque essai, la somme du rappel libre et du rappel indicé est aussi considérée. Cinq scores sont calculés, (1) le score de rappel immédiat ; (2) le score additionné des 3 essais en rappel libre (rappel libre total) ; (3) le score additionné des 3 essais en rappel total (rappel libre + rappel indicé) ; (4) le score du rappel libre différé ; (5) le score du rappel total (rappel libre + indicé) différé. La

première liste de mots (A) sera présentée à M0 et la deuxième liste de mots (B) sera présentée à M3.

b. les fonctions exécutives :

- Le test de Stroop permet d'évaluer les capacités d'inhibition cognitive, que l'on regroupe au sein des fonctions exécutives. Trois planches sur lesquelles sont inscrites des rectangles, des mots de couleur écrits en noir ou des mots de couleur écrit en couleur sont présentées successivement au cours du test. Pour chaque planche, il est demandé de nommer la couleur du rectangle, de lire le mot, ou bien de nommer la couleur de la police du mot, le tout le plus rapidement possible et sans faire d'erreur. Cette dernière phase est dite « d'interférence » car la lecture étant un processus automatique, le participant doit l'inhiber pour dénommer la couleur. Le temps de réalisation de chaque planche ainsi que le nombre d'erreurs sont recueillis. Cinq scores sont calculés : 1- Planche couleur, 2- Planche Mot, 3- Planche Interférence, 4- Score d'interférence faible (obtenu en divisant le temps mis pour la planche Mot par le temps mis pour la planche Couleur), 5- Score d'interférence forte (obtenu en divisant le temps mis pour la planche Interférence par le temps mis pour la planche Couleur), 6- Les erreurs commises lors pour la planche Interférence.
- Le Trail Making Test est un test neuropsychologique d'attention visuelle et de flexibilité cognitive. La performance est évaluée en utilisant deux conditions différentes contrôlant pour la vitesse psychomotrice : la Partie A implique de relier par un trait des nombres de 1 à 25 dans l'ordre croissant ; et la Partie B implique de relier des nombres et des lettres, en alternance et en ordre croissant. Le temps requis pour compléter chaque tâche et le nombre d'erreurs commises et non corrigées pour chaque tâche sont notés. On calcule un score de flexibilité en soustrayant le temps mis pour compléter la phase B au temps passé pour compléter la phase A du test.
- La Fluence verbale est un test dans lequel le sujet est invité à générer, en un temps donné, le plus grand nombre de mots. Dans ce test, sont explorées d'une part la « fluence lexicale » dont la consigne est de citer le plus possible de mots commençant par une lettre donnée, et d'autre part la « fluence sémantique » calculée à partir du nombre de mots cités dans une catégorie donnée en un temps déterminé (« animaux », « meubles » ou « fruits »).
- Le Montreal Cognitive Assessment (MoCA) est un test évaluant les fonctions d'attention, concentration, mémoire, langage, capacités visuoconstructives, capacités d'abstraction, calcul et orientation. Il est composé de 10 courtes épreuves permettant de cumuler de 1 à 6 point selon les épreuves. Le nombre de points maximum est de 30 et un score de 26 et plus est considéré normal.
- Les empan verbaux directs et indirects sont évalués par le test des empan de la Weschler Adult Intelligence Scale IV (WAIS IV) et permettent une évaluation de mémoire de travail. Ils impliquent de présenter aux participants de manière orale des séries de chiffres qu'ils doivent rappeler dans l'ordre direct puis indirect, avec un nombre de chiffres qui s'incrémente jusqu'à ce que deux échecs consécutifs soient commis pour le même nombre de chiffres donnés. On retiendra à la fois le nombre de série correctement répétées et le nombre maximum de chiffres répétées sans erreur, à chaque fois dans l'une et l'autre des conditions.

c. La cognition sociale est explorée par la reconnaissance émotionnelle faciale via l'épreuve de la mini Social cognition & Emotional Assessment (mini-SEA). Cette épreuve est composée de 35 visages exprimant une émotion que les participants doivent identifier en choisissant parmi sept étiquettes émotionnelles qui lui sont

- proposées (joie, surprise, dégoût, tristesse, colère, peur ou neutre). Chaque bonne réponse est comptabilisée (1 point) pour arriver à une note sur 35 qui est ensuite ramenée sur 15 selon la procédure de la mini-SEA (i.e. $(35/3,5)*1,5$).
- d. La prise de décision est évaluée par le questionnaire de choix financiers à 27 items. Pour chaque item, le participant doit choisir entre obtenir une somme tout de suite ou en obtenir une plus importante que la première dans un délai plus long, ce délai et cette somme variant pour trouver le point d'équilibre personnel de chacun des participants, c'est à dire le point où chacun sera indifférent à choisir l'une ou l'autre des sommes. La proportion (en %) de choix de la récompense différée sera considérée comme score à l'épreuve.
 - e. Pour chaque test neuropsychologique utilisé, la performance des participants sera comparée aux normes de chaque test (performance moyenne de groupes contrôles selon le sexe, l'âge et le niveau éducatif). Nous verrons ainsi combien de participants ont une performance anormale ou normale (en termes de percentile ou d'écart type, selon les normes de chaque test), ce qui permettra de voir si cette proportion évolue entre M0 et M3.
11. Tolérance traitement metformine : évaluée à l'aide de l'échelle de toxicité NCI-CTC-AE v4.0 (gastro-intestinaux (nausées, vomissements, diarrhées), réaction cutanée (érythème, prurit, urticaire), ainsi que l'ensemble des autres EI).

3. Autres critères

Les autres données relevées seront l'âge, le genre, le poids et la variation de poids sur l'année écoulée et lors du suivi, la taille, les traitements médicamenteux habituels, les antécédents neurologiques et neurochirurgicaux, la catégorie socioprofessionnelle, le niveau d'étude.

4. Calendrier de l'étude

	Screening (Avant inclusion)	Inclusion M0	DEBUT PRISE METFORMINE	Suivi sous traitement de l'étude		
				M1	M2	M3** Sortie d'étude
Information et signature du consentement	✓					
Examen clinique, poids, taille, signes vitaux	✓					✓
Test HGPO (75g glucose)	✓					
Test de grossesse (dosage sanguin Beta HCG)	✓					
Bilan sanguin - Fonction rénale (urée, créatinine et calcul du Débit de filtration glomérulaire DFG), - Fonction hépatique (TGO, TGP, GGT, Palc), - Glycémie à jeun, hémoglobine glyquée - Bilan de coagulation (TP, TCA, numération plaquettaire)	✓ BS0					
- Glycémie à jeun, hémoglobine glyquée - Bilan lipidique (Cholestérol total, HDL cholestérol, LDL cholestérol, Triglycérides) - Bilan de coagulation (TP, TCA, numération plaquettaire) - Fonction hépatique (TGO, TGP, GGT, Palc)		✓ BS1				✓ BS2
o LCR : leptinorachie et glycorachie, GLP1, insuline, ghréline et neurohormones AgRP, POMC, NPY, récepteur soluble de la leptine*		✓				✓
o Sérum : leptine, GLP 1, insuline, ghréline, et neurohormones sériques : AgRP, POMC, NPY, récepteur soluble de la leptine*		✓				✓
Mesure de l'observance du traitement (suivi téléphonique) par l'ARC investigateur			✓	✓	✓	
Tolérance au traitement			✓	✓	✓	
Paramètres cliniques : composition corporelle, dépense énergétique, comportement alimentaire, enquête alimentaire, EVA satiété, tests neurocognitifs		✓			✓	
IRM métabolique : Spectroscopie et diffusion		✓			✓	

*Analyses centralisées, voir paragraphe dédié - **à réaliser à l'issue des 3 mois de traitement par Metformine, soit entre 3 et 3,5 mois après le début du traitement

DESCRIPTION DE LA POPULATION CIBLE ET DES CRITERES D'INCLUSION

1. Critères d'inclusion

- Obésité : Indice de masse corporelle IMC > 30
- Homme ou femme d'âge > ou = à 18 et < ou = à 40 ans
- Patient affilié au régime de sécurité sociale
- Patient ayant accepté de participer à l'étude et ayant signé le consentement
- Pour les femmes en âge de procréer : utilisation d'une méthode de contraception efficace pendant la durée de l'étude

2. Critères de non-inclusion

- Obésité syndromique (d'origine génétique)
- Diabète de type 2 (défini par deux glycémies à jeun supérieure à 1,26g/L) ou glycémie > 2g/L à 120min de l'HGPO à 75g de glucose)
- Traitement par metformine déjà en place.
- Diabète de type 1
- Pathologie néoplasique active (dont le diagnostic est de moins de 5 ans, ou en cours de traitement)
- Pathologie neurologique (démyélinisante, tumorale, vasculaire)
- Pathologie du tissu adipeux (lipodystrophie)
- Antécédent de chirurgie bariatrique
- Contre-indication à la metformine :
 - Hypersensibilité à la metformine
 - Insuffisance rénale ou altération de la fonction rénale (clairance de la créatinine < 60 mL/min)
 - Affection aiguës susceptibles d'altérer la fonction rénale (déshydratation, infection sévère, choc)
 - Maladie aiguë ou chronique pouvant entraîner une hypoxie tissulaire, telle que (insuffisance cardiaque ou respiratoire, infarctus du myocarde récent, choc)
 - Insuffisance hépatique, intoxication alcoolique aiguë, alcoolisme
 - Tout type d'acidose métabolique aiguë (telle que l'acidose lactique, l'acidocétose diabétique)
 - Pré-coma diabétique
- Contre-indication à la ponction lombaire :
 - Hypersensibilité à la lidocaïne
 - hypertension intra crânienne
 - sepsis au point de ponction
 - troubles de la coagulation
 - malformation rachidienne
 - Hypovolémie non corrigée
- Contre-indication à l'IRM :
 - claustrophobie, corps métallique intraoculaire, présence de matériel électronique implantable (implant cochléaire, pace maker, défibrillateur implantable, neurostimulateur...), corps étranger non compatible à l'IRM (anciennes valves cardiaques ou anciens clips d'anévrisme cérébraux), poids supérieur à 130 kg ou diamètre corporel supérieur à 60 cm, présence de piercings ou de tatouages
- Personne incapable de consentir, ou bénéficiant d'un régime de protection juridique (tutelle/curatelle/sauvegarde de justice)
- Femme enceinte ou allaitante
- Contre-indication à la calorimétrie indirecte : claustrophobie

- Contre-indication à l'impédancemétrie :
 - o Matériel électronique implantable (implant cochléaire, pace maker, défibrillateur implantable, neurostimulateur...)
- Prise d'un médicament psychotrope

3. Modalités de recrutement

Les patients seront recrutés au sein du Centre Hospitalier d'Arras, parmi la patientèle et le personnel, par voie d'affichage et des réseaux sociaux du centre hospitalier.

4. Modalités de sortie d'étude

a. Arrêt de participation d'une personne à la recherche

La sortie d'étude s'effectuera à la fin du traitement spécifique à l'étude, soit à 3 - 3,5 mois.

Les critères de sortie d'étude sont :

- Toxicité inacceptable
- Décision du/de la patient(e)
- Décision de l'investigateur (à justifier)
- Décès du/de la patient(e)
- Retrait de consentement
- Perdu de vue
- Survenue d'une grossesse

En cas de non-compliance au traitement, une sortie d'étude prématurée sera effectuée si le patient n'a pas pris son traitement à hauteur de 80% de la dose totale prescrite.

Les patients inclus dans ce protocole ne sont pas autorisés à participer à d'autres recherches impliquant la personne humaine pendant la durée de leur suivi, soit 3,5 mois.

b. Modalités de suivi des personnes sorties d'étude

La sortie d'étude d'un patient ne changera en rien sa prise en charge habituelle par rapport à sa maladie. Les données recueillies avant sa sortie d'étude seront utilisées à moins que le patient ne s'y oppose.

Dans la mesure du possible, la date de fin de participation et la(les) raison(s) de sortie d'étude doivent être consignées dans le Cahier d'Observation électronique (eCRF).

En cas d'évènement indésirable, grave ou non, un suivi approprié sera envisagé en fonction de la gravité de l'évènement indésirable et de la sévérité.

c. Arrêt d'une partie ou de la totalité de la recherche

L'étude peut être interrompue prématurément en cas de survenue d'évènements indésirables inattendus, graves, nécessitant une revue du profil d'innocuité des produits de la recherche. De même, des événements imprévus ou de nouvelles informations relatives aux traitements, au vu desquels les objectifs de l'étude ou du programme clinique ne seront vraisemblablement pas atteints, peuvent amener le promoteur à interrompre prématurément l'étude.

En cas d'arrêt prématuré de l'étude, l'information sera transmise par le promoteur dans un délai de 15 jours à l'ANSM et au CPP.

5. Modalités de suivi et de traitement des patients à la fin de la durée de l'étude

Les patients inclus dans ce protocole font partie de la patientèle suivie dans le service de nutrition du CH d'Arras, Centre Spécialisé Obésité (CSO labellisé par la DGOS). **Leur**

participation à la recherche ne modifiera en rien la prise en charge habituelle proposée aux patients consultants pour obésité sévère dans le service. Dans ce cadre les patients peuvent bénéficier de deux types de prise en charge, toutes deux ambulatoires :

- Une prise en charge médicale avec inclusion dans un groupe d'éducation thérapeutique au sein duquel des approches comportementales (thérapie cognitivo comportementale), d'activité physique adaptée et diététiques sont proposées au patient. En cas d'obésité très sévère avec impact fonctionnel, des hospitalisations à temps plein en soins de suite et réadaptation peuvent être effectuées dans des centres partenaires. Il n'y a pas d'approche pharmacologique dans ces prises en charge en dehors des traitements dédiés aux comorbidités liées au poids.
- Une prise en charge chirurgicale par chirurgie bariatrique après une longue période préparatoire active, sous la forme d'un groupe d'éducation thérapeutique et de diverses consultations médico-chirurgicales et paramédicales, après vérification des critères d'accessibilité à ce type de chirurgie et de l'absence de contre-indication.

DESCRIPTION DE L'ETUDE

1. Méthodologie

Recherche interventionnelle de type 1, monocentrique, prospective, à un bras, de type avant/après, évaluant l'impact de la metformine sur le transport de la leptine dans le liquide cébrospinal chez des patients obèses.

2. Calcul du nombre de sujets

Plusieurs articles traitant notamment du ratio de leptine CSF / sérique existent (174, 283, 284). L'article de Nam utilise la leptine dans le plasma, pas la leptine sérique. Nam et al (284) étudie l'évolution de ce ratio après un régime alimentaire de 2 semaines. Rodrigues et al (283) étudie son évolution dans 3 groupes de patients après 2 mois. Les patientes de ces 3 groupes reçoivent des traitements médicamenteux différents et suivent toutes un régime. Ces deux études ont incluses des femmes avec des IMC>30. Caro et al (174) compare 8 patients obèses (IMC>27.3, hommes et femmes) à 23 individus normo-pondéraux. L'article de Schwartz concerne un groupe d'individus normaux et un groupe de patients atteints de la maladie d'Alzheimer.

L'étude de Nam et al ne donne pas l'écart type du ratio. Le papier de Rodrigues donne les moyennes +/- écart-type avant et après, ainsi que le pourcentage de changement +/- ET du ratio. L'étude de Caro donne la moyenne et l'ET.

D'après Rodrigues et al., la moyenne et l'ET du ratio (avant traitement) dans l'ensemble de leurs patientes (n=31, IMC moyen 38.2 +/- 5.2) est 0.0167 +/- 0.0063. D'après Nam, la moyenne dans le groupe obèse (n = 16, IMC moyen 35.6 +/- 5.2) est de 0,013. D'après Caro, la moyenne +/- ET dans le groupe obèse (n=8) est 0.11 +/- 0.002 et dans le groupe normopondéraux (n=23) est 0.047 +/- 0.010.

L'article de Rodrigues est celui dont la population d'obèse est la plus proche de la nôtre, bien que seules des femmes aient été incluses.

En supposant dans la population obèse une moyenne de 0.017 et un écart-type de 0.006 (Rodrigues et al.), en prenant un risque alpha à 5%, il faut 31 patients exploitables pour pouvoir détecter une variation de 30% avec une puissance de 80% avec un test de Student non apparié.

3. Description des produits expérimentaux

La metformine est utilisée ici hors autorisation de mise sur le marché (AMM) sur une population de patients obèses non diabétiques alors que ce traitement est un antidiabétique oral. Cependant, la metformine est parfois utilisée sans diagnostic de diabète chez les patients obèses insulino-résistants ou intolérants aux hydrates de carbones afin d'améliorer l'homéostasie du métabolisme glucidique, la présence d'une stéatose hépatique ou encore dans le cadre du syndrome des ovaires polykystiques liés à l'obésité comme l'attestent de nombreuses études (290-295, 310).

a. Identification du traitement expérimental

Dénomination	Metformine SANDOZ 500 mg	Metformine ARROW LAB 850 mg
Molécule	Chlorhydrate de metformine	
DCI	Metformine	
Présentation	Comprimé pelliculé, blanc, rond à double rayon et portant l'inscription en relief « M 500 » sur une face. Dimension : 11 mm * 6 mm	Comprimé pelliculé blanc, rond (diamètre 12,70 mm) biconvexe, avec pour inscription « A » d'un côté et « 61 » de l'autre côté.
Composition	chlorhydrate de metformine pour un comprimé pelliculé, équivalents à 390 mg de Metformine base <u>Excipients</u> : povidone K90, stéarate de magnésium Pelliculage : hypromellose, macrogol 4000, dioxyde de titane (E171)	Chlorhydrate de metformine pour un comprimé pelliculé, équivalents à 663 mg de metformine base <u>Excipients</u> : Povidone, stéarate de magnésium Pelliculage : hypromellose, macrogol
Dosage /comprimé	500 mg	850 mg
Laboratoire titulaire de l'autorisation de mise sur le marché	SANDOZ 49, AVENUE G POMPIDOU 92593 LEVALLOIS-PERRET Cd	ARROW GENERIQUES 26 AVENUE TONY GARNIER 69007 LYON
Durée de conservation	3 ans	5 ans
Précautions de conservation	Pas de précautions particulières de conservation concernant la température	

b. Conditionnement et étiquetage du traitement

- Le traitement est conditionné de la façon suivante :
- 1 boîte comportant 3 sachets de comprimés de 500 mg, correspondant aux prises croissantes de J1 à J9,
- 3 boîtes comportant des comprimés de 850 mg (soit 1 boîte par mois), correspondant aux prises de J10 à J90 (possibilité de prolonger le traitement jusque J105 en fonction des

disponibilités pour la réalisation des examens de fin d'étude afin de garantir que tous les patients soient sous traitement jusqu'au bilan final)
Les boîtes seront ré-étiquetées spécifiquement pour la recherche conformément à la réglementation des essais cliniques en vigueur. Le circuit et les numéros de lot utilisés pour l'étude seront tracés.

c. Fabrication et distribution du traitement

La PUI du GHICL (promoteur de l'étude) se chargera du ré étiquetage des boîtes de metformine qui resteront conditionnées dans les blisters d'origine du fabricant.

d. Administration

Le traitement débute juste après la réalisation de l'IRM et de la ponction lombaire initiale.

J1 à J3	J4 à J6	J7 à J9	J10 jusqu'à la 2ème ponction lombaire soit entre J90 et J105
500 mg x 1 / J	500 mg x 2/J	500 mg x 3/J	850 mg x 3/J

- La posologie de metformine est croissante afin d'améliorer la tolérance gastro-intestinale, posologie utilisée dans d'autres études utilisant cette molécule chez des patients obèses non diabétiques (291, 295).
- La metformine sera poursuivie jusqu'à la ponction lombaire et ne sera pas reprise ensuite.
- La fonction rénale et le bilan hépatique seront évalués avant la première administration du traitement par metformine afin de s'assurer de l'absence de contre-indication.

e. Adaptation de la posologie

Dans tous les cas la fonction rénale est vérifiée avant la première administration. La metformine peut à ce jour être administrée avec des adaptations posologiques en cas d'insuffisance rénale modérée (clairance entre 30 et 60 ml/min) jusqu'à un débit de filtration glomérulaire DFG de 30 mL/min. Dans notre étude et afin de sécuriser son administration, tout DFG < 60 mL/min sera un critère de non inclusion dans l'étude rendant l'hypothèse d'une adaptation de posologie peu probable.

Toutefois, des mesures pour minimiser les risques ont été établies :

Interrompre temporairement le traitement par metformine au moment

- o de l'administration de produits de contraste iodé ;
- o d'une intervention chirurgicale sous anesthésie générale, rachidienne ou péridurale.

Sensibiliser les patients sur

- o Le respect des posologies prescrites,
- o Les premiers signes de surdosage et d'acidose lactique : vomissements, crampes musculaires, douleurs abdominales, difficultés à respirer, sensation générale de malaise associée à une asthénie, hypothermie et diminution du rythme cardiaque ;
- o L'importance de consulter immédiatement en cas de survenue de ces signes ;
- o Les facteurs de risque de développer une acidose lactique augmentent en cas de diabète mal contrôlé, d'infections graves, de jeûne prolongé ou de consommation d'alcool, de déshydratation, de problèmes au foie et toutes autres affections médicales pour lesquelles

une partie du corps reçoit un apport réduit en oxygène (les maladies cardiaques aiguës sévères, par exemple).

f. Retour et destruction des produits non utilisés

Les produits non utilisés, et à la condition que les recommandations de stockage aient été respectées, sont adressées à la pharmacie hospitalière du centre recruteur qui les ont délivrés.

Suite au passage de l'ARC-Moniteur, le pharmacien responsable du centre recruteur est chargé de la destruction des produits expérimentaux non utilisés conformément aux procédures habituelles du service. La traçabilité de la destruction des produits est faite à l'aide d'un certificat de destruction spécifique à l'étude dont un exemplaire est conservé dans le classeur pharmacie.

4. Traitement autorisés et interdits dans le cadre du protocole

Traitements non autorisés :

- Traitement par metformine avant son introduction dans le protocole.
- Produits de contraste iodé à administration intravasculaire (nécessitant un arrêt 48h avant et une reprise 48h après de la metformine)
- Corticothérapie au long cours (de plus de 7 jours)
- Anti inflammatoire non stéroïdiens, de par le risque d'insuffisance rénale, y compris les COX (inhibiteur de la cyclo oxygénase)
- Eviter la prise d'alcool et boissons alcoolisées
- Anticoagulants quelle que soit le mécanisme d'action.
- Antithrombotiques
- TCO (transporteurs de cations organiques) : Les patients bénéficiant de traitement par TCO ne seront pas inclus (traitement non autorisé dans le cadre du protocole):
 - o Inducteurs de la TC01 (rifampicine)
 - o Inhibiteurs de TC02 (cimétidine, dolutégravir, ranolazine, triméthoprim, vandétanib, isavuconazole)
 - o Inhibiteurs du TC01 et TC02 (crizotinib, olaparib)

Traitements autorisés :

Pour les diurétiques en particulier les diurétiques de l'anse, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion IEC, les antagonistes du récepteur de l'angiotensine II : nécessité de surveillance de la fonction rénale après l'introduction à 1 et 2 mois.

5. Schéma général de l'étude

a. Inclusion

Le screening des patients se fera au cours d'une visite de consultation de nutrition dans le centre hospitalier d'Arras.

L'investigateur proposera aux patients qui remplissent les critères d'inclusion et de non inclusion de participer à l'étude. Une information claire et appropriée sera donnée aux patients sur la tenue de cette étude.

Le patient sera informé des objectifs de l'étude, des bénéfices et des contraintes éventuelles et de sa liberté de ne pas participer à cette étude sans modification de sa prise en charge ni

de sa relation avec son médecin. Une lettre d'information leur sera remise. L'investigateur avertira toutes les patientes de ne pas débuter de grossesse au cours de l'étude. Après leur avoir laissé un temps de réflexion et s'ils acceptent, les patients signeront un formulaire de consentement libre et éclairé.

Afin d'écartier tout risque de grossesse, un dosage de Beta HCG sanguin sera réalisé chez les femmes.

Dans le cadre du bilan métabolique d'entrée dont bénéficient systématiquement tous les patients en pratique courante et avant d'être définitivement inclus, les patients auront déjà réalisé un bilan de screening qui comprend :

- un bilan sanguin (BS 0, 3 tubes de 5 mL) afin de vérifier notamment l'absence de contre-indication à la metformine. Lors de ce bilan sanguin, la fonction rénale, un bilan hépatique et de coagulation seront réalisés.
- un examen de dépistage du diabète pour tous les patients (10 tubes maximum): il s'agit d'un test HGPO (Hyperglycémie provoquée par voie orale). Il sera demandé aux patients d'ingérer une solution sucrée contenant 75 g de glucose. Ils bénéficient ensuite d'un bilan sanguin à T0 min, T30min, T60min, T90 min, et T120min).

En cas de diagnostic de diabète, , ou de contre-indication à la metformine ou à la ponction lombaire, le patient ne sera pas inclus dans l'étude (screen failure). En l'absence de contre-indication, les patients seront inclus par le médecin investigateur.

Un numéro d'inclusion sera attribué à chaque patient et ses données seront recueillies dans le cahier d'observation lors de ses prochaines consultations.

b. Suivi

De manière spécifique à l'étude, le patient sera convoqué à 2 reprises :

MO :

- examen clinique : avec recueil des mesures anthropométriques,
- bilan sanguin 1 (BS 1 avec 6 tubes de 5mL) afin de doser la leptinémie, insulïnémie, glycémie, HbA1c et GLP1, Agrp, POMC, récepteur soluble de la leptine le NPY et ghrélinémie (cf. paragraphe « 6. Collections biologiques ») ainsi qu'une vérification du bilan de coagulation le jour de la ponction lombaire (TP, TCA, numération plaquettaire), d'une impédancemétrie, d'une calorimétrie indirecte, d'une enquête alimentaire et pour la complétion des questionnaires.
- Les patients passeront des tests neurocognitifs en présence d'un psychologue. Il s'agit de questionnaires visant à évaluer la mémoire verbale (RLRI A ou B), la mémoire exécutive (STROOP, TMT, Fluence verbale, MOCA, mini SEA, empanns mnésiques de la WAIS), et la prise de décision évaluée avec le questionnaire de choix financiers).
- au préalable, une IRM cérébrale sans injection (IRM 1) métabolique associant une séquence anatomique 3DT1, de diffusion et une séquence de spectroscopie, sera réalisée sur le CHU de Lille dans le service de neuroradiologie du Pr Leclerc. Cette IRM permettra également de s'assurer de l'absence de processus expansif intracrânien avec hypertension intracrânienne contre indiquant la ponction lombaire.
- Une première ponction lombaire (PL 1) sera réalisée au cours d'un hôpital de jour par un praticien entraîné à la pratique de ce type de prélèvement, après une anesthésie topique par patch de lidocaïne type EMLA, ainsi qu'une anesthésie du trajet de ponction par lidocaïne injectable. Une aiguille atraumatique ou biseautée fine (noire)

et son introduction avec inclinaison vers le haut permettra de limiter le risque du syndrome post-PL. Le volume de LCR prélevé sera de 5mL. La ponction lombaire sera suivie d'une surveillance médicale, de consignes d'hydratation, d'une période d'alitement de quelques heures en fonction de la symptomatologie du patient.

- A titre systématique et en prévention d'un éventuel syndrome post ponction lombaire et afin de suivre les procédures internes et habituelles du service, une perfusion de caféine 200mg (4 ampoules) dans 250mL de serum glucosé isotonique sera débuté 15 minutes avant la ponction lombaire à 200mL/h pendant 15 minutes puis à 100mL/h jusqu'à la fin de perfusion.
- En cas de survenue de syndrome post PL avéré à l'issue de la période de surveillance de l'hôpital de jour de 10 heures, une réadmission sera envisagée pour mise en place d'une caféinothérapie, correspondant à l'administration de caféine intra-veineuse (20 ampoules de caféine 50mg dans 500 mL de glucosé 5% sur 6 heures) associé à une hyperhydratation intraveineuse (2000mL de serum physiologique sur 24h) et per os (2 à 3 litres sur 24h).
- Les patients débiteront ensuite leur traitement par metformine.

Un suivi téléphonique

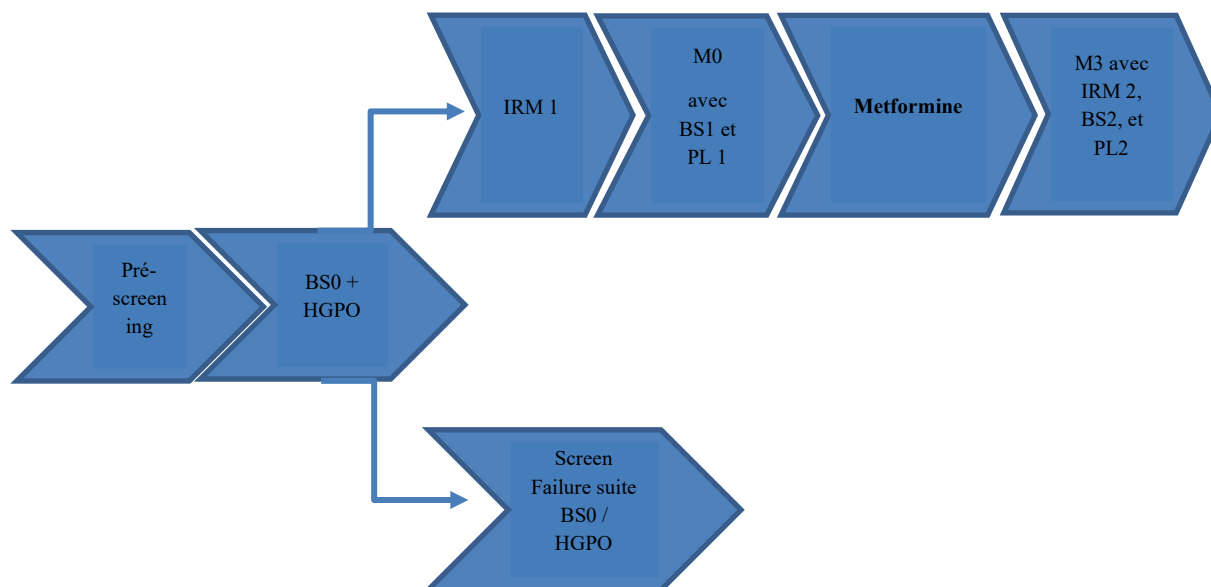
Un suivi téléphonique à 1 mois et 2 mois sera effectué afin de s'assurer de la bonne tolérance et de l'observance du traitement (questionnaire de Morisky (41) (cf. Annexe 1)).

M3 :

- Les patients bénéficieront d'une seconde IRM cérébrale sans injection (IRM2) métabolique associant une séquence de diffusion et une séquence de spectroscopie (sans séquence anatomique et médullaire) dans le service de neuroradiologie du CHU de Lille du Pr Leclerc.
- examen clinique avec recueil des mesures anthropométriques
- bilan sanguin 2 (BS 2 avec 6 tubes de 5mL) afin de doser la leptinémie, insulinémie, glycémie, HbA1c et GLP1, Agrp, POMC, le NPY, récepteur soluble de la leptine, et ghrélinémie (cf. paragraphe « 6. Collections biologiques »), d'une impédancemétrie, d'une calorimétrie indirecte, d'une enquête alimentaire et pour la complétion des questionnaires.
- Les patients passeront des tests neurocognitifs en présence d'un psychologue. Il s'agit de questionnaires visant à évaluer la mémoire verbale (RLRI A ou B), la mémoire exécutive (STROOP, TMT, Fluence verbale, MOCA, mini SEA, empan mnésiques de la WAIS), et la prise de décision (questionnaires de choix financiers). Le renouvellement de ces tests à M3 a pour but de comparer l'efficacité cognitive des patients après la mise en place du traitement par metformine (ce traitement améliorant cette efficacité d'après plusieurs données récentes de la littérature citées en préambule). L'effet « test retest » (effet d'entraînement) est minimisé par l'utilisation de tests peu sensibles à cet effet ou à l'utilisation de tables différentes pour le même test (RLRI A et B par exemple).
- Une seconde ponction lombaire sera réalisée (PL 2) au cours d'un hôpital de jour par un praticien entraîné à la pratique de ce type de prélèvement, après une anesthésie topique

par patch de lidocaïne type EMLA, ainsi qu'une anesthésie du trajet de ponction par lidocaïne injectable. Une aiguille atraumatique ou biseautée fine (noire) et son introduction avec inclinaison vers le haut permettra de limiter le risque du syndrome post-PL. Le volume de LCR prélevé sera de 5mL. La ponction lombaire sera suivie d'une surveillance médicale, de consignes d'hydratation, d'une période d'alitement de quelques heures en fonction de la symptomatologie du patient.

- les patients pourront dès lors arrêter leur traitement par metformine. Il sera demandé aux patients de rendre à l'investigateur leurs boîtes et blisters de metformine fournies dans le cadre de l'étude afin d'évaluer l'observance du traitement.



6. Collections biologiques – LCS et échantillons sanguins

a) Collecte, étiquetage et stockage des échantillons

○ COLLECTE :

- LCS :

- 2 recueils à M0 et M3 de 5 mL maximum dans un tube polypropylène
- puis centrifugé à 1200g pendant 10 minutes à 20 degrés et stocké dans des protein LoBind Tube 1,5 mL Eppendorf, cat N°022431064
- puis étiqueté et congelé à -80°C jusqu'à analyse.

- Echantillons sanguins :

- 2 recueils à M0 et M3 de 6 tubes de 5 mL (1 tube sec, 2 tubes EDTA, 1 tube fluoré, 2 tubes polypropylène)
- Pour les analyses spécialisées (leptine et autres neurohormones), les tubes seront centrifugés 10 minutes à 20°C à 1200g, puis congelés à -80°C , stockés avant d'être transportés puis analysés sur le site de l'INSERM U 1172, centre de recherche Jean Pierre Aubert).

○ ETIQUETAGE :

L'étiquette d'identification est complétée et collée sur les tubes anonymisés.

○ STOCKAGE :

Placer ensuite sans délai les tubes dans le congélateur à -80°C dans une boîte réservée au protocole ou selon les règles établies si le Laboratoire a déjà une sérothèque.

La fiche de traçabilité sérothèque doit être impérativement remplie pour chaque prélèvement. Les prélèvements seront conservés dans chaque centre. Au moment des investigations biologiques (*tous les 6 mois*), les échantillons seront acheminés, centralisés et analysés au centre de recherche Jean Pierre Aubert (INSERM U 1172 Lille).

b) Acheminement des échantillons

Les envois pris en charge par le promoteur seront effectués par transporteur, après contact auprès du promoteur :

Délégation à la Recherche Clinique et à l'Innovation
Groupement des Hôpitaux de l'Institut Catholique de Lille
Rue du Grand But – BP 249, 59462 Lomme Cedex

Tél. : 03.20.22.57.33

Fax : 03.20.22.57.67

Les prélèvements seront acheminés congelés par un envoi groupé dans de la carboglace au **Docteur Vincent PREVOT - Laboratoire INSERM U1172**

L'envoi des tubes sera accompagné des fiches de stockage et de déstockage des prélèvements. Le promoteur préparera *tous les 6 mois* une liste de tous les échantillons qui seront acheminés vers le laboratoire.

Le promoteur informera le responsable du laboratoire d'analyse du transfert des prélèvements sanguins dans les 2 à 3 jours qui précèdent leur expédition.

c) Analyse des échantillons

Dans le LCS, seront dosés spécifiquement pour l'étude via *un protein multiplex panel of solid-phase proximity ligation assays (SP-PLA)* la leptine, l'insuline, la glycorachie, la ghréline et le GLP1, l'Agrp, la POMC, le NPY et le récepteur soluble de la leptine. En parallèle un bilan sanguin de leptinémie, insulinémie, glycémie HbA1c et GLP1, Agrp, POMC, le NPY et ghrélinémie, récepteur soluble de la leptine, bilan lipidique sera effectué pour les besoins de l'étude.

7. Définition de la période d'exclusion

Non applicable

8. Méthode et stratégie d'analyse

Analyse descriptive des caractéristiques de la population

Nous réaliserons tout d'abord une analyse descriptive des données : les moyennes et écart-types seront calculés pour les données quantitatives, les médianes et intervalles interquartiles pour les données discrètes, les effectifs et fréquences pour les variables qualitatives.

Objectif principal

Le ratio de leptine avant et après traitement sera comparé à l'aide d'un test de Student apparié, ou, en l'absence de normalité, un test de Wilcoxon apparié. La différence moyenne ainsi que son intervalle de confiance à 95% seront calculés.

Comme il est possible que la perte de poids impacte l'évolution du ratio, un modèle linéaire sera utilisé pour ajuster les résultats sur la variation de poids. Pour cela, le ratio de leptine à

M3 sera inclus en variable dépendante, et le ratio à M0 et la variation de poids à M3 seront inclus en variables explicatives. Cette analyse permettra de renforcer l'hypothèse que la diminution du ratio de leptine est due directement à la Metformine, et non pas une conséquence indirecte liée à la perte de poids.

Objectifs secondaires

L'ensemble des critères secondaires (à l'exception de la tolérance et des proportions de scores anormaux lors des tests neuropsychologiques) étant des critères quantitatifs ou ordinaux mesurés à M0 et M3, ils seront tous analysés selon le plan suivant : la mesure avant et après traitement sera comparée à l'aide d'un test de Student apparié, ou, en l'absence de normalité et pour les critères ordinaux, un test de Wilcoxon apparié. La différence moyenne ainsi que son intervalle de confiance à 95% seront calculés.

Les tests neuropsychologiques seront étudiés dans un premier temps en utilisant le score brut. Dans un deuxième temps, les performances des patients seront comparées aux normes selon la procédure de chaque test. L'évolution de la proportion de patients ayant des résultats anormaux sera étudiée à l'aide du test de McNemar.

Une analyse descriptive de la tolérance au traitement sera réalisée. Le nombre et le type de réactions seront décrits.

Gestion des valeurs manquantes

Toutes les mesures doivent être prises par l'investigateur pour fournir des données complètes. Les analyses décrites ci-dessus ne peuvent se faire que sur données complètes.

Analyse intermédiaire

Une analyse intermédiaire sera réalisée en suivant le plan d'analyse ci-dessus lorsque la moitié des patients seront inclus. Afin de ne pas impacter le risque global et ne pas augmenter le nombre de patients nécessaire, un seuil de significativité de 0.1% sera utilisé dans cette analyse.

Divers

Ces analyses seront réalisées en incluant tous les patients ayant reçu 80% de leur traitement, à l'exception de la tolérance qui sera analysée sur l'ensemble des patients. Des analyses complémentaires ad hoc pourront être réalisées si nécessaire.

Nous considérerons un seuil de significativité de 5% pour toutes les analyses finales et un seuil de 0.1% pour les analyses intermédiaires.

Le logiciel utilisé pour réaliser ces analyses sera R (version 3.4.2 ou supérieure).

L'analyse statistique sera réalisée par la cellule de biostatistiques de la Délégation à la Recherche Clinique et à l'Innovation du GHICL.

9. Durée de l'étude

- Durée de la période d'inclusion : 24 mois
- Durée de participation de chaque patient : 3,5 mois
- Durée totale prévisionnelle de la recherche (durée d'inclusion, durée de participation des patients): 27,5 mois

10. Bénéfices et contraintes attendus pour le patient participant à la recherche

a. Bénéfices

Il est attendu une perte de poids chez les patients traités par metformine. Le traitement de l'insulinorésistance fréquente dans l'obésité permet également à moindre mesure d'améliorer le bilan lipidique des patients et leur homéostasie glucidique même chez les non diabétiques. L'évaluation diététique, de composition corporelle, de comportement alimentaire et le bilan sanguin lipidique pourra éventuellement déboucher sur une prise en charge de facteurs de risque qui auraient été dépistés au cours de ces explorations. Le patient étant recruté au sein du service de nutrition, sa prise en charge habituelle se poursuivra en parallèle.

Les tests neurocognitifs permettront éventuellement un dépistage de pathologies cognitives, troubles du développement, ou de troubles de l'attention pouvant acter une indication de consultation mémoire avec prise en charge adaptée. De même, les tests d'impulsivité pourront aiguiller la prise en charge psychothérapeutique d'un éventuel trouble du comportement alimentaire.

b. Contraintes

- Désagrément lié au jeûne imposé avant le bilan biologique et par la prise de sang en elle-même. 2 prises de sang spécifiques à l'étude sont prévues.
- Désagrément lié à la réalisation d'une ponction lombaire (à deux reprises) après une anesthésie topique puis une seconde anesthésie locale afin de limiter la sensation douloureuse du geste. Désagrément lié à l'alitement conseillé de quelques heures dans les suites de la ponction afin de limiter le risque de survenue de syndrome post PL.
- Observance pluriquotidienne d'un traitement par metformine avec potentiellement des désagréments digestifs. Ces désagréments seront minimisés par l'instauration progressive du traitement et les consignes d'observance du traitement au cours du repas.
- Désagréments liés à la réalisation d'une IRM cérébrale et au jeûne imposé : rester allonger 30 minutes sans se mobiliser, le bruit. Ceci est effectué à 2 reprises.
- Désagréments liés aux déplacements vers l'hôpital
- Impédancemétrie : désagrément occasionné par le fait de se déchausser et de rester debout pendant 20 secondes le temps de la mesure, à deux reprises.
- Désagréments liés à la calorimétrie : nécessité de rester assis 20 minutes et de respirer dans un masque. Examen réalisé à 2 reprises.
- Désagréments liés à la réalisation des tests neuropsychologiques durant 30 minutes par évaluation et réalisés à deux reprises (M0 et M3). Comparé à une consultation neuropsychologique conventionnelle des consultations mémoire, nous utilisons ici des tests courts limitant fortement l'effort cognitif des patients liés à la réalisation de tests. Le choix et l'enchaînement des tests a été validé par un expert, PhD en neuropsychologie (Dr Maxime Bertoux) attaché à l'INSERM.

c. Effets indésirables généraux

- Troubles digestifs fréquents, surtout en début de traitement par metformine: nausées, vomissements, diarrhée, douleur abdominale, goût métallique dans la bouche, perte de poids. Ces effets sont limités voir annihilés grâce à l'administration à posologie progressive du traitement et à son administration au cours du repas.
- Acidose lactique favorisée par l'accumulation de la metformine mais elle est exceptionnelle si l'on respecte les contre-indications et les règles de bonne prescription de ce médicament. Les facteurs de risque sont une déshydratation, une insuffisance rénale ou une affection aiguë intercurrente susceptible d'altérer la fonction rénale, une insuffisance cardiaque ou respiratoire, un infarctus du myocarde récent, une insuffisance hépatique, une alcoolisation intense aiguë, une intervention chirurgicale. Les insuffisances rénales et hépatiques initiales seront écartées par le BS 0 avant l'inclusion définitive.

d. Effets indésirables liés à la ponction lombaire

- Le syndrome post-PL est l'effet secondaire le plus fréquent après PL et caractérisé par l'apparition d'une céphalée orthostatique soulagée par le décubitus. L'intensité est le plus souvent léger à modéré, dont la durée moyenne s'étale de 1 à 8 jours. Celui-ci peut s'accompagner dans de rares cas de douleurs lombaires, sensations vertigineuses, photophonophobie. La symptomatologie semble plus intense en cas de BMI bas (311) ce qui est l'inverse de notre population. De rares cas d'inconfort lombaire peuvent survenir en cas d'utilisation d'aiguilles de gros diamètre ce qui ne sera pas le cas dans notre étude. Des effets secondaires très rares sont décrits dans la littérature (15 cas d'hématome sous dural intracrânien dans le monde avec facteur de risque (troubles de coagulation ou traitement anticoagulant, 3 cas exceptionnels de méningites chez des patients immunodéprimés). Moins d'un cas d'hématome médullaire sur 220.000 rachianesthésies (technique identique à la ponction lombaire) ont été observé rendant cette complication très rare (312). Au total la PL est un geste pratiqué quotidiennement dont les effets secondaires graves semblent rarissimes dans les « grandes » cohortes. Des infections sur le site d'injection sont également de complications rares, le *Staphylococcus aureus* en étant le germe le plus fréquemment impliqué.

e. Indemnisation

Au vu des contraintes liées à l'étude, les patients seront indemnisés à hauteur de 380 euros.

Les patients qui ne seraient pas autorisés à poursuivre leur participation à l'étude suite aux résultats du premier bilan sanguin de l'étude (BS1), réalisé à M0 avant la première ponction lombaire, percevront une indemnité de 50 euros.

Retombées attendues

Nous espérons pouvoir mettre en évidence que le traitement par metformine influence le phénomène de résistance à la leptine. Ainsi le ratio leptine dans le LCS / leptine sérique pourrait se modifier après les trois mois de traitement. Par ailleurs nous pensons pouvoir observer le même phénomène pour d'autres hormones impliquées dans l'axe intestin cerveau et régulant la prise alimentaire : l'insuline, la ghréline, le GLP1, ainsi que sur le plan des neurotransmetteurs (NPY, Agrp, POMC).

En parallèle des modifications biologiques et neurobiologiques, nous espérons pouvoir montrer des modifications ultrastructurelles hypothalamiques et neurobiochimique grâce à l'IRM métabolique au cours du traitement par metformine, et entre les groupes, ainsi que des évolutions de la composition corporelle et de la dépense énergétique.

La mise en évidence de ces modifications neurohormonales, pourrait permettre une meilleure compréhension du mécanisme de leptinorésistance du sujet obèse et éventuellement la mise au point de nouvelles cibles thérapeutiques dans le traitement de l'obésité.

VIGILANCE

Définitions

Évènement indésirable : toute manifestation nocive survenant chez une personne qui se prête à une recherche impliquant la personne humaine que cette manifestation soit liée ou non à la recherche ou au produit sur lequel porte cette recherche.

Effet indésirable d'un médicament expérimental : toute réaction nocive et non désirée à un médicament expérimental quelle que soit la dose administrée.

Évènement (ou/effet) indésirable grave (EIG) : tout évènement (ou effet) indésirable qui :

- entraîne la mort,
- met en jeu le pronostic vital de la personne qui se prête à la recherche,
- nécessite une hospitalisation ou la prolongation d'une l'hospitalisation,
- provoque une incapacité ou un handicap important ou durable,
- se traduit par une anomalie ou une malformation congénitale
- ainsi que tout évènement (ou effet) considéré comme médicalement significatif (c'est à dire ayant des conséquences cliniques importantes mais ne correspondant pas à l'un des autres critères de gravité).

et s'agissant du médicament, quelle que soit la dose administrée.

Effet indésirable inattendu d'un médicament expérimental : tout effet indésirable du produit dont la nature, la sévérité, la fréquence ou l'évolution ne concorde pas avec les informations de référence sur la sécurité mentionnées dans le résumé des caractéristiques du produit ou dans la brochure pour l'investigateur lorsque le produit n'est pas autorisé.

Lien de causalité : relation entre l'évènement indésirable et l'étude. Les facteurs à prendre en compte pour la détermination de l'imputabilité sont : les critères chronologiques (Délai de survenue de l'effet indésirable, Evolution de l'effet indésirable à l'arrêt du traitement, la

réapparition à la reprise), Critères sémiologiques (mécanisme d'action ou explication pharmacodynamique, facteurs favorisants ou antécédents similaires, diagnostics différentiels possibles, examens complémentaires prouvant la cause).

- *non lié* : l'évènement est clairement lié à d'autres causes comme l'état clinique du patient ou un traitement concomitant
- *possiblement lié* : évènement clinique ou biologique avec une relation chronologique et sémiologique compatible

Intensité : l'intensité des événements est évaluée par l'investigateur selon la classification suivante : léger (grade 1) : généralement transitoire et sans retentissement sur les activités normales, modéré (grade 2) : suffisamment gênant pour retentir sur les activités normales, sévère (grade 3) : modifiant considérablement le cours normal des activités du patient, ou invalidant, ou constituant une menace pour la vie du patient (grade 4) : Mise en jeu du pronostic vital ; nécessitant une prise en charge en urgence (grade 5) : décès.

Fait nouveau : Toute nouvelle donnée pouvant conduire à une réévaluation du rapport des bénéfices et des risques de la recherche ou du produit objet de la recherche, à des modifications dans l'utilisation de ce produit, dans la conduite de la recherche, ou des documents relatifs à la recherche, ou à suspendre ou interrompre ou modifier le protocole de la recherche ou des recherches similaires. Pour les essais portant sur la première administration ou utilisation d'un produit de santé chez des personnes qui ne présentent aucune affection : tout effet indésirable grave.

Responsabilité de l'investigateur

L'investigateur reporte les événements indésirables dans le cahier d'observation.

L'investigateur évalue chaque événement indésirable au regard de sa gravité. Il évalue également le lien de causalité de chaque événement indésirable avec chaque médicament et chaque acte ajouté par la recherche.

L'investigateur notifie sans délai au promoteur dès qu'il en a connaissance les événements indésirables graves, les effets indésirables et les incidents graves sauf ceux listés ci-dessous comme ne nécessitant pas de notification immédiate, à l'aide du « formulaire de notification d'EIG » adressé à la Fondation Adolphe de Rothschild (Paris), dûment mandaté par le promoteur pour assurer la vigilance de l'essai clinique :

Dr Sophie Houdas, responsable des vigilances des essais cliniques

Fax : 01 48 03 64 30 - Email : shoudas@for.paris

Pour chaque événement indésirable grave, l'investigateur devra émettre un avis sur le lien de causalité de l'évènement avec chaque médicament et chaque acte ajouté par la recherche.

L'évolution clinique ainsi que les résultats des éventuels bilans cliniques et des examens diagnostiques et/ou de laboratoire, ou toute autre information permettant une analyse adéquate du lien de causalité de l'EIG sont à préciser :

- soit sur la notification initiale d'EIG s'ils sont immédiatement disponibles,
- soit ultérieurement et le plus rapidement possible, sur un nouveau « formulaire de notification d'EIG » de suivi (le 1er suivi à adresser dans les 8 jours après la notification initiale).

Toutes les notifications faites par les investigateurs devront identifier chaque patient participant à la recherche par l'identifiant patient attribué à chacun d'entre eux.

L'investigateur communiquera au promoteur tous les renseignements complémentaires demandés (compte-rendu d'examens complémentaires, compte-rendu d'hospitalisation, résultats d'autopsie, etc.).

Les EIG qui ne nécessitent pas d'être notifiés immédiatement au promoteur sont :

- hospitalisation pour traitement médical ou chirurgical programmé avant la recherche
- hospitalisation ou prolongation pour raisons administratives ou sociales (par exemple, en attendant une place dans un autre établissement, pour cause d'aidants indisponibles, ...)
- pathologie (ou anomalie biologique) préexistante ou détectée avant la première procédure de la recherche et qui ne s'aggrave pas
- passage aux urgences pour une raison médicale non grave
- admission pour une durée inférieure à 24 heures pour l'administration programmée d'un traitement ou pour la réalisation programmée d'examens avant la recherche

Tout EIG doit être notifié au promoteur :

- à partir de la date de signature du consentement
- jusqu'à la fin de suivi du sujet,
- mais également sans limitation de temps, lorsque l'EIG est susceptible d'être dû au médicament ou acte ajouté par de la recherche.

Responsabilité du promoteur

Pour chaque évènement indésirable grave, le promoteur évalue la gravité et lien de causalité de l'évènement indésirable avec la recherche, ainsi que le caractère inattendu en cas d'effet indésirable.

Le document pour évaluer le caractère attendu/inattendu d'un effet indésirable est le résumé des caractéristiques du produit (RCP) de la metformine correspondant à la spécialité utilisée.

Le promoteur déclare à l'ANSM et à l'EMA, toute suspicion d'effet indésirable grave inattendu (SUSAR : suspected unexpected adverse drug reaction) :

- En cas de décès ou de mise en jeu du pronostic vital : sans délai à compter du jour où il en a connaissance
- Dans les autres cas ; au plus tard dans un délai de 15 jours à compter du jour où il en a connaissance

Le promoteur transmet des informations complémentaires dans un délai de 8 jours à compter du délai de notification précédent.

Le promoteur informera les investigateurs de l'étude concernant les effets indésirables graves qui pourraient avoir un impact défavorable sur la sécurité des personnes qui se prêtent à la recherche.

Fait nouveau et mesures urgentes de sécurité

Le promoteur a la responsabilité de déclarer à l'ANSM et au CPP, tout fait nouveau sans délai à compter du jour où il en a connaissance.

Lorsqu'un effet indésirable grave inattendu ou un fait nouveau intéressant la recherche ou le produit faisant l'objet de la recherche sont susceptibles de porter atteinte à la sécurité des personnes qui s'y prêtent, le promoteur et l'investigateur principal prennent les mesures de sécurité urgentes appropriées. En cas :

- D'arrêt de la recherche : le promoteur déclare la fin de la recherche dans un délai de 15 jours à l'ANSM et au CPP
- De modification substantielle : le promoteur dépose une demande de modification substantielle dans un délai de quinze jours suivant l'introduction des mesures urgentes de sécurité à l'ANSM et au CPP

Rapport annuel de sécurité

Une fois par an pendant toute la durée de l'essai, ou sur demande, le promoteur transmet à l'ANSM et au CPP un rapport de sécurité. Ce rapport de sécurité comprendra notamment une analyse globale du profil de sécurité du protocole de l'étude prenant en compte toutes les nouvelles données pertinentes de sécurité. Les informations de sécurité apparaîtront sous forme de tableaux de synthèse résumant les événements ou effets indésirables graves survenus au cours de la recherche.

Ce rapport est envoyé à l'ANSM et au CPP dans un délai de 60 jours suivant la date anniversaire de l'autorisation par l'ANSM de l'essai clinique.

Comité de surveillance indépendant

Dans le cadre de cette recherche interventionnelle impliquant la personne humaine, il n'est pas jugé utile de constituer un comité de surveillance indépendant car le profil général de tolérance de la metformine est connu.

DROITS D'ACCES AUX DONNEES ET DOCUMENTS SOURCE

Accès aux données

L'acceptation de la participation au protocole implique que les investigateurs mettent à disposition les documents et données individuelles strictement nécessaires au suivi, au contrôle de qualité et à l'audit de la recherche, à la disposition des personnes ayant un accès à ces documents conformément aux dispositions législatives et réglementaires en vigueur.

Données source

Ensemble des informations figurant dans des documents originaux, ou dans des copies authentifiées de ces documents, relatif aux examens cliniques, aux observations ou à d'autres activités menées dans le cadre d'une recherche et nécessaires à la reconstitution et à l'évaluation de la recherche. Les documents dans lesquels les données sources sont enregistrées sont appelés les documents sources.

Dans le cadre de cet essai, les documents sources comportent les dossiers médicaux des patients, les comptes rendus d'IRM, les fichiers d'images d'IRM, les résultats des analyses biologiques, les tests neuropsychologiques, les calendriers de visites des patients, les questionnaires de comportement alimentaire, les EVA satiété, les enquêtes alimentaires avec apports caloriques sur les 24 dernières heures, les données d'observance et de tolérance du traitement.

Confidentialité des données

Toutes les données et informations concernant le participant resteront strictement confidentielles. Les personnes ayant un accès direct conformément aux dispositions législatives et réglementaires en vigueur (par exemple, les investigateurs, les assistants de recherche clinique, les auditeurs et toutes personnes appelées à collaborer à la recherche) prennent toutes les précautions nécessaires en vue d'assurer la confidentialité des informations relatives aux produits à l'étude, à la recherche ou aux procédures de celle-ci, aux personnes qui s'y prêtent et notamment en ce qui concerne leur identité ainsi qu'aux résultats obtenus.

Pendant la recherche ou à son issue, les données recueillies sur les personnes qui s'y prêtent et transmises au promoteur par les investigateurs (ou tous autres intervenants spécialisés) seront rendues anonymes. Elles ne doivent en aucun cas faire apparaître en clair les noms des personnes concernées ni leur adresse.

Seule la première lettre du nom et du prénom du sujet seront enregistrées, accompagnées d'un numéro codé propre à la recherche indiquant l'ordre d'inclusion des sujets).

CONTROLE ET ASSURANCE QUALITE

Consignes pour le recueil des données

Toutes les informations requises par le protocole seront reportées sur les cahiers d'observation prévus pour l'étude, selon les bonnes pratiques cliniques. Les données seront recueillies au fur et à mesure qu'elles sont obtenues.

Tout écart au protocole sera notifié ainsi que sa raison. Le recueil des données devra être exhaustif et sera vérifié lors du monitoring par un Attaché de Recherche Clinique (ARC) selon les procédures définies dans le protocole ou sur le plan de monitoring.

Contrôle qualité

Une démarche d'Assurance Qualité sera mise en œuvre par le Département de Recherche Médicale du GHICL afin d'assurer une prise en charge des participants se prêtant à la recherche dans les meilleures conditions de sécurité et conformément au protocole de la recherche.

Conformément au plan de monitoring, l'ARC mandaté par la Délégation à la Recherche Clinique et à l'Innovation vérifiera l'adhésion au protocole, le recueil du consentement, la conformité des données saisies, et le respect des exigences réglementaires en vigueur.

Ce protocole de recherche a été classé avec le niveau de risque : C niveau de monitoring intermédiaire.

L'ARC mandaté procédera également à une visite de clôture de chaque centre après la fin de la recherche.

Data-management

CRF électronique :

Le cahier d'observation électronique ne doit comporter que les données nécessaires à l'analyse en vue de publication. Les autres données relatives au patient et nécessaires à son suivi en dehors de l'étude, seront colligées dans son dossier médical.

Toutes les informations requises par le protocole devront être consignées sur la base de données CleanWEB. Cette base de données sera hébergée par Telemedicine sur un serveur agréé Hébergement de Données de Santé dédié à l'usage exclusif du GHICL. La gestion des droits d'accès CleanWeb est assurée par un data manager du GHICL.

L'utilisateur communiquera avec le serveur via une connexion internet sécurisée utilisant les protocoles sécurisés de l'internet (HTTPS avec cryptage SSL). L'identification se fera par login/mot de passe sécurisés envoyés par mails sécurisés en 2 temps. Le mot de passe contiendra 8 caractères au minimum incluant au moins une minuscule, une majuscule, un chiffre et un symbole. La session se déconnecte automatiquement au bout de 15 minutes d'inactivité. Toutes les connexions et tentatives de connexion seront tracées.

Les données devront être recueillies au fur et à mesure qu'elles sont obtenues, et enregistrées sur CleanWeb de façon explicite. Chaque donnée manquante devra être codée. Ce cahier d'observation électronique sera mis en place grâce à un support Internet de recueil des données. Un document d'aide pour l'utilisation de cet outil sera fourni aux investigateurs.

Le remplissage du cahier d'observation via internet par l'investigateur permet ainsi à l'ARC de visualiser rapidement et à distance les données. L'investigateur principal est responsable de l'exactitude, de la qualité et de la pertinence de toutes les données saisies. De plus, lors de leurs saisies, ces données sont immédiatement vérifiées grâce à des contrôles de cohérence. A ce titre, il doit valider toute modification de valeur dans le CRF. Ces modifications font l'objet d'un audit trail. Une justification peut éventuellement être intégrée en commentaire. Une impression papier sera demandée en fin d'étude, authentifiée (datée et signée) par l'investigateur. Une copie du document authentifié à destination du promoteur devra être archivée par l'investigateur.

ASPECTS ETHIQUES ET REGLEMENTAIRES

Aspects éthiques

La recherche est conduite conformément au présent protocole. Les investigateurs s'engagent à respecter le protocole en tout point en particulier en ce qui concerne le recueil du consentement et la notification et le suivi des événements indésirables graves. Chaque investigateur s'engage à mener la recherche selon les B.P.C. et selon la déclaration d'Helsinki en vigueur.

Le promoteur et chaque investigateur s'engagent à respecter les obligations de la loi en matière de recherche interventionnelle impliquant la personne humaine.

Responsabilités

Promoteur

Le promoteur est le Groupement des Hôpitaux de l'Institut Catholique de Lille (GHICL). Il appartient au promoteur de conduire la recherche conformément à la réglementation en vigueur et en respect des bonnes pratiques cliniques. Il vérifie que son financement est prévu.

De surcroît, il lui appartient de :

- Confier la réalisation de la recherche à du personnel compétent
- Souscrire une assurance spécifique pour les besoins de la recherche auprès d'un organisme agréé
- De veiller à l'obtention des autorisations de la recherche auprès des instances réglementaires compétentes
- Assurer le suivi de la recherche et sa qualité

La DRCI désignera en son sein, un attaché de recherche clinique promoteur, qui sera chargé de s'assurer que :

- L'investigateur principal dispose des moyens nécessaires à la réalisation de la recherche conformément à la législation et à la réglementation en vigueur
- Les droits, la protection et la sécurité des personnes qui se prêtent à la recherche sont satisfaits
- Les données rapportées, liées à la recherche sont exactes, complètes et cohérentes avec les données sources
- La recherche est conduite conformément au protocole en vigueur et aux dispositions législatives et réglementaires.

Il assurera les liens entre le promoteur et tous les investigateurs.

Investigateurs

- Investigateur coordonnateur

Une charte de responsabilités sera signée par les deux parties, l'investigateur coordonnateur et le promoteur avant la mise en place du projet de recherche.

En acceptant le rôle de coordonnateur il accepte les responsabilités suivantes :

- Participation à la rédaction du protocole de la recherche ;
- Réponses aux questions scientifiques des Autorités Compétentes ;
- Réponses aux questions scientifiques des investigateurs au cours de la recherche ;
- Revue, approbation et signature du rapport clinique de la recherche ;
- Reconnaît que les résultats de la recherche sont la propriété du GHICL, promoteur de la recherche, et s'engage à participer à la publication des résultats dans des revues avec comité de lecture ;

- Responsabilités des investigateurs

En acceptant de participer à la recherche, les investigateurs acceptent les responsabilités suivantes :

- Fournir leur CV au promoteur avant le début de la recherche ;
- Informer et recueillir le consentement des participants ;

- Respecter le secret médical et les principes éthiques de la déclaration d'Helsinki ;
- Réaliser la recherche suivant les BPC ;
- Archiver les documents de la recherche pendant 15 ans ;

De plus, ils ont été informés que tous les documents remis par le promoteur (GHICL) en rapport avec la recherche sont strictement confidentiels. Les investigateurs et leurs collaborateurs s'engagent à ne les utiliser que dans le cadre de cette recherche, pour l'exécution du protocole.

Les investigateurs sont informés qu'un audit peut être effectué avant le début de la recherche, en cours de recherche, ou après la fin de la recherche. L'investigateur autorise les personnes mandatées par le promoteur et les personnes chargées de l'audit à :

- voir le site, les installations et le matériel utilisés pour la recherche
- rencontrer les personnes de son équipe impliquées dans la recherche
- avoir accès aux données de la recherche et aux documents-source

Assurance

Le promoteur a contracté une police d'assurance auprès de la compagnie SHAM sous la référence N°152614 couvrant les risques encourus par les participants à cette recherche pendant la durée de l'étude. Une copie de l'attestation de l'assurance sera remise à l'investigateur et conservée dans le classeur investigateur.

Demande d'autorisation auprès de l'ANSM

Le présent protocole a fait l'objet d'une demande d'autorisation auprès de l'autorité compétente l'ANSM.

Demande d'avis auprès du CPP

Le présent protocole, la note d'information aux participants et le formulaire de recueil du consentement ont été soumis au Comité de protection des personnes.

Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL)

Les données recueillies au cours de l'étude seront rendues anonymes. Les renseignements obtenus seront sauvegardés sur fichier informatique. Seules les personnes directement impliquées dans l'étude seront habilitées à intervenir sur ces fichiers.

Un droit d'accès et de rectification des données pourra s'exercer à tout moment par le participant auprès d'un des médecins référents de l'étude.

Le traitement des données sera effectué conformément aux exigences de la méthodologie de référence MR 001. La Délégation à la Recherche Clinique et à l'Innovation du GHICL responsable du traitement des données, a déclaré être conforme à la MR001 auprès de la CNIL en date du 26/10/2012.

Déclaration du démarrage et de la fin de l'étude

Dès la première inclusion, le promoteur informe sans délai l'autorité compétente et le CPP de la date effective de démarrage de l'étude. La date effective de démarrage correspond à la date de signature du consentement du premier patient qui se prête à la recherche.

La date de fin d'étude sera transmise par le promoteur à l'ANSM et au CPP dans un délai de 90 jours. La date de fin de la recherche correspond au terme de la participation de la dernière personne qui se prête à la recherche,

Lorsque la recherche sera arrêtée définitivement de façon prématurée c'est dire avant le terme prévu pour des raisons de sécurité, le promoteur le déclarera immédiatement à l'ANSM et au CPP et au plus tard dans les 15 jours suivant la date d'arrêt de la recherche. Cependant, si la recherche se termine plus tôt que prévu pour des raisons autres que des raisons de sécurité (par exemple, arrêt du recrutement de nouveaux patients car le nombre de patients à inclure dans la recherche est atteint), cette fin d'étude sera notifiée dans délai de 90 jours.

Lettre d'information et consentement écrit du participant

Une information complète et loyale sera fournie en des termes compréhensibles aux participants répondants aux critères de sélection. Une lettre d'information sera remise au participant par l'investigateur ou son représentant déclaré. La lettre d'information précise les objectifs, les méthodes et la durée de la participation, les principales contraintes et les risques éventuels encourus. Elle rappelle que le participant peut refuser, et à tout moment et sans préjudice personnel, retirer son consentement. L'investigateur ou son représentant doit répondre à toute question complémentaire du participant sur la recherche au moment de la sélection et pendant toute la durée de la recherche.

Un formulaire de consentement éclairé a été également rédigé pour permettre le recueil de l'accord écrit du participant pour participer à la recherche. Le formulaire de consentement sera signé en 2 exemplaires, par les participants consentants et par l'investigateur : un exemplaire sera remis au participant, le second sera conservé par l'investigateur.

Modification au protocole

Le promoteur est seul autorisé à modifier le protocole par demande d'amendement auprès du CPP ou de l'ANSM, en concertation avec l'investigateur coordonnateur et selon les procédures standards opératoires de la recherche.

On entend par modifications substantielles, les modifications qui ont un impact significatif sur tout aspect de la recherche, notamment sur la protection des personnes, y compris à l'égard de leur sécurité, sur les conditions de validité de la recherche le cas échéant sur la qualité et la sécurité des produits expérimentés, sur l'interprétation des documents scientifiques qui viennent appuyer le déroulement de la recherche ou sur les modalités de conduite de celle-ci. Une modification non substantielle du protocole est une modification mineure ou une clarification sans retentissement sur la conduite de la recherche.

La demande de modification est adressée par le promoteur à l'ANSM et au CPP pour autorisation et avis selon les cas. Dès réception de l'avis et/ou de l'autorisation, la version amendée du protocole et/ou de la notice d'information-formulaire de consentement est alors transmise à tous les investigateurs par le promoteur.

Toute modification qui modifie la prise en charge des participants ou les bénéficiaires, risques et contraintes de la recherche fait l'objet d'une nouvelle note d'information ainsi que du recueil d'un nouveau consentement.

Conservation des collections biologiques post-protocole

La durée de conservation des collections biologiques est de 15 ans après la fin de l'étude.

Archivage

Les documents du classeur investigateur et les documents de la recherche à la disposition du promoteur seront conservés :

- ***Pour une durée de 15 ans suivant la fin de la recherche*** (recherches impliquant la personne humaine portant sur des médicaments, des dispositifs médicaux ou des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* ou recherches ne portant pas sur un produit mentionné à l'article L.5311-1 du code de la santé publique),

Les documents archivés sur le centre investigateur, sont sous la responsabilité de l'investigateur pendant la durée réglementaire d'archivage.

Aucun déplacement ou destruction ne pourra être effectué sans l'accord du promoteur. Au terme de la durée réglementaire d'archivage, le promoteur sera consulté pour destruction. Toutes les données, tous les documents et rapports pourront faire l'objet d'audit ou d'inspection.

Le promoteur s'engage également à archiver les documents de la recherche dans une pièce réservée à cet effet, dont l'accès est contrôlé par la personne responsable de l'archivage.

Audit et inspection

Un audit peut être réalisé à tout moment par des personnes mandatées par le promoteur et indépendantes des personnes menant la recherche. Il a pour objectif de vérifier la sécurité des participants et le respect de leurs droits, le respect de la réglementation applicable et la fiabilité des données.

Une inspection peut également être diligentée par une autorité compétente (ANSM pour la France ou EMA dans le cadre d'un essai européen par exemple).

L'audit, aussi bien que l'inspection, pourront s'appliquer à tous les stades de la recherche, du développement du protocole à la publication des résultats et au classement des données utilisées ou produites dans le cadre de la recherche.

Les investigateurs acceptent de se conformer aux exigences du promoteur en ce qui concerne un audit et à l'autorité compétente pour une inspection de la recherche.

RAPPORT FINAL ET PUBLICATION

Le promoteur est le propriétaire exclusif de la base des données et des résultats de la recherche. Ces résultats, ainsi que toutes les données relatives à la recherche, ne doivent en aucun cas être transmises à un tiers, sans contrepartie négociée préalablement par le promoteur.

Les découvertes résultant de l'essai deviendront automatiquement la propriété exclusive du promoteur qui pourra utiliser ces informations de la manière qu'il jugera convenable.

Rapport final

Un rapport final sera rédigé et co-signé par l'investigateur coordonnateur et le promoteur. Conformément à la réglementation en vigueur et selon les délais impartis, un résumé de ce rapport sera transmis à l'autorité compétente et au comité d'éthique. Ce rapport sera tenu à la disposition de l'autorité compétente.

Publication

Tous les résultats d'une recherche clinique financée par le GHICL ou par un appel d'offre sont sous la responsabilité scientifique de l'Investigateur Principal et ces résultats doivent être rendus publics s'ils ont une validité scientifique suffisante. Toute publication doit

mentionner que le GHICL est promoteur. En tout état de cause, le GHICL, promoteur de l'étude, a la maîtrise de la première publication. L'investigateur adresse une copie de ses publications au promoteur.

Toute requête pour cacher des résultats, changer et atténuer le contenu du rapport final et de la publication sera rejetée par le promoteur.

Les publications doivent décrire de façon honnête et équilibrée tous les aspects de l'étude sans tenir compte d'autres intérêts, notamment non scientifiques. Les auteurs des publications doivent se conformer aux règles des journaux de qualité.

✓ Règles relatives à la publication

Les communications et rapports scientifiques correspondant à cette étude seront réalisés sous la responsabilité de l'investigateur Principal de l'étude avec l'accord des investigateurs responsables. Les coauteurs du rapport et des publications seront les investigateurs et les cliniciens impliqués, au prorata de leur contribution à l'étude, ainsi que le biostatisticien, les chercheurs associés (à définir selon le cas). Les membres du personnel de la Délégation à la Recherche Clinique et à l'Innovation ayant activement participé à l'élaboration du protocole de recherche et à l'assurance qualité de la recherche peuvent également être coauteurs dans la mesure du possible. Dans le cas contraire, les investigateurs s'engagent à les citer dans les remerciements.

Les règles de publications suivront les recommandations internationales (N Engl J Med, 1997; 336 :309-315 et *The Uniform Requirements for Manuscripts* de l'ICMJE, avril 2010).

Le protocole de recherche sera enregistré sur un registre en ligne en libre accès (Clinicaltrials.gov) avant l'inclusion du 1er participant dans cette étude.

✓ Publication des résultats sur la base EudraCT (protocole médicament uniquement)

Les résultats des essais cliniques (phase II et IV) portant sur les médicaments seront saisis sur la base EudraCT de l'EMA (répertoire européen des essais cliniques de médicament) sur un délai de 1 an après la fin de la recherche.

✓ Communication des résultats aux participants

Conformément à la loi n°2002-303 du 4 mars 2002, les participants sont informés, à leur demande, des résultats globaux de la recherche.

Financement

Les publications en rapport avec cette étude, mentionnerons les soutiens financiers, matériels et scientifiques reçus dans le cadre de ce protocole de recherche.

Ce projet de recherche translationnelle est inséré dans un champ de recherche plus vaste :

- co-financé via le projet **HypNeurogen sélectionné par l'ANR en 2016**
- **plus récemment intégré dans les Labex DISTALZ** (coordonné par le Prof. Philippe Amouyel) **et EGID** (coordonné par le Prof. Philippe Froguel) **de par l'interface des maladies métaboliques et des maladies liées au vieillissement**
- **ce projet a été récompensé par l'appel à projet 2018 de l'association SANTELYS (20.000 €)**
- **Ce projet a remporté en 2018 l'allocation recherche de la Fondation de l'Avenir de 39.484 €**
- **Enfin ce projet constitue l'un des objectifs de l'ERC SYNERGY "WATCH" (Well-Aging and the Tanycytic Control of Health)(coordonné par Vincent Prévot) toujours dans le cadre de l'interface entre pathologies métaboliques et pathologies du vieillissement. Ce financement a été obtenu très récemment du conseil européen de la recherche à hauteur de 9,8 millions d'euros après différentes étapes de validation qui entérinent la pertinence scientifique et clinique du projet.**
https://erc.europa.eu/sites/default/files/document/file/erc_2018_syg_results.pdf

- Par ailleurs le projet est soutenu par le centre hospitalier d'Arras.

LEPTOB est financé à hauteur de 100%.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Balland E, Dam J, Langlet F, Caron E, Stecutorum S, Messina A, et al. Hypothalamic tanycytes are an ERK-gated conduit for leptin into the brain. *Cell Metab.* 2014;19(2):293-301.
2. Padwal R, Leslie WD, Lix LM, Majumdar SR. Relationship Among Body Fat Percentage, Body Mass Index, and All-Cause Mortality: A Cohort Study. *Ann Intern Med.* 2016;164(8):532-41.
3. Global BMIMC. Body-mass index and all-cause mortality: individual-participant-data meta-analysis of 239 prospective studies in four continents. *Lancet.* 2016;388(10046):776-86.
4. Chapelot D, Aubert R, Marmonier C, Chabert M, Louis-Sylvestre J. An endocrine and metabolic definition of the intermeal interval in humans: evidence for a role of leptin on the prandial pattern through fatty acid disposal. *The American journal of clinical nutrition.* 2000;72(2):421-31.
5. Moran TH, Aja S, Ladenheim EE. Leptin modulation of peripheral controls of meal size. *Physiology & behavior.* 2006;89(4):511-6.
6. Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, Lawrence E, Cheetham CH, Prentice AM, et al. Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *N Engl J Med.* 1999;341(12):879-84.
7. Frederich RC, Hamann A, Anderson S, Lollmann B, Lowell BB, Flier JS. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nat Med.* 1995;1(12):1311-4.
8. Faouzi M, Leshan R, Bjornholm M, Hennessey T, Jones J, Munzberg H. Differential accessibility of circulating leptin to individual hypothalamic sites. *Endocrinology.* 2007;148(11):5414-23.
9. Goodman T, Hajihosseini MK. Hypothalamic tanycytes-masters and servants of metabolic, neuroendocrine, and neurogenic functions. *Front Neurosci.* 2015;9:387.
10. Esser S, Wolburg K, Wolburg H, Breier G, Kurzchalia T, Risau W. Vascular endothelial growth factor induces endothelial fenestrations in vitro. *J Cell Biol.* 1998;140(4):947-59.
11. Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR, Ohannesian JP, Opentanova I, Goldman WH, et al. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet.* 1996;348(9021):159-61.
12. Schwartz MW, Peskind E, Raskind M, Boyko EJ, Porte D, Jr. Cerebrospinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *Nat Med.* 1996;2(5):589-93.
13. Rodrigues AM, Radominski RB, Suplicy Hde L, De Almeida SM, Niclewicz PA, Boguszewski CL. The cerebrospinal fluid/serum leptin ratio during pharmacological therapy for obesity. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2002;87(4):1621-6.
14. Nam SY, Kratzsch J, Kim KW, Kim KR, Lim SK, Marcus C. Cerebrospinal fluid and plasma concentrations of leptin, NPY, and alpha-MSH in obese women and their relationship to negative energy balance. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2001;86(10):4849-53.
15. Briggs DI, Enriori PJ, Lemus MB, Cowley MA, Andrews ZB. Diet-induced obesity causes ghrelin resistance in arcuate NPY/AgRP neurons. *Endocrinology.* 2010;151(10):4745-55.
16. Foretz M, Hebrard S, Leclerc J, Zarrinpashneh E, Soty M, Mithieux G, et al. Metformin inhibits hepatic gluconeogenesis in mice independently of the LKB1/AMPK pathway via a decrease in hepatic energy state. *J Clin Invest.* 2010;120(7):2355-69.

17. Igel LI, Sinha A, Saunders KH, Apovian CM, Vojta D, Aronne LJ. Metformin: an Old Therapy that Deserves a New Indication for the Treatment of Obesity. *Curr Atheroscler Rep.* 2016;18(4):16.
18. Seifarth C, Schehler B, Schneider HJ. Effectiveness of metformin on weight loss in non-diabetic individuals with obesity. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2013;121(1):27-31.
19. Rodriguez Y, Giri M, Feyen E, Christophe AB. Effect of metformin vs. placebo treatment on serum fatty acids in non-diabetic obese insulin resistant individuals. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2004;71(6):391-7.
20. Fontbonne A, Diouf I, Baccara-Dinet M, Eschwege E, Charles MA. Effects of 1-year treatment with metformin on metabolic and cardiovascular risk factors in non-diabetic upper-body obese subjects with mild glucose anomalies: a post-hoc analysis of the BIGPRO1 trial. *Diabetes Metab.* 2009;35(5):385-91.
21. Paolisso G, Amato L, Eccellente R, Gambardella A, Tagliamonte MR, Varricchio G, et al. Effect of metformin on food intake in obese subjects. *Eur J Clin Invest.* 1998;28(6):441-6.
22. Mannucci E, Tesi F, Bardini G, Ognibene A, Petracca MG, Ciani S, et al. Effects of metformin on glucagon-like peptide-1 levels in obese patients with and without Type 2 diabetes. *Diabetes Nutr Metab.* 2004;17(6):336-42.
23. Malin SK, Kashyap SR. Effects of metformin on weight loss: potential mechanisms. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2014;21(5):323-9.
24. Aubert G, Mansuy V, Voirol MJ, Pellerin L, Pralong FP. The anorexigenic effects of metformin involve increases in hypothalamic leptin receptor expression. *Metabolism.* 2011;60(3):327-34.
25. Huai L, Wang C, Zhang C, Li Q, Chen Y, Jia Y, et al. Metformin induces differentiation in acute promyelocytic leukemia by activating the MEK/ERK signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;422(3):398-404.
26. Schmalz C. Long-term metformin treatment decreases weight gains in DIO mice which may be a result of retained leptin transport through tanycytes by an ERK-stimulated pathway
A. 2016.
27. Baroncini M, Jissendi P, Catteau-Jonard S, Dewailly D, Pruvo JP, Francke JP, et al. Sex steroid hormones-related structural plasticity in the human hypothalamus. *Neuroimage.* 2010;50(2):428-33.
28. Baroncini M, Jissendi P, Balland E, Besson P, Pruvo JP, Francke JP, et al. MRI atlas of the human hypothalamus. *Neuroimage.* 2012;59(1):168-80.
29. Florent V, Baroncini M, Jissendi-Tchofo P, Lopes R, Vanhoutte M, Rasika S, et al. Hypothalamic structural and functional imbalances in anorexia nervosa. *Neuroendocrinology.* 2019;10.1159/000503147.
30. Mazon JN, de Mello AH, Ferreira GK, Rezin GT. The impact of obesity on neurodegenerative diseases. *Life sciences.* 2017;182:22-8.
31. McGuire MJ, Ishii M. Leptin Dysfunction and Alzheimer's Disease: Evidence from Cellular, Animal, and Human Studies. *Cellular and molecular neurobiology.* 2016;36(2):203-17.
32. King A, Brain A, Hanson K, Dittmann J, Vickers J, Fernandez-Martos C. Disruption of leptin signalling in a mouse model of Alzheimer's disease. *Metabolic brain disease.* 2018;33(4):1097-110.
33. Markowicz-Piasecka M, Sikora J, Szydłowska A, Skupien A, Mikiciuk-Olasik E, Huttunen KM. Metformin - a Future Therapy for Neurodegenerative Diseases : Theme: Drug Discovery, Development and Delivery in Alzheimer's Disease Guest Editor: Davide Brambilla. *Pharmaceutical research.* 2017;34(12):2614-27.

34. Koenig AM, Mechanic-Hamilton D, Xie SX, Combs MF, Cappola AR, Xie L, et al. Effects of the Insulin Sensitizer Metformin in Alzheimer Disease: Pilot Data From a Randomized Placebo-controlled Crossover Study. *Alzheimer disease and associated disorders*. 2017;31(2):107-13.
35. Karlsson J, Persson LO, Sjostrom L, Sullivan M. Psychometric properties and factor structure of the Three-Factor Eating Questionnaire (TFEQ) in obese men and women. Results from the Swedish Obese Subjects (SOS) study. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000;24(12):1715-25.
36. Lesdema A, Fromentin G, Daudin JJ, Arlotti A, Vinoy S, Tome D, et al. Characterization of the Three-Factor Eating Questionnaire scores of a young French cohort. *Appetite*. 2012;59(2):385-90.
37. Lluch A, Kahn J, Stricker-Krongrad A, Ziegler O, Drouin P, Mejean L. Internal validation of a French version of the Dutch eating behaviour questionnaire. *Eur Psychiatry*. 1996;11(4):198-203.
38. Wardle J. Eating style: a validation study of the Dutch Eating Behaviour Questionnaire in normal subjects and women with eating disorders. *J Psychosom Res*. 1987;31(2):161-9.
39. Glueck CJ, Fontaine RN, Wang P, Subbiah MT, Weber K, Illig E, et al. Metformin reduces weight, centripetal obesity, insulin, leptin, and low-density lipoprotein cholesterol in nondiabetic, morbidly obese subjects with body mass index greater than 30. *Metabolism*. 2001;50(7):856-61.
40. van Oosterhout WP, van der Plas AA, van Zwet EW, Zielman R, Ferrari MD, Terwindt GM. Postdural puncture headache in migraineurs and nonheadache subjects: a prospective study. *Neurology*. 2013;80(10):941-8.
41. Horlocker TT, Wedel DJ, Rowlingson JC, Enneking FK, Kopp SL, Benzon HT, et al. Regional anesthesia in the patient receiving antithrombotic or thrombolytic therapy: American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine Evidence-Based Guidelines (Third Edition). *Regional anesthesia and pain medicine*. 2010;35(1):64-101.
41. Virginie KS, Florence G, Jacques P, Emilie L, Nicolas PV, Pierre-François P, et al. Validation of a French Version of the 8-Item Morisky Medication Adherence Scale in Hypertensive Adults. *The Journal of Clinical Hypertension*. 2012;14(7):429-34.

LISTE DES ANNEXES

- Annexe 1 : Questionnaire d'observance de Morisky
- Annexe 2 : Liste des travaux de l'équipe de recherche
- Annexe 3 : Faisabilité

Questionnaire d'observance de Morisky

	non	oui
1. Vous arrive-t-il quelquefois d'oublier de prendre vos médicaments?		
2. Il arrive que des personnes ne prennent pas leurs médicaments pour des raisons autres que l'oubli. Pensez aux deux dernières semaines, vous est-il arrivé au moins un jour de ne pas prendre vos médicaments ?		
3. Vous est-il déjà arrivé de diminuer ou d'arrêter de prendre votre traitement sans le dire à votre médecin, parce que vous vous sentiez plus mal lorsque vous le preniez ?		
4. Lorsque vous voyagez ou quittez votre domicile, vous arrive-t-il d'oublier d'emporter avec vous vos médicaments ?		
5. Avez-vous pris vos médicaments hier ?		
6. Lorsque vous sentez que votre problème de santé est maîtrisé, vous arrive-t-il de stopper votre traitement ?		
7. Prendre son traitement tous les jours constitue une vraie gêne pour certains patients. Vous arrive – t – il de ne pas supporter de prendre votre traitement médical ?		
8. Combien de fois avez-vous eu des difficultés à vous rappeler de prendre votre traitement ?		

Publications de l'équipe liées au projet :

1. Prevot V, Dehouck B, Sharif A, Ciofi P, Giacobini P, Clasadonte J. The versatile tanycyte: a hypothalamic integrator of reproduction and energy metabolism. **Endocrine Reviews** doi: 10.1210/er.2017-00235, 2018 (Facteur d'impact –FI-: 15,7)
2. Clasadonte J, Prevot V. The special relationship: glia-neuron interactions in the neuroendocrine hypothalamus. **Nature Reviews Endocrinology** 14:25-44, 2018. (FI: 18,2)
3. Collden G, Balland E, Parkash J, Caron E, Langlet F, Prevot V, Bouret SG. Neonatal overnutrition causes early alterations in the central response to peripheral ghrelin. **Mol Metab**, 4, 15-24, 2015. (IF: 6,8; ; citée 38 fois)
4. Bellefontaine N, Chachlaki K, Parkash J, Vanaker C, Colledge W, d'Anglemont de Tassigny X, Garthwaite J, Bouret SG, Prevot V. Leptin facilitates reproduction through neuronal nitric oxide signaling in the hypothalamic preoptic region. **J Clin Invest** 124:2550-2559, 2014. (FI: 12,8; citée 41 fois)
5. Balland E, Dam J, Langlet F, Caron E, Steculorum S, Messina A, Rasika S, Falluel-Morel A, Anouar Y, Dehouck B, Trinquet E, Jockers R, Bouret SG, Prevot V. Hypothalamic tanycytes are an ERK-gated conduit for leptin into the brain. **Cell**

Metab 19, 293-301, 2014. (also Cell Metab Previews p. 173-175) (FI: 18,2; citée [112 fois](#))

6. Langlet F, Levin BE, Luquet S, Mazzone M, Messina A, Dunn-Meynell AA, Balland E, Lacombe A, Mazur D, Carmeliet P, Bouret SG, Prevot V*, Dehouck B. Tanycytic VEGF-A Boosts Blood-Hypothalamus Barrier Plasticity and Access of Metabolic Signals to the Arcuate Nucleus in Response to Fasting. **Cell Metab** 17:607-617, 2013. (also Cell Metab Previews p. 467-468) * Corresponding author (FI: 18,2; citée [113 fois](#))
7. Langlet F, Mullier A, Bouret SG, **Prevot V**, Dehouck B. Tanycyte-like cells form a blood-cerebrospinal fluid barrier in the circumventricular organs of the mouse brain. **J Comp Neurol** 521:3389-3405, 2013. *Image de couverture* (FI: 3,3; citée [76 fois](#))
8. Baroncini M, Jissendi P, Balland E, Besson P, Pruvo JP, Francke JP, Dewailly D, Blond S, Prevot V. MRI atlas of the human hypothalamus. **Neuroimage** 59:168-180, 2012 (FI: 5,8; citée [47 fois](#))
9. Baroncini M, Jissendi P, Catteau-Jonard S, Dewailly D, Pruvo JP, Francke JP, Prevot V. Sex steroid hormones-related structural plasticity in the human hypothalamus. **Neuroimage** 50:428-433. 2010. (FI: 5,8; citée [20 fois](#))
10. Mullier A, Bouret SG, Prevot V, Dehouck B Differential distribution of tight junction proteins suggests a role for tanycytes in blood-hypothalamus barrier regulation in the adult mouse brain. **J Comp Neurol** 518:943-962, 2010. *Image de couverture* (FI: 3,3; citée [120 fois](#))

Publication didactique en français:

- Florent V, Baroncini M, Prevot V. Tanycytes hypothalamiques, barrière hématoencéphalique et rôle dans la régulation de l'homéostasie énergétique. **Cahiers de Nutrition et de Diététique** 52:26-32, 2017.
- Balland E, Prevot V [Tanycytes gate leptin transport into the hypothalamus]. **Med Sci (Paris)** 30:624-627, 2014.
- Dehouck B, Prevot V, Langlet F [Plasticity of the blood-hypothalamus barrier: a role in energy homeostasis]. **Med Sci (Paris)** 30:627-630, 2014.

Brevet lié au projet :

WO 2014141124 A1: "ERK-pathway activating compound for preventing or treating leptin résistance", Applicant INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (INSERM), Country FR, PI: Prevot V.

L'équipe médicale, chirurgicale et paramédicale du centre hospitalier d'Arras participe à la préparation, à l'accompagnement et au suivi post opératoire des patients opérés de chirurgie bariatrique depuis plusieurs années (2005 et de façon pluridisciplinaire depuis 2008) avec une file active de patients conséquente (412 patients opérés et suivis à ce jour). Le centre hospitalier d'Arras est distingué par le titre de CSO depuis 2012 (Centre Spécialisé Obésité) prouvant sa qualité de prise en charge dans le domaine et un positionnement territorial certain comme centre de recours pour les patients obèses sévères.

L'Equipe Inserm « Développement et plasticité du cerveau Neuroendocrine» qui est composée de 4 chercheurs EPST, 2 MCU, 3 PUPH, 1 MCUPH, 1 PH, 2 ITA, 7 postdocs et 8 Thésards dirigé par Vincent PREVOT et à laquelle Vincent FLORENT est affilié, et dont l'activité a été jugée comme étant "remarquable" par la commission Neurosciences de l'Inserm en 2014 ont conduit à la découverte de concepts généraux en Neurosciences et à en déterminer l'importance physiologique en utilisant comme modèle d'étude l'hypothalamus et deux grandes fonctions du vivant: la reproduction et l'homéostasie énergétique. Notamment, grâce au soutien de la Fondation pour la Recherche Médicale (FRM, Equipe FRM 2005 & 2013) et de l'ANR (JCJC2005, ANR GLIODIABESITY 2009-2012, GlioShuttles4Metabolism 2015-2019) et à la création du Laboratoire International Associé NEUROBESE par l'Inserm (Children Hospital de Los Angeles, Université de Lille 2 et Inserm), nous avons pu mettre en évidence le rôle crucial que jouaient l'éminence médiane et les tanycytes non seulement dans le contrôle de la fonction de reproduction (Nat Commun 2015), mais aussi dans le contrôle de l'accès des facteurs métaboliques circulants aux centres hypothalamiques impliqués dans la régulation de l'appétit et l'équilibre énergétique (Cell Metab 2013 & 2014, Dépôt de Brevet). Ce travail sur le rôle des tanycytes dans la communication entre la périphérie et le cerveau métabolique a reçu un fort soutien de la Commission Européenne qui a alloué 2 Grants Marie-Curie H2020 en 2015 (TANYFEEDNEURONS et GLIODIABESITY) et 1 en 2017 (GLUCOTANYCYTE) pour la poursuite de ce projet. Grâce aux liens forts avec le CH d'Arras par l'intermédiaire de Vincent FLORENT, l'Equipe Inserm a l'opportunité d'explorer la validité de ses résultats obtenus dans un modèle préclinique chez l'homme et ainsi de favoriser leur transfert à la clinique et donc de conduire une véritable recherche translationnelle co-financé à 45% par l'ANR via le projet **HypNeurogen (65.000€)** qui a été sélectionné en 2016 et le projet **SANTELYS (20.000€)** sélectionné en 2018, ainsi que le prix de la fondation de l'avenir 2018 de **39.484 €** et par le CH d'Arras. **Enfin ce projet constitue l'un des objectifs de l'ERC SYNERGY "WATCH" (Well-Aging and the Tanycytic Control of Health) n° 810331 (coordonné par Vincent Prévot) toujours dans le cadre de l'interface entre pathologies métaboliques et pathologies du vieillissement. Ce projet qui a obtenu un financement de 9,8 millions d'euros auprès du conseil européen de la recherche après différentes étapes de validation qui entérinent la pertinence scientifique et clinique du projet a débuté le 1 mars 2019.** Il sera soutenu par les Labex DISTALZ (coordonné par le Prof. Philippe Amouyel) et EGID (coordonné par le Prof. Philippe Froguel) à Lille. Au vu de l'environnement scientifique et médical et des financements déjà acquis (le projet est financé à 100%), la faisabilité de ce projet paraît excellente.

DISCUSSION

I. AXE 1 : ETUDE FONCTIONNELLE DE L'HYPOTHALAMUS HUMAIN EN IRM HAUTE RESOLUTION : MODIFICATIONS INDUITES PAR LA PRISE ALIMENTAIRE CHEZ L'ANOREXIQUE MENTALE :

Plusieurs études ont apporté la preuve de modifications de la morphologie cérébrale chez les AM. En effet, les AM présentent une diminution du volume de la substance grise (principalement au niveau des lobes temporaux et occipitaux) et de la substance blanche et une majoration du volume de LCS circulant, anomalies qui se résolvent après reprise pondérale exceptées les altérations de la substance grise (313). La circulation sanguine cérébrale est également affectée (hypoperfusion) ce qui pourrait contribuer à expliquer la survenue de dysfonctionnements métaboliques centraux (314). Contrairement à ces études, notre travail innove en utilisant des techniques d'IRM haute résolution 3 Teslas. Trois séquences spécifiques ont permis de mettre en évidence des modifications hypothalamiques secondaires à la prise alimentaire dans les trois groupes de sujets : AM, MC et contrôles.

A. Sujets :

L'inclusion de trois groupes de sujets dont un groupe témoin a permis une étude comparative des données à une population saine. Le choix précis du jour du cycle menstruel des participantes a permis d'éviter la survenue de modifications hypothalamiques entre participantes indépendamment de la prise alimentaire, comme vu dans une étude précédente (276). La calibration de l'apport calorique à la dépense énergétique de chaque sujet permet d'homogénéiser la composante énergétique de notre étude de façon rigoureuse. La problématique du recrutement des patientes maigres constitutionnelles s'est également posée : en effet il y a un risque que des patientes AM soient incluses dans le groupe MC si elles n'ont pas été dépistées lors de l'entretien et par le questionnaire de restriction cognitive. Un bilan biologique avec dosage de leptine aurait permis de confirmer l'inclusion des patientes dans l'un des deux groupes. En effet la leptine reflétant la masse adipocytaire, celle-ci est diminuée chez la patiente MC (comme elle serait majorée chez le sujet obèse), et effondrée chez la patiente anorexique (25). En ce qui concerne les fonctions gonadotropes de l'hypothalamus, certaines patientes AM incluses se trouvent en aménorrhée hypothalamique secondaire à leur pathologie. L'inhibition hypothalamique chez les patientes anorexiques est hypogonadotrope contrairement à celle induite par la contraception oestro-progestative, mais la résultante sur le fonctionnement hypothalamique concernant la fonction de reproduction (inhibition) est identique.

Le nombre de sujets doit également être discuté. En effet n=10 par groupe limite la portée de certaines analyses statistiques surtout lorsque des outliers doivent être exclus. Néanmoins la complexité des analyses de post-traitement avec notamment la segmentation manuelle de chaque noyau hypothalamique, sujet par sujet, pour les deux IRM, rend difficile la majoration des effectifs. Si nous considérons cette recherche comme étant davantage fondamentale que clinique, les effectifs actuels restent confortables en regard des expérimentations animales où les effectifs animaux sont très faibles.

B. Segmentation :

Notre choix sur la technique de segmentation de l'hypothalamus s'est tourné vers une segmentation manuelle des différents noyaux hypothalamiques. Les investigateurs participant à ce protocole ont montré à plusieurs reprises leur expertise dans l'analyse IRM de l'hypothalamus et dans sa segmentation (251, 276). Cette méthode nous permet de cibler avec une grande précision l'origine des modifications en tractographie et d'effectuer des analyses de volumétrie. Cette technique est cependant moins reproductible qu'une segmentation semi-automatisée comme celle qu'a utilisé Lemaire (315) en compartimentant l'hypothalamus en six régions proportionnelles (pré-optique, supra-optique, antéro-ventral, antéro-dorsal, latéral and postérieur). Néanmoins la segmentation manuelle a été réalisée par une même personne formée en neuroanatomie afin d'éviter des variations inter-opérateurs. Nous avons été gênés pour la segmentation de certains noyaux, comme le noyau du tractus solitaire, car la résolution était insuffisante. L'utilisation d'IRM très haut champ pourrait palier cette problématique.

À ce jour, notre étude est la seule qui ait abouti à la réalisation d'une reconstruction du connectome à l'échelle intra-hypothalamique. Nous avons pu mettre en évidence que l'ARH et la LHA présentent une altération de leurs faisceaux de fibres nerveuses comparée aux contrôles. Chez les AM, nous avons observé une profonde réduction du nombre de fibres nerveuses passant à travers l'ARH. Ces données confirment qu'une altération de la connectivité de l'ARH est présente en cas de sous poids, constat déjà observé sur modèle murin (316). À l'inverse, la densité de fibres nerveuses dans la LHA est significativement plus importante chez les AM comparativement aux sujets contrôles alors que cette aire est capitale dans la régulation de la prise alimentaire, mais aussi dans l'intégration des informations intéroceptives et la modulation de l'activité des centres corticaux impliqués dans les prises de décisions et la représentation du corps.

C. Spectroscopie :

La spectroscopie par résonance magnétique a mis en évidence des modifications de la biochimie cérébrale *in vivo* de l'hypothalamus chez l'anorexique mentale. Notre étude a démontré que la réponse glutamatergique hypothalamique à la prise alimentaire est très nettement altérée chez les AM : en effet le ratio glutamine sur créatine était significativement supérieur chez les AM à jeun, alors que la concentration du ratio glutamine sur créatine chute drastiquement chez les patients AM et pas chez les contrôles en post prandial. La réponse glutamatergique à la prise alimentaire, associée à un seuil basal plus élevé dans la condition "à jeun", est nettement altérée chez la patiente AM.

Ces altérations observées *in vivo* chez l'AM sont en miroir de constats connus sur modèle murin où l'activation spécifique de populations neuronales glutamatergiques dans le noyau arqué et l'aire hypothalamique latérale, provoque une satiété chez des souris ayant un accès illimité à l'alimentation (278, 279). Or, les neurones à POMC sont principalement glutamatergiques (56). **Ces premiers résultats ont mis en évidence la possible implication d'une dysrégulation glutamatergique dans la physiopathologie de l'AM.**

Le positionnement du voxel de spectroscopie au sein de l'hypothalamus était une étape critique lors de l'acquisition. En effet la position de l'hypothalamus est problématique, car proche du LCS, qui peut perturber l'acquisition et donner des spectres de faible qualité, surtout en cas de mouvement du sujet entre le repérage et l'acquisition. Il faut également remarquer que cette étape était opérateur dépendant en fonction de l'expérience du manipulateur. Afin de normaliser au mieux cette étape, une iconographie détaillée de la manipulation et du positionnement de la boîte de SRM était utilisée. Ces difficultés techniques étaient attendues, car déjà connues lors de la réalisation d'une précédente étude au sein de la même unité (276). La spectroscopie du sujet T6 a été exclue compte tenu de la faible qualité du spectre, lié au mauvais positionnement du voxel.

La spectroscopie est une technique pouvant être à l'origine d'erreurs liées notamment à l'analyse post-traitement durant laquelle le logiciel LC Model© analyse simultanément plusieurs métabolites dans un même temps (NAA + NAAG, Glu + Gln, GPC et PCh) surtout si le spectre est de qualité faible. Ce logiciel permet une analyse reproductible car automatisée et non subjective, basée sur une analyse de l'ensemble du spectre plutôt que sur des pics individuels. L'incertitude de la mesure des concentrations de métabolites (bornes de Cramer) est également étudiée, et nous n'avons gardé que les données avec un écart type (SD) inférieur à 15% (317). Nous avons par ailleurs basé nos analyses statistiques sur des ratios par rapport à la Créatine plutôt que sur les concentrations absolues des métabolites, ce qui aurait nécessité un calibrage précis de l'IRM à chaque acquisition.

D. Tenseur de diffusion et tractographie :

Nous espérons initialement pouvoir mettre en évidence des modifications de la diffusion à l'échelle de chaque noyau hypothalamique, liées à une modification de la diffusivité de l'eau dans les espaces intra ou extra-cellulaires, qui aurait permis d'explorer indirectement la structure cellulaire des tissus. Cela aurait été dans le sens de l'hypothèse séduisante de visualisation *in vivo* des mécanismes de remodelage des tanocytes et de la perméabilité de ces capillaires fenêtrés et donc de modifications transitoires de l'architecture cellulaire cérébrale, neuronale ou gliale, traduisant une activation des voies de la régulation centrale de la prise alimentaire. Des tendances ont été observées sur ces techniques non présentées ici, sans résultat significatif en lien avec un manque de puissance statistique.

Grâce aux techniques de tractographie, il nous été possible de reconstruire les faisceaux de fibres nerveuses entre deux régions d'intérêts cérébrales. Grâce à une segmentation manuelle de chaque noyau hypothalamique, notre étude a permis pour la première fois de constater que le nombre de fibres nerveuses passant par l'ARH était considérablement réduit chez les patientes anorexiques, alors que les fibres passant par la LHA sont bien plus importantes dans le groupe témoin. Or ces deux zones sont toutes les deux impliquées dans la régulation de la prise alimentaire, et dans la prise de décision et le schéma corporel pour la LHA (318, 319).

Ces données mettent en lumière que le phénotype anthropométrique avec IMC faible (anorexie mentale et maigreur constitutionnelle) est associé à une altération de la connectivité de l'ARH, comme observé chez la souris (316). Il est désormais connu que les désordres

nutritionnels dans la période périnatale va impacter négativement la maturation du réseau neuronal de l'ARH et éventuellement induire dans le futur une perturbation de l'homéostat énergétique (115).

Il s'agit ici du premier constat chez l'anorexique mentale d'anomalies du connectome *in vivo* de l'ARH et de l'LHA, structures clefs dans la régulation de l'homéostasie énergétique. **Ces résultats vont dans le sens d'une contribution physiopathologique des boucles de régulation hypothalamique passant par l'ARH et l'LHA dans l'anorexie mentale.**

E. Résultats complémentaires :

Les changements de la microstructure cérébrale chez l'anorexique mentale ont été à nouveau mis en évidence dans l'analyse volumétrique de l'hypothalamus. En effet ces analyses ont permis de visualiser des anomalies volumétriques dans certains noyaux hypothalamiques dont la LHA droite des sujets anorexiques mentales qui est 15% plus grande que dans le groupe maigreur constitutionnelle, noyau dans lequel le nombre de fibres est significativement augmenté chez l'anorexique mentale.

Concernant l'ARH, on retrouvera une corrélation positive forte entre poids et nombre de fibres nerveuses passant au travers de l'ARH dans le groupe contrôle. Or c'est justement dans l'ARH que le nombre de fibres est significativement plus important comparé à la fois aux anorexiques et aux contrôles, comme si le sous poids était lié à un nombre de fibres dans l'ARH moins important. De plus le nombre de fibres est proportionnel au volume de l'ARH. Or c'est justement dans le groupe contrôle que le nombre de fibres est le plus important comparé aux groupes minces constitutives et anorexiques mentales.

Concernant l'LHA, il existe une corrélation négative significative entre nombres de fibres passant au travers et le poids dans les groupes anorexie et maigreur constitutive. La LHA semble donc être un marqueur inverse du poids : en effet chez les minces constitutives plus le poids augmente moins il y a de fibres passant au travers de la LHA. On rappellera que les données de tractographie retrouvaient de manière très significative un nombre de fibres moins important chez les contrôles que chez les anorexiques.

Enfin, nous avons observé une corrélation négative significative dans le groupe anorexie mentale entre l'IMC et la diffusion dans l'ARH et l'LHA. Autrement dit, les patientes anorexiques à IMC plus faibles ont une diffusivité moyenne plus importante dans ces deux noyaux hypothalamiques, donc un espace extracellulaire plus important. Cela corrobore les données de la littérature objectivant une réduction de matière blanche chez ces patientes surtout en phase de dénutrition avancée (259), réduction partiellement récupérable après rétablissement du poids.

Toutes ces données quantitatives sont des observations directes des anomalies structurelles du connectome hypothalamique chez l'anorexique mentale. Sur cette base la construction d'un outil diagnostique comme l'IRM cérébrale est très séduisante. Un algorithme avec analyse discriminante a répondu en partie à cette problématique. Néanmoins la fiabilité actuelle de ce test est faible, en lien avec un manque de puissance statistique et

donc d'effectif. La reproduction de ce modèle à plus large échelle permettrait de développer un outil non invasif et non irradiant pour le diagnostic voire le dépistage précoce des TCA.

II. AXE 2 : ETUDE DE LA LEPTINORESISTANCE DANS L'OBESITE : IMPACT DE LA METFORMINE SUR LE TRANSPORT DE LA LEPTINE DANS LE LIQUIDE CEREBROSPINAL DE PATIENTS OBESES :

Intervenir sur le dysfonctionnement de la barrière tanycytaire afin de restaurer le passage des signaux périphériques indispensables à l'hypothalamus est une idée très séduisante. Actuellement aucune stratégie thérapeutique ne cible cette population de cellules gliales spécialisées alors que les données autour de la leptinorésistance sont nombreuses. L'implication de ces cellules dans ce phénomène de résistance aux signaux hormonaux périphériques, conduisant à la genèse ou à l'entretien de pathologies métaboliques dont l'obésité, a été récemment prouvée sur des modèles animaux (48).

La metformine est reconnue pour son action sur l'insulinorésistance, sur l'oxydation des acides gras et différentes études s'attardent sur le bénéfice cardio-vasculaire ou encore sur la stéatose hépatique de ce traitement. Les causes des pertes de poids constatées à la suite de l'introduction de ce traitement alors même qu'il améliore l'insulinorésistance et donc l'action de l'insuline (qui quant à elle est anabolisante et entraîne des prises de poids) restent inconnues. Il est donc intrigant d'explorer la voie de l'action centrale de la metformine au niveau des tanycytes chez l'Homme, en relai des observations de l'action positive de ce traitement sur la leptinorésistance.

Le protocole LEPTOB vise donc à déterminer les mécanismes d'action de la metformine sur la leptinorésistance avec un panel d'explorations neurobiologiques via le prélèvement de LCS chez le sujet obèse. La mise en évidence de modifications neurohormonales, pourrait permettre éventuellement la mise au point de nouvelles cibles thérapeutiques dans le traitement de l'obésité.

La complexité de l'approche employée et le taux d'adhésion relativement faible des volontaires pour ce protocole expliquent vraisemblablement l'absence complète de données dans la littérature sur le traitement de la leptinorésistance humaine.

Le protocole expérimental a connu différentes versions et revers, comme l'utilisation d'un placebo. En effet le niveau de preuve des études contrôlées par placebo en double aveugle est maximal et aurait été un choix très judicieux. Néanmoins la complexité du processus industriel de fabrication des placebos à l'heure actuelle et le coût supplémentaire généré m'a dissuadé. De plus, notre promoteur ne disposait initialement pas de cellule de pharmacovigilance ce qui a généré des retards dans les autorisations réglementaires. J'ai donc finalement conçu une procédure simplifiée où chaque sujet sera son propre témoin, et où les explorations prévues seront identiques et réalisées avant et après traitement, tout en sachant que le niveau de preuve de cette approche sera moindre. S'agissant ici d'une étude pilote et exploratoire, en cas de résultats convaincants une seconde étude interventionnelle sera prévue.

En regard du désagrément enduré par les volontaires (entre autres les deux IRM, les deux ponctions lombaires et les 3 mois de traitement), j'ai prévu une analyse statistique

intermédiaire à mi-effectif. Cette sécurité augmente certes le risque alpha de première espèce ce qui fait grimper le nombre total de sujets à inclure, mais permet de mettre un terme aux inclusions plus vite si aucun résultat significatif ne ressort à l'analyse intermédiaire. Si un simple manque de puissance statistique est mis en évidence, nous poursuivrons les inclusions jusqu'au terme de l'étude (n=31 sujets).

Afin de s'assurer de l'absence de biais lié au site de prélèvement lombaire et donc de dosage des neurohormones, nous avons pu vérifier l'absence de différence notable de concentration en leptine dans le LCS lombaire et ventriculaire ce qui confirme la fiabilité du prélèvement par ponction lombaire pour ces analyses.

Les inclusions sont donc en cours mais à ce jour le nombre limité de sujets inclus ne nous permet pas de débiter les analyses biologiques qui seront réalisées par bloc.

CONCLUSION & PERSPECTIVES

Nos résultats montrent qu'il est possible d'observer de façon non invasive des changements ultra structuraux dans l'hypothalamus humain au cours de la prise alimentaire.

L'IRM multimodale devient ainsi un outil indispensable pour l'exploration des anomalies structurelles et fonctionnelles présentes chez les patientes AM. Notre approche centrée sur le « cerveau homéostasique » met en avant l'hypothèse originale selon laquelle l'hypothalamus, centre de la régulation homéostasique, jouerait un rôle dans la physiopathologie d'une maladie jusqu'alors considérée comme purement comportementale. La neuro-imagerie fonctionnelle pourra devenir un outil diagnostique de choix dans l'AM et une aide à la décision thérapeutique. En outre, la mise en évidence de zones d'activations différentes chez la patiente anorexique pourrait permettre la mise en place de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblées, comme la stimulation cérébrale profonde de l'hypothalamus déjà utilisée dans les algies vasculaires de la face. Des investigations supplémentaires seront nécessaires avant l'utilisation de telles techniques.

Nos perspectives concernant la poursuite de ces études :

- A ce jour les données d'IRM fonctionnelle resting state n'ont pas encore été analysées. Cette technique d'IRM fonctionnelle pour laquelle nous disposons des acquisitions pré et post prandiales pour les 3 groupes, permettrait de déterminer s'il existe des interactions régionales survenant à l'issue de la prise alimentaire, comme par exemple des co-activations entre l'hypothalamus et certaines zones corticales. Ces données pourraient être corrélées aux variations structurelles observées chez les anorexiques mentales.
- Conforter la puissance statistique avec un renforcement des effectifs actuels. Cela permettrait de valider un outil prédictif via les algorithmes d'analyse discriminante qui à ce jour manquent de précision par défaut de sujets inclus.
- Des données récentes de la littérature ont montré que la connectivité entre les circuits hypothalamiques contrôlant la prise alimentaire pouvait être remodelée chez des souris adultes en fonction du statut nutritionnel. C'est l'axe ARH / PVN qui a été particulièrement investigué dans cette étude (320). Fort de ce constat, nous pourrions reprendre l'intégralité des données de tractographie afin de vérifier si le jeûne serait un vecteur de remodelage du nombre de fibres passant au travers de ces deux noyaux (comparaison du nombre de fibres nerveuses « à jeun » versus « post prandial »).
- Concernant l'axe 2 et l'étude LEPTOB, un nouvel amendement est rédigé afin d'alléger certains critères de non-inclusion ou encore la suppression de l'IRM médullaire, des avenants sont en cours auprès des financeurs afin de reculer les échéances, une campagne de communication est par ailleurs actuellement en cours afin d'élargir les possibilités d'inclusion à l'extérieur du service de nutrition du CH d'Arras.

BIBLIOGRAPHIE

1. Westmoreland P, Krantz MJ, Mehler PS. Medical Complications of Anorexia Nervosa and Bulimia. *The American journal of medicine*. 2016;129(1):30-7.
2. Duncan AE, Ziobrowski HN, Nicol G. The Prevalence of Past 12-Month and Lifetime DSM-IV Eating Disorders by BMI Category in US Men and Women. *European eating disorders review : the journal of the Eating Disorders Association*. 2017;25(3):165-71.
3. Davis C. The epidemiology and genetics of binge eating disorder (BED). *CNS spectrums*. 2015;20(6):522-9.
4. Sullivan PF. Mortality in anorexia nervosa. *The American journal of psychiatry*. 1995;152(7):1073-4.
5. Crow SJ, Peterson CB, Swanson SA, Raymond NC, Specker S, Eckert ED, et al. Increased mortality in bulimia nervosa and other eating disorders. *The American journal of psychiatry*. 2009;166(12):1342-6.
6. Hudson JI, Hiripi E, Pope HG, Jr., Kessler RC. The prevalence and correlates of eating disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Biol Psychiatry*. 2007;61(3):348-58.
7. Tortorella A, Brambilla F, Fabrazzo M, Volpe U, Monteleone AM, Mastromo D, et al. Central and peripheral peptides regulating eating behaviour and energy homeostasis in anorexia nervosa and bulimia nervosa: a literature review. *European eating disorders review : the journal of the Eating Disorders Association*. 2014;22(5):307-20.
8. Roehr B. American Psychiatric Association explains DSM-5. *Bmj*. 2013;346:f3591.
9. APA. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5. American Psychiatric Association. 2013.
10. Keski-Rahkonen A, Hoek HW, Susser ES, Linna MS, Sihvola E, Raevuori A, et al. Epidemiology and course of anorexia nervosa in the community. *The American journal of psychiatry*. 2007;164(8):1259-65.
11. Smink FR, van Hoeken D, Donker GA, Susser ES, Oldehinkel AJ, Hoek HW. Three decades of eating disorders in Dutch primary care: decreasing incidence of bulimia nervosa but not of anorexia nervosa. *Psychological medicine*. 2016;46(6):1189-96.
12. Lucas AR, Beard CM, O'Fallon WM, Kurland LT. 50-year trends in the incidence of anorexia nervosa in Rochester, Minn.: a population-based study. *The American journal of psychiatry*. 1991;148(7):917-22.
13. D. Guardia ML, O. Cottencin. Anorexia nervosa, a body shape's story. *correspondances en Métabolismes Hormones Diabète et Nutrition*. 2011;XY(9-10).
14. Wang K, Zhang H, Bloss CS, Duvvuri V, Kaye W, Schork NJ, et al. A genome-wide association study on common SNPs and rare CNVs in anorexia nervosa. *Molecular psychiatry*. 2011;16(9):949-59.
15. Watson HJ, Yilmaz Z, Thornton LM, Hubel C, Coleman JRI, Gaspar HA, et al. Genome-wide association study identifies eight risk loci and implicates metabo-psychiatric origins for anorexia nervosa. *Nature genetics*. 2019;51(8):1207-14.
16. Chambry J. CM, Guilbaud O., Jeammet P. L'anorexie mentale masculine : réalités et perspectives. *Ann Med Interne (Paris)*. 2002;153.
17. Marie Grall-Bronnec MG-L, Jean-Luc Vénisse. Medical signs and symptoms of anorexia nervosa. *Nutrition Clinique et métabolisme*. 2007;21.
18. Kaye W. Neurobiology of anorexia and bulimia nervosa. *Physiology & behavior*. 2008;94(1):121-35.
19. Vénisse J-L. Pertinence du concept d'addiction dans les troubles du comportement alimentaire. *Traité d'addictologie*. 2006:650-4.
20. Godart NT, Flament MF, Perdereau F, Jeammet P. Comorbidity between eating disorders and anxiety disorders: a review. *The International journal of eating disorders*. 2002;32(3):253-70.
21. Hoek HW. Incidence, prevalence and mortality of anorexia nervosa and other eating disorders. *Current opinion in psychiatry*. 2006;19(4):389-94.
22. Lowe B, Zipfel S, Buchholz C, Dupont Y, Reas DL, Herzog W. Long-term outcome of anorexia nervosa in a prospective 21-year follow-up study. *Psychological medicine*. 2001;31(5):881-90.
23. Fichter MM, Quadflieg N, Crosby RD, Koch S. Long-term outcome of anorexia nervosa: Results from a large clinical longitudinal study. *The International journal of eating disorders*. 2017;50(9):1018-30.
24. Razak F, Corsi DJ, Slutsky AS, Kurpad A, Berkman L, Laupacis A, et al. Prevalence of Body Mass Index Lower Than 16 Among Women in Low- and Middle-Income Countries. *JAMA*. 2015;314(20):2164-71.
25. Bruno Estour BG, Natacha Germain. Constitutional thinness. *cahier de nutrition et de diététique*. 2012.
26. Galusca B, Zouch M, Germain N, Bossu C, Frere D, Lang F, et al. Constitutional thinness: unusual human phenotype of low bone quality. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2008;93(1):110-7.
27. Bossu C, Galusca B, Normand S, Germain N, Collet P, Frere D, et al. Energy expenditure adjusted for body composition differentiates constitutional thinness from both normal subjects and anorexia nervosa. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2007;292(1):E132-7.
28. Jacquemont S, Reymond A, Zufferey F, Harewood L, Walters RG, Kutalik Z, et al. Mirror extreme BMI phenotypes associated with gene dosage at the chromosome 16p11.2 locus. *Nature*. 2011;478(7367):97-102.
29. Germain N, Galusca B, Caron-Dorval D, Martin JF, Pujos-Guillot E, Boirie Y, et al. Specific appetite, energetic and metabolomics responses to fat overfeeding in resistant-to-bodyweight-gain constitutional thinness.

Nutr Diabetes. 2014;4(7):e126-e.

30. Eschwege E, Basdevant A, Crine A, Moisan C, Charles MA. Type 2 diabetes mellitus in France in 2012: results from the ObEpi survey. *Diabetes & metabolism*. 2015;41(1):55-61.
31. Chen Y, Jiang Y, Mao Y. Association between obesity and depression in Canadians. *J Womens Health (Larchmt)*. 2009;18(10):1687-92.
32. Vlierberghe LV, Braet C, Goossens L, Rosseel Y, Mels S. Psychological disorder, symptom severity and weight loss in inpatient adolescent obesity treatment. *Int J Pediatr Obes*. 2009;4(1):36-44.
33. Adams RE, Bukowski WM. Peer victimization as a predictor of depression and body mass index in obese and non-obese adolescents. *J Child Psychol Psychiatry*. 2008;49(8):858-66.
34. Berrington de Gonzalez A, Hartge P, Cerhan JR, Flint AJ, Hannan L, MacInnis RJ, et al. Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults. *The New England journal of medicine*. 2010;363(23):2211-9.
35. Orpana HM, Berthelot J-M, Kaplan MS, Feeny DH, McFarland B, Ross NA. BMI and mortality: results from a national longitudinal study of Canadian adults. *Obesity (Silver Spring, Md)*. 2010;18(1):214-8.
36. Wareham NJ, Young EH, Loos RJJ. Epidemiological study designs to investigate gene-behavior interactions in the context of human obesity. *Obesity (Silver Spring, Md)*. 2008;16 Suppl 3(Suppl 3):S66-S71.
37. Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, Lawrence E, Cheetham CH, Prentice AM, et al. Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *The New England journal of medicine*. 1999;341(12):879-84.
38. Zhang X, Gregg EW, Cheng YJ, Thompson TJ, Geiss LS, Duenas MR, et al. Diabetes mellitus and visual impairment: national health and nutrition examination survey, 1999-2004. *Arch Ophthalmol*. 2008;126(10):1421-7.
39. Nasser JA, Gluck ME, Geliebter A. Impulsivity and test meal intake in obese binge eating women. *Appetite*. 2004;43(3):303-7.
40. McGuire MT, Wing RR, Klem ML, Lang W, Hill JO. What predicts weight regain in a group of successful weight losers? *Journal of consulting and clinical psychology*. 1999;67(2):177-85.
41. Spitzer RL, Yanovski S, Wadden T, Wing R, Marcus MD, Stunkard A, et al. Binge eating disorder: its further validation in a multisite study. *The International journal of eating disorders*. 1993;13(2):137-53.
42. Lynch WC, Everingham A, Dubitzky J, Hartman M, Kasser T. Does binge eating play a role in the self-regulation of moods? *Integrative physiological and behavioral science : the official journal of the Pavlovian Society*. 2000;35(4):298-313.
43. Jain A. Treating obesity in individuals and populations. *BMJ (Clinical research ed)*. 2005;331(7529):1387-90.
44. Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW. Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature*. 2006;443(7109):289-95.
45. Berthoud HR. Homeostatic and non-homeostatic pathways involved in the control of food intake and energy balance. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14 Suppl 5:197S-200S.
46. Baroncini M. Morphologie intégrée de l'hypothalamus humain-Application à la fonction de reproduction: Université Lille II; 2008.
47. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Jr., Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature*. 2000;404(6778):661-71.
48. Balland E, Dam J, Langlet F, Caron E, Steculorum S, Messina A, et al. Hypothalamic tanycytes are an ERK-gated conduit for leptin into the brain. *Cell Metab*. 2014;19(2):293-301.
49. Andermann ML, Lowell BB. Toward a Wiring Diagram Understanding of Appetite Control. *Neuron*. 2017;95(4):757-78.
50. Tortora D. Principles of anatomy and physiology: John Wiley and sons.
51. Schaeffer M, Langlet F, Lafont C, Molino F, Hodson DJ, Roux T, et al. Rapid sensing of circulating ghrelin by hypothalamic appetite-modifying neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013;110(4):1512-7.
52. Sainsbury A, Zhang L. Role of the arcuate nucleus of the hypothalamus in regulation of body weight during energy deficit. *Molecular and cellular endocrinology*. 2010;316(2):109-19.
53. Fan W, Boston BA, Kesterson RA, Hruby VJ, Cone RD. Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. *Nature*. 1997;385(6612):165-8.
54. Butler AA, Cone RD. The melanocortin receptors: lessons from knockout models. *Neuropeptides*. 2002;36(2-3):77-84.
55. Challis BG, Pritchard LE, Creemers JWM, Delplanque J, Keogh JM, Luan Ja, et al. A missense mutation disrupting a dibasic prohormone processing site in pro-opiomelanocortin (POMC) increases susceptibility to early-onset obesity through a novel molecular mechanism. *Human molecular genetics*. 2002;11(17):1997-2004.
56. Collin M, Bäckberg M, Ovesjö M-L, Fisone G, Edwards RH, Fujiyama F, et al. Plasma membrane and vesicular glutamate transporter mRNAs/proteins in hypothalamic neurons that regulate body weight. *The*

- European journal of neuroscience. 2003;18(5):1265-78.
57. Hentges ST, Nishiyama M, Overstreet LS, Stenzel-Poore M, Williams JT, Low MJ. GABA release from proopiomelanocortin neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2004;24(7):1578-83.
 58. Clark JT, Kalra PS, Crowley WR, Kalra SP. Neuropeptide Y and human pancreatic polypeptide stimulate feeding behavior in rats. *Endocrinology*. 1984;115(1):427-9.
 59. Ovesjö ML, Gamstedt M, Collin M, Meister B. GABAergic nature of hypothalamic leptin target neurones in the ventromedial arcuate nucleus. *Journal of neuroendocrinology*. 2001;13(6):505-16.
 60. Qian S, Chen H, Weingarh D, Trumbauer ME, Novi DE, Guan X, et al. Neither agouti-related protein nor neuropeptide Y is critically required for the regulation of energy homeostasis in mice. *Mol Cell Biol*. 2002;22(14):5027-35.
 61. Csiffáry A, Göres TJ, Palkovits M. Neuropeptide Y innervation of ACTH-immunoreactive neurons in the arcuate nucleus of rats: a correlated light and electron microscopic double immunolabeling study. *Brain research*. 1990;506(2):215-22.
 62. Cheung CC, Clifton DK, Steiner RA. Proopiomelanocortin neurons are direct targets for leptin in the hypothalamus. *Endocrinology*. 1997;138(10):4489-92.
 63. Benoit SC, Air EL, Coolen LM, Strauss R, Jackman A, Clegg DJ, et al. The catabolic action of insulin in the brain is mediated by melanocortins. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2002;22(20):9048-52.
 64. Jobst EE, Enriori PJ, Cowley MA. The electrophysiology of feeding circuits. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2004;15(10):488-99.
 65. Elmquist JK, Bjorbaek C, Ahima RS, Flier JS, Saper CB. Distributions of leptin receptor mRNA isoforms in the rat brain. *The Journal of comparative neurology*. 1998;395(4):535-47.
 66. Maejima Y, Takahashi S, Takasu K, Takenoshita S, Ueta Y, Shimomura K. Orexin action on oxytocin neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Neuroreport*. 2017;28(6):360-6.
 67. Leibowitz SF. Brain neuropeptide Y: an integrator of endocrine, metabolic and behavioral processes. *Brain research bulletin*. 1991;27(3-4):333-7.
 68. Wirth MM, Olszewski PK, Yu C, Levine AS, Giraud SQ. Paraventricular hypothalamic alpha-melanocyte-stimulating hormone and MTII reduce feeding without causing aversive effects. *Peptides*. 2001;22(1):129-34.
 69. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Jr., Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature*. 2000;404(6778):661-71.
 70. Hu Y, Bloomquist BT, Cornfield LJ, DeCarr LB, Flores-Riveros JR, Friedman L, et al. Identification of a novel hypothalamic neuropeptide Y receptor associated with feeding behavior. *The Journal of biological chemistry*. 1996;271(42):26315-9.
 71. Burdakov D, Gerasimenko O, Verkhatsky A. Physiological changes in glucose differentially modulate the excitability of hypothalamic melanin-concentrating hormone and orexin neurons in situ. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2005;25(9):2429-33.
 72. Brown JA, Woodworth HL, Leininger GM. To ingest or rest? Specialized roles of lateral hypothalamic area neurons in coordinating energy balance. *Frontiers in systems neuroscience*. 2015;9:9.
 73. Berthoud HR, Sutton GM, Townsend RL, Patterson LM, Zheng H. Brainstem mechanisms integrating gut-derived satiety signals and descending forebrain information in the control of meal size. *Physiology & behavior*. 2006;89(4):517-24.
 74. Rolls ET. The functions of the orbitofrontal cortex. *Brain and cognition*. 2004;55(1):11-29.
 75. Kelley AE, Baldo BA, Pratt WE. A proposed hypothalamic-thalamic-striatal axis for the integration of energy balance, arousal, and food reward. *The Journal of comparative neurology*. 2005;493(1):72-85.
 76. Rousseaux M, Muller P, Gahide I, Mottin Y, Romon M. Disorders of smell, taste, and food intake in a patient with a dorsomedial thalamic infarct. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 1996;27(12):2328-30.
 77. Foster-Schubert KE, Cummings DE. Emerging therapeutic strategies for obesity. *Endocrine reviews*. 2006;27(7):779-93.
 78. Cabanac M, Richard D. The nature of the ponderostat: Hervey's hypothesis revived. *Appetite*. 1996;26(1):45-54.
 79. Mattes RD, Friedman MI. Hunger. *Dig Dis*. 1993;11(2):65-77.
 80. Oesch S, Ruegg C, Fischer B, Degen L, Beglinger C. Effect of gastric distension prior to eating on food intake and feelings of satiety in humans. *Physiology & behavior*. 2006;87(5):903-10.
 81. Hoyt EC, Lund PK, Winesett DE, Fuller CR, Ghatei MA, Bloom SR, et al. Effects of fasting, refeeding, and intraluminal triglyceride on proglucagon expression in jejunum and ileum. *Diabetes*. 1996;45(4):434-9.
 82. Kim DH, D'Alessio DA, Woods SC, Seeley RJ. The effects of GLP-1 infusion in the hepatic portal region on food intake. *Regulatory peptides*. 2009;155(1-3):110-4.
 83. Nauck MA, Niedereichholz U, Ettl R, Holst JJ, Orskov C, Ritzel R, et al. Glucagon-like peptide 1 inhibition of gastric emptying outweighs its insulinotropic effects in healthy humans. *Am J Physiol*.

1997;273(5):E981-E8.

84. Turton MD, O'Shea D, Gunn I, Beak SA, Edwards CM, Meeran K, et al. A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature*. 1996;379(6560):69-72.
85. Tang-Christensen M, Vrang N, Larsen PJ. Glucagon-like peptide containing pathways in the regulation of feeding behaviour. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2001;25 Suppl 5:S42-S7.
86. Strader AD, Woods SC. Gastrointestinal hormones and food intake. *Gastroenterology*. 2005;128(1):175-91.
87. Batterham RL, Cowley MA, Small CJ, Herzog H, Cohen MA, Dakin CL, et al. Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature*. 2002;418(6898):650-4.
88. Bruning JC, Gautam D, Burks DJ, Gillette J, Schubert M, Orban PC, et al. Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science*. 2000;289(5487):2122-5.
89. Greenman Y, Golani N, Gilad S, Yaron M, Limor R, Stern N. Ghrelin secretion is modulated in a nutrient- and gender-specific manner. *Clinical endocrinology*. 2004;60(3):382-8.
90. Cummings DE, Foster KE. Ghrelin-leptin tango in body-weight regulation. *Gastroenterology*. 2003;124(5):1532-5.
91. Szentirmai E, Kapás L, Krueger JM. Ghrelin microinjection into forebrain sites induces wakefulness and feeding in rats. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2007;292(1):R575-R85.
92. Moran TH, Kinzig KP. Gastrointestinal satiety signals II. Cholecystokinin. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*. 2004;286(2):G183-8.
93. Bi S, Ladenheim EE, Schwartz GJ, Moran TH. A role for NPY overexpression in the dorsomedial hypothalamus in hyperphagia and obesity of OLETF rats. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2001;281(1):R254-R60.
94. Figlewicz DP, Stein LJ, West D, Porte D, Jr., Woods SC. Intracisternal insulin alters sensitivity to CCK-induced meal suppression in baboons. *Am J Physiol*. 1986;250(5 Pt 2):R856-R60.
95. de Graaf C, Blom WA, Smeets PA, Stafleu A, Hendriks HF. Biomarkers of satiation and satiety. *The American journal of clinical nutrition*. 2004;79(6):946-61.
96. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372(6505):425-32.
97. van Dielen FM, van't Veer C, Schols AM, Soeters PB, Buurman WA, Greve JW. Increased leptin concentrations correlate with increased concentrations of inflammatory markers in morbidly obese individuals. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2001;25(12):1759-66.
98. Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, Lawrence E, Cheetham CH, Prentice AM, et al. Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *N Engl J Med*. 1999;341(12):879-84.
99. Pellemounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science*. 1995;269(5223):540-3.
100. Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ, et al. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell*. 1996;84(3):491-5.
101. Green ED, Maffei M, Braden VV, Proenca R, DeSilva U, Zhang Y, et al. The human obese (OB) gene: RNA expression pattern and mapping on the physical, cytogenetic, and genetic maps of chromosome 7. *Genome research*. 1995;5(1):5-12.
102. Chapelot D, Aubert R, Marmonier C, Chabert M, Louis-Sylvestre J. An endocrine and metabolic definition of the intermeal interval in humans: evidence for a role of leptin on the prandial pattern through fatty acid disposal. *The American journal of clinical nutrition*. 2000;72(2):421-31.
103. Moran TH, Aja S, Ladenheim EE. Leptin modulation of peripheral controls of meal size. *Physiology & behavior*. 2006;89(4):511-6.
104. Bado A, Lévassieur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, et al. The stomach is a source of leptin. *Nature*. 1998;394(6695):790-3.
105. Wang J, Liu R, Hawkins M, Barzilai N, Rossetti L. A nutrient-sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. *Nature*. 1998;393(6686):684-8.
106. Porte D, Jr., Seeley RJ, Woods SC, Baskin DG, Figlewicz DP, Schwartz MW. Obesity, diabetes and the central nervous system. *Diabetologia*. 1998;41(8):863-81.
107. Moon H-S, Dalamaga M, Kim S-Y, Polyzos SA, Hamnvik O-P, Magkos F, et al. Leptin's role in lipodystrophic and nonlipodystrophic insulin-resistant and diabetic individuals. *Endocrine reviews*. 2013;34(3):377-412.
108. Bouret SG, Bates SH, Chen S, Myers MG, Jr., Simerly RB. Distinct roles for specific leptin receptor signals in the development of hypothalamic feeding circuits. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2012;32(4):1244-52.

109. Baumann H, Morella KK, White DW, Dembski M, Bailon PS, Kim H, et al. The full-length leptin receptor has signaling capabilities of interleukin 6-type cytokine receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1996;93(16):8374-8.
110. Minokoshi Y, Alquier T, Furukawa N, Kim Y-B, Lee A, Xue B, et al. AMP-kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus. *Nature*. 2004;428(6982):569-74.
111. Burgos-Ramos E, Chowen JA, Argente J, Barrios V. Regional and temporal differences in leptin signaling in rat brain. *Gen Comp Endocrinol*. 2010;167(1):143-52.
112. Ahima RS. Leptin and the neuroendocrinology of fasting. *Front Horm Res*. 2000;26:42-56.
113. Schwartz MW, Seeley RJ, Campfield LA, Burn P, Baskin DG. Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *The Journal of clinical investigation*. 1996;98(5):1101-6.
114. Elias CF, Lee C, Kelly J, Aschkenasi C, Ahima RS, Couceyro PR, et al. Leptin activates hypothalamic CART neurons projecting to the spinal cord. *Neuron*. 1998;21(6):1375-85.
115. Bouret SG, Simerly RB. Minireview: Leptin and development of hypothalamic feeding circuits. *Endocrinology*. 2004;145(6):2621-6.
116. Luquet S, Magnan C. The central nervous system at the core of the regulation of energy homeostasis. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2009;1:448-65.
117. Le Barzic M. [The syndrome of cognitive restraint: from the nutritional standard to eating disorders]. *Diabetes Metab*. 2001;27(4 Pt 1):512-6.
118. Coppari R, Ichinose M, Lee CE, Pullen AE, Kenny CD, McGovern RA, et al. The hypothalamic arcuate nucleus: a key site for mediating leptin's effects on glucose homeostasis and locomotor activity. *Cell metabolism*. 2005;1(1):63-72.
119. Silva JE. Thyroid hormone control of thermogenesis and energy balance. *Thyroid*. 1995;5(6):481-92.
120. Winston AP. The clinical biochemistry of anorexia nervosa. *Ann Clin Biochem*. 2012;49(Pt 2):132-43.
121. Monteleone P, Maj M. Dysfunctions of leptin, ghrelin, BDNF and endocannabinoids in eating disorders: beyond the homeostatic control of food intake. *Psychoneuroendocrinology*. 2013;38(3):312-30.
122. Schorr M, Miller KK. The endocrine manifestations of anorexia nervosa: mechanisms and management. *Nature reviews Endocrinology*. 2017;13(3):174-86.
123. Kim SF. Animal models of eating disorders. *Neuroscience*. 2012;211:2-12.
124. Chowdhury TG, Chen YW, Aoki C. Using the Activity-based Anorexia Rodent Model to Study the Neurobiological Basis of Anorexia Nervosa. *Journal of visualized experiments : JoVE*. 2015(105):e52927.
125. Wilson JF, Cantor MB. Noise-induced eating in rats facilitated by prior tail pinch experience. *Physiology & behavior*. 1986;37(4):523-6.
126. Shimizu N, Oomura Y, Kai Y. Stress-induced anorexia in rats mediated by serotonergic mechanisms in the hypothalamus. *Physiology & behavior*. 1989;46(5):835-41.
127. Jahng JW. An animal model of eating disorders associated with stressful experience in early life. *Hormones and behavior*. 2011;59(2):213-20.
128. Avraham Y, Hao S, Mendelson S, Bonne O, Berry EM. Diet restriction in mice causes a decrease in hippocampal choline uptake and muscarinic receptors that is restored by administration of tyrosine: interaction between cholinergic and adrenergic receptors influencing cognitive function. *Nutritional neuroscience*. 2001;4(2):153-67.
129. Johansen JE, Fetissov S, Fischer H, Arvidsson S, Hokfelt T, Schalling M. Approaches to anorexia in rodents: focus on the anx/anx mouse. *Eur J Pharmacol*. 2003;480(1-3):171-6.
130. Nilsson IA, Lindfors C, Schalling M, Hokfelt T, Johansen JE. Anorexia and hypothalamic degeneration. *Vitamins and hormones*. 2013;92:27-60.
131. Johansen JE, Broberger C, Lavebratt C, Johansson C, Kuhar MJ, Hokfelt T, et al. Hypothalamic CART and serum leptin levels are reduced in the anorectic (anx/anx) mouse. *Brain research Molecular brain research*. 2000;84(1-2):97-105.
132. Nilsson IA, Thams S, Lindfors C, Bergstrand A, Cullheim S, Hokfelt T, et al. Evidence of hypothalamic degeneration in the anorectic anx/anx mouse. *Glia*. 2011;59(1):45-57.
133. Pfluger PT, Kirchner H, Gunnel S, Schrott B, Perez-Tilve D, Fu S, et al. Simultaneous deletion of ghrelin and its receptor increases motor activity and energy expenditure. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*. 2008;294(3):G610-8.
134. Szczycka MS, Kwok K, Brot MD, Marck BT, Matsumoto AM, Donahue BA, et al. Dopamine production in the caudate putamen restores feeding in dopamine-deficient mice. *Neuron*. 2001;30(3):819-28.
135. Nilsson I.A.K. LC, Hökfelt T., Schalling M., Johansen J.E. *Animal Models of Eating Disorders*: Humana Press, Totowa, NJ; 2013.
136. Berthoud HR, Morrison C. The brain, appetite, and obesity. *Annual review of psychology*. 2008;59:55-92.
137. Pomp D, Nehrenberg D, Estrada-Smith D. Complex genetics of obesity in mouse models. *Annual review of nutrition*. 2008;28:331-45.
138. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse

- obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372(6505):425-32.
139. Ingalls AM, Dickie MM, Snell GD. Obese, a new mutation in the house mouse. *The Journal of heredity*. 1950;41(12):317-8.
140. Black BL, Croom J, Eisen EJ, Petro AE, Edwards CL, Surwit RS. Differential effects of fat and sucrose on body composition in A/J and C57BL/6 mice. *Metabolism*. 1998;47(11):1354-9.
141. Hagan MM, Wauford PK, Chandler PC, Jarrett LA, Rybak RJ, Blackburn K. A new animal model of binge eating: key synergistic role of past caloric restriction and stress. *Physiology & behavior*. 2002;77(1):45-54.
142. Hagan MM, Moss DE. Persistence of binge-eating patterns after a history of restriction with intermittent bouts of refeeding on palatable food in rats: implications for bulimia nervosa. *The International journal of eating disorders*. 1997;22(4):411-20.
143. Moriya J, Takimoto Y, Yoshiuchi K, Shimosawa T, Akabayashi A. Plasma agouti-related protein levels in women with anorexia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*. 2006;31(9):1057-61.
144. Merle JV, Haas V, Burghardt R, Dohler N, Schneider N, Lehmkuhl U, et al. Agouti-related protein in patients with acute and weight-restored anorexia nervosa. *Psychological medicine*. 2011;41(10):2183-92.
145. Lofrano-Prado MC, Prado WL, de Piano A, Tock L, Caranti DA, Nascimento CM, et al. Eating disorders in adolescents: correlations between symptoms and central control of eating behavior. *Eat Behav*. 2011;12(1):78-82.
146. Alkemade A, Yi CX, Pei L, Harakalova M, Swaab DF, la Fleur SE, et al. AgRP and NPY expression in the human hypothalamic infundibular nucleus correlate with body mass index, whereas changes in alphaMSH are related to type 2 diabetes. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2012;97(6):E925-33.
147. Goldstone AP, Unmehopa UA, Bloom SR, Swaab DF. Hypothalamic NPY and agouti-related protein are increased in human illness but not in Prader-Willi syndrome and other obese subjects. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2002;87(2):927-37.
148. Niedzwiedzka B, Jagielska G, Bartoszewicz Z, Kondracka A, Brzozowska A, Karowicz-Bilinska A. [Assessment of neuropeptide Y, leptin and leptin-receptor concentrations in teenagers suffering from anorexia nervosa]. *Ginekologia polska*. 2013;84(4):268-76.
149. Beranova L, Sedlackova D, Kopeckova J, Hainer V, Papezova H, Kvasnickova H, et al. [Neuropeptide Y, ghrelin and leptin plasma levels in anorexia nervosa patients and their changes during six-week refeeding]. *Vnitřní lékařství*. 2009;55(10):925-8.
150. Galusca B, Prevost G, Germain N, Dubuc I, Ling Y, Anouar Y, et al. Neuropeptide Y and alpha-MSH circadian levels in two populations with low body weight: anorexia nervosa and constitutional thinness. *PLoS One*. 2015;10(3):e0122040.
151. Oswiecimska J, Ziora K, Geisler G, Broll-Waska K. Prospective evaluation of leptin and neuropeptide Y (NPY) serum levels in girls with anorexia nervosa. *Neuro endocrinology letters*. 2005;26(4):301-4.
152. Baranowska B, Wolinska-Witort E, Wasilewska-Dziubinska E, Roguski K, Chmielowska M. Plasma leptin, neuropeptide Y (NPY) and galanin concentrations in bulimia nervosa and in anorexia nervosa. *Neuro endocrinology letters*. 2001;22(5):356-8.
153. Gendall KA, Kaye WH, Altemus M, McConaha CW, La Via MC. Leptin, neuropeptide Y, and peptide YY in long-term recovered eating disorder patients. *Biol Psychiatry*. 1999;46(2):292-9.
154. Kaye WH, Berrettini W, Gwirtsman H, George DT. Altered cerebrospinal fluid neuropeptide Y and peptide YY immunoreactivity in anorexia and bulimia nervosa. *Arch Gen Psychiatry*. 1990;47(6):548-56.
155. Sedlackova D, Kopeckova J, Papezova H, Vybiral S, Kvasnickova H, Hill M, et al. Changes of plasma obestatin, ghrelin and NPY in anorexia and bulimia nervosa patients before and after a high-carbohydrate breakfast. *Physiological research*. 2011;60(1):165-73.
156. Strombom U, Krotkiewski M, Blennow K, Mansson JE, Ekman R, Bjorntorp P. The concentrations of monoamine metabolites and neuropeptides in the cerebrospinal fluid of obese women with different body fat distribution. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1996;20(4):361-8.
157. Cheung CC, Clifton DK, Steiner RA. Proopiomelanocortin neurons are direct targets for leptin in the hypothalamus. *Endocrinology*. 1997;138(10):4489-92.
158. Wardlaw SL. Clinical review 127: Obesity as a neuroendocrine disease: lessons to be learned from proopiomelanocortin and melanocortin receptor mutations in mice and men. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001;86(4):1442-6.
159. Branson R, Potoczna N, Kral JG, Lentjes KU, Hoehe MR, Horber FF. Binge eating as a major phenotype of melanocortin 4 receptor gene mutations. *N Engl J Med*. 2003;348(12):1096-103.
160. Fetissov SO, Hallman J, Orelund L, Af Klinteberg B, Grenback E, Hulting AL, et al. Autoantibodies against alpha -MSH, ACTH, and LHRH in anorexia and bulimia nervosa patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2002;99(26):17155-60.
161. Garner DM, Olmsted MP. Scoring the eating disorder inventory. *The American journal of psychiatry*. 1986;143(5):680-1.
162. Fetissov SO, Harro J, Jaanisk M, Jarv A, Podar I, Allik J, et al. Autoantibodies against neuropeptides are associated with psychological traits in eating disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of*

- the United States of America. 2005;102(41):14865-70.
163. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*. 1998;395(6704):763-70.
 164. Focker M, Timmesfeld N, Scherag S, Buhren K, Langkamp M, Dempfle A, et al. Screening for anorexia nervosa via measurement of serum leptin levels. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)*. 2011;118(4):571-8.
 165. Hebebrand J, Muller TD, Holtkamp K, Herpertz-Dahlmann B. The role of leptin in anorexia nervosa: clinical implications. *Molecular psychiatry*. 2007;12(1):23-35.
 166. Haas V, Onur S, Paul T, Nutzinger DO, Bosy-Westphal A, Hauer M, et al. Leptin and body weight regulation in patients with anorexia nervosa before and during weight recovery. *The American journal of clinical nutrition*. 2005;81(4):889-96.
 167. Misra M, Miller KK, Almazan C, Ramaswamy K, Aggarwal A, Herzog DB, et al. Hormonal and body composition predictors of soluble leptin receptor, leptin, and free leptin index in adolescent girls with anorexia nervosa and controls and relation to insulin sensitivity. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89(7):3486-95.
 168. Lob S, Pickel J, Bidlingmaier M, Schaaf L, Backmund H, Gerlinghoff M, et al. Serum leptin monitoring in anorectic patients during refeeding therapy. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2003;111(5):278-82.
 169. Brewerton TD, Lesem MD, Kennedy A, Garvey WT. Reduced plasma leptin concentrations in bulimia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*. 2000;25(7):649-58.
 170. Balligand JL, Brichard SM, Brichard V, Desager JP, Lambert M. Hypoleptinemia in patients with anorexia nervosa: loss of circadian rhythm and unresponsiveness to short-term refeeding. *European journal of endocrinology*. 1998;138(4):415-20.
 171. Adami GF, Campostano A, Cella F, Scopinaro N. Serum leptin concentration in obese patients with binge eating disorder. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002;26(8):1125-8.
 172. Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, et al. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med*. 1995;1(11):1155-61.
 173. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*. 1996;334(5):292-5.
 174. Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR, Ohannesian JP, Opentanova I, Goldman WH, et al. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet*. 1996;348(9021):159-61.
 175. Schwartz MW, Peskind E, Raskind M, Boyko EJ, Porte D, Jr. Cerebrospinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *Nat Med*. 1996;2(5):589-93.
 176. Myers MG, Jr., Leibel RL, Seeley RJ, Schwartz MW. Obesity and leptin resistance: distinguishing cause from effect. *Trends Endocrinol Metab*. 2010;21(11):643-51.
 177. Wittekind DA, Kluge M. Ghrelin in psychiatric disorders - A review. *Psychoneuroendocrinology*. 2015;52:176-94.
 178. Tanaka M, Naruo T, Yasuhara D, Tatebe Y, Nagai N, Shiiya T, et al. Fasting plasma ghrelin levels in subtypes of anorexia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*. 2003;28(7):829-35.
 179. Tanaka M, Nakahara T, Kojima S, Nakano T, Muranaga T, Nagai N, et al. Effect of nutritional rehabilitation on circulating ghrelin and growth hormone levels in patients with anorexia nervosa. *Regulatory peptides*. 2004;122(3):163-8.
 180. Troisi A, Di Lorenzo G, Lega I, Tesauro M, Bertoli A, Leo R, et al. Plasma ghrelin in anorexia, bulimia, and binge-eating disorder: relations with eating patterns and circulating concentrations of cortisol and thyroid hormones. *Neuroendocrinology*. 2005;81(4):259-66.
 181. Misra M, Miller KK, Kuo K, Griffin K, Stewart V, Hunter E, et al. Secretory dynamics of ghrelin in adolescent girls with anorexia nervosa and healthy adolescents. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2005;289(2):E347-56.
 182. Zigman JM, Elmquist JK. Minireview: From anorexia to obesity--the yin and yang of body weight control. *Endocrinology*. 2003;144(9):3749-56.
 183. Gorwood P, Blanchet-Collet C, Chartrel N, Duclos J, Dechelotte P, Hanachi M, et al. New Insights in Anorexia Nervosa. *Front Neurosci*. 2016;10:256.
 184. Geliebter A, Gluck ME, Hashim SA. Plasma ghrelin concentrations are lower in binge-eating disorder. *J Nutr*. 2005;135(5):1326-30.
 185. Soriano-Guillen L, Barrios V, Campos-Barros A, Argente J. Ghrelin levels in obesity and anorexia nervosa: effect of weight reduction or recuperation. *The Journal of pediatrics*. 2004;144(1):36-42.
 186. Tschop M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes*. 2001;50(4):707-9.
 187. Hansen TK, Dall R, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Christiansen JS, et al. Weight loss increases circulating levels of ghrelin in human obesity. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002;56(2):203-6.

188. Monteleone P, Fabrazzo M, Tortorella A, Martiadis V, Serritella C, Maj M. Circulating ghrelin is decreased in non-obese and obese women with binge eating disorder as well as in obese non-binge eating women, but not in patients with bulimia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*. 2005;30(3):243-50.
189. Kaye WH. Neuropeptide abnormalities in anorexia nervosa. *Psychiatry research*. 1996;62(1):65-74.
190. Misra M, Miller KK, Tsai P, Gallagher K, Lin A, Lee N, et al. Elevated peptide YY levels in adolescent girls with anorexia nervosa. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2006;91(3):1027-33.
191. Batterham RL, Cohen MA, Ellis SM, Le Roux CW, Withers DJ, Frost GS, et al. Inhibition of food intake in obese subjects by peptide YY3-36. *N Engl J Med*. 2003;349(10):941-8.
192. Geliebter A, Hashim SA, Gluck ME. Appetite-related gut peptides, ghrelin, PYY, and GLP-1 in obese women with and without binge eating disorder (BED). *Physiology & behavior*. 2008;94(5):696-9.
193. Iepsen EW, Torekov SS, Holst JJ. Therapies for inter-relating diabetes and obesity - GLP-1 and obesity. *Expert Opin Pharmacother*. 2014;15(17):2487-500.
194. Tomasik PJ, Sztéfko K, Starzyk J. 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*. 2004;17(12):1623-31.
195. Carr RD, Larsen MO, Jelic K, Lindgren O, Vikman J, Holst JJ, et al. Secretion and dipeptidyl peptidase-4-mediated metabolism of incretin hormones after a mixed meal or glucose ingestion in obese compared to lean, nondiabetic men. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2010;95(2):872-8.
196. Verdich C, Toubro S, Buemann B, Lysgard Madsen J, Juul Holst J, Astrup A. The role of postprandial releases of insulin and incretin hormones in meal-induced satiety--effect of obesity and weight reduction. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001;25(8):1206-14.
197. Knop FK, Aaboe K, Vilsboll T, Volund A, Holst JJ, Krarup T, et al. Impaired incretin effect and fasting hyperglucagonaemia characterizing type 2 diabetic subjects are early signs of dysmetabolism in obesity. *Diabetes Obes Metab*. 2012;14(6):500-10.
198. Mantzoros CS, Flier JS. Editorial: leptin as a therapeutic agent--trials and tribulations. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2000;85(11):4000-2.
199. Van Heek M, Compton DS, France CF, Tedesco RP, Fawzi AB, Graziano MP, et al. Diet-induced obese mice develop peripheral, but not central, resistance to leptin. *J Clin Invest*. 1997;99(3):385-90.
200. Munzberg H, Bjornholm M, Bates SH, Myers MG, Jr. Leptin receptor action and mechanisms of leptin resistance. *Cell Mol Life Sci*. 2005;62(6):642-52.
201. Lin S, Thomas TC, Storlien LH, Huang XF. Development of high fat diet-induced obesity and leptin resistance in C57Bl/6J mice. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2000;24(5):639-46.
202. Akmayev IG, Fidelina OV. Morphological aspects of the hypothalamic-hypophyseal system. VI. The tanycytes: their relation to the sexual differentiation of the hypothalamus. An enzyme-histochemical study. *Cell Tissue Res*. 1976;173(3):407-16.
203. Rodriguez EM, Blazquez JL, Pastor FE, Pelaez B, Pena P, Peruzzo B, et al. Hypothalamic tanycytes: a key component of brain-endocrine interaction. *Int Rev Cytol*. 2005;247:89-164.
204. Sharif A, S. R. Ojeda and V. Prevot. Neurogenesis and gliogenesis in the postnatal hypothalamus: a new level of plasticity for the regulation of hypothalamic function. *Mammals ESC-BBRi*, editor: Springer Science+Business Media.; 2014.
205. Goodman T, Hajihosseini MK. Hypothalamic tanycytes-masters and servants of metabolic, neuroendocrine, and neurogenic functions. *Front Neurosci*. 2015;9:387.
206. Parkash J, Messina A, Langlet F, Cimino I, Loyens A, Mazur D, et al. Semaphorin7A regulates neuroglial plasticity in the adult hypothalamic median eminence. *Nat Commun*. 2015;6:6385.
207. Frayling C, Britton R, Dale N. ATP-mediated glucosensing by hypothalamic tanycytes. *J Physiol*. 2011;589(Pt 9):2275-86.
208. Elizondo-Vega R, Cortes-Campos C, Barahona MJ, Oyarce KA, Carril CA, Garcia-Robles MA. The role of tanycytes in hypothalamic glucosensing. *J Cell Mol Med*. 2015;19(7):1471-82.
209. Langlet F, Levin BE, Luquet S, Mazzone M, Messina A, Dunn-Meynell AA, et al. Tanycytic VEGF-A boosts blood-hypothalamus barrier plasticity and access of metabolic signals to the arcuate nucleus in response to fasting. *Cell Metab*. 2013;17(4):607-17.
210. Fekete C, Lechan RM. Central regulation of hypothalamic-pituitary-thyroid axis under physiological and pathophysiological conditions. *Endocrine reviews*. 2014;35(2):159-94.
211. Abbott NJ, Ronnback L, Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nat Rev Neurosci*. 2006;7(1):41-53.
212. Neuwelt EA, Bauer B, Fahlke C, Fricker G, Iadecola C, Janigro D, et al. Engaging neuroscience to advance translational research in brain barrier biology. *Nat Rev Neurosci*. 2011;12(3):169-82.
213. Herde MK, Geist K, Campbell RE, Herbison AE. Gonadotropin-releasing hormone neurons extend complex highly branched dendritic trees outside the blood-brain barrier. *Endocrinology*. 2011;152(10):3832-41.
214. Langlet F, Mullier A, Bouret SG, Prevot V, Dehouck B. Tanycyte-like cells form a blood-cerebrospinal

- fluid barrier in the circumventricular organs of the mouse brain. *The Journal of comparative neurology*. 2013;521(15):3389-405.
215. Prager-Khoutorsky M, Bourque CW. Anatomical organization of the rat organum vasculosum laminae terminalis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2015;309(4):R324-37.
 216. Djogo T, Robins SC, Schneider S, Kryzskaya D, Liu X, Mingay A, et al. Adult NG2-Glia Are Required for Median Eminence-Mediated Leptin Sensing and Body Weight Control. *Cell Metab*. 2016;23(5):797-810.
 217. Ciofi P, Garret M, Lapirot O, Lafon P, Loyens A, Prevot V, et al. Brain-endocrine interactions: a microvascular route in the mediobasal hypothalamus. *Endocrinology*. 2009;150(12):5509-19.
 218. Mullier A, Bouret SG, Prevot V, Dehouck B. Differential distribution of tight junction proteins suggests a role for tanycytes in blood-hypothalamus barrier regulation in the adult mouse brain. *The Journal of comparative neurology*. 2010;518(7):943-62.
 219. Ambach G, Palkovits M. Blood supply of the rat hypothalamus. VI. Posterior region of the hypothalamus (nucleus hypothalamicus posterior, nuclei praemammillares, nucleus supramammilaris, mammillary body). *Acta Morphol Acad Sci Hung*. 1979;27(3):169-92.
 220. Langlet F. Tanycytes: a gateway to the metabolic hypothalamus. *Journal of neuroendocrinology*. 2014;26(11):753-60.
 221. De Seranno S, Estrella C, Loyens A, Cornea A, Ojeda SR, Beauvillain JC, et al. Vascular endothelial cells promote acute plasticity in ependymoglial cells of the neuroendocrine brain. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2004;24(46):10353-63.
 222. Giacobini P, Parkash J, Campagne C, Messina A, Casoni F, Vanacker C, et al. Brain endothelial cells control fertility through ovarian-steroid-dependent release of semaphorin 3A. *PLoS Biol*. 2014;12(3):e1001808.
 223. Jais A, Solas M, Backes H, Chaurasia B, Kleinridders A, Theurich S, et al. Myeloid-Cell-Derived VEGF Maintains Brain Glucose Uptake and Limits Cognitive Impairment in Obesity. *Cell*. 2016;166(5):1338-40.
 224. Esser S, Wolburg K, Wolburg H, Breier G, Kurzchalia T, Risau W. Vascular endothelial growth factor induces endothelial fenestrations in vitro. *J Cell Biol*. 1998;140(4):947-59.
 225. Prevot V, Dehouck B, Sharif A, Ciofi P, Giacobini P, Clasadonte J. The Versatile Tanycyte: A Hypothalamic Integrator of Reproduction and Energy Metabolism. *Endocrine reviews*. 2018;39(3):333-68.
 226. Kim DW, Glendining KA, Grattan DR, Jasoni CL. Maternal Obesity in the Mouse Compromises the Blood-Brain Barrier in the Arcuate Nucleus of Offspring. *Endocrinology*. 2016;157(6):2229-42.
 227. Duquenne M, Dehouck B, Prevot V. Programming the Brain from the Womb: Maternal Obesity Perturbs the Hypothalamic Blood-Brain Barrier. *Endocrinology*. 2016;157(6):2201-3.
 228. Scott DE, Sladek JR, Jr. Age related changes in the endocrine hypothalamus: I. Tanycytes and the blood-brain-cerebrospinal fluid barrier. *Neurobiol Aging*. 1981;2(2):89-94.
 229. Carrascosa JM, Ros M, Andres A, Fernandez-Agullo T, Arribas C. Changes in the neuroendocrine control of energy homeostasis by adiposity signals during aging. *Exp Gerontol*. 2009;44(1-2):20-5.
 230. Schneider HJ, Kreitschmann-Andermahr I, Ghigo E, Stalla GK, Agha A. Hypothalamopituitary dysfunction following traumatic brain injury and aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review. *JAMA*. 2007;298(12):1429-38.
 231. Karelina K, Sarac B, Freeman LM, Gaier KR, Weil ZM. Traumatic brain injury and obesity induce persistent central insulin resistance. *Eur J Neurosci*. 2016;43(8):1034-43.
 232. Osterstock G, El Yandouzi T, Romano N, Carmignac D, Langlet F, Coutry N, et al. Sustained alterations of hypothalamic tanycytes during posttraumatic hypopituitarism in male mice. *Endocrinology*. 2014;155(5):1887-98.
 233. Friedman. 20 YEARS OF LEPTIN: Leptin at 20: an overview. *J Endocrinol*. 2014;223.
 234. Banks WA, DiPalma CR, Farrell CL. Impaired transport of leptin across the blood-brain barrier in obesity. *Peptides*. 1999;20(11):1341-5.
 235. Banks WA, Tschop M, Robinson SM, Heiman ML. Extent and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002;302(2):822-7.
 236. Cabral A, De Francesco PN, Perello M. Brain circuits mediating the orexigenic action of peripheral ghrelin: narrow gates for a vast kingdom. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2015;6:44.
 237. Nakai N. Uptake and bidirectional transport of peroxidase injected into the blood and cerebrospinal fluid by ependymal cells of the median eminence: K. Knigge, M., D. Scott, E., H. Kobayashi and S. Ishii. *Basel, Krager*; 1975.
 238. Shin K, Fogg VC, Margolis B. Tight junctions and cell polarity. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2006;22:207-35.
 239. Wells CD, Fawcett JP, Traweger A, Yamanaka Y, Goudreault M, Elder K, et al. A Rich1/Amot complex regulates the Cdc42 GTPase and apical-polarity proteins in epithelial cells. *Cell*. 2006;125(3):535-48.
 240. Faouzi M, Leshan R, Bjornholm M, Hennessey T, Jones J, Munzberg H. Differential accessibility of circulating leptin to individual hypothalamic sites. *Endocrinology*. 2007;148(11):5414-23.
 241. Vauthier V, Derviaux C, Douayry N, Roux T, Trinquet E, Jockers R, et al. Design and validation of a

- homogeneous time-resolved fluorescence-based leptin receptor binding assay. *Anal Biochem.* 2013;436(1):1-9.
242. Niv-Spector L, D. Gonen-Berger, I. Gourdou, E. Biener, E. E. Gussakovsky, Y. Benomar, K. V. Ramanujan, M. Taouis, B. Herman, I. Callebaut, J. Djiane and A. Gertler. Identification of the hydrophobic strand in the A-B loop of leptin as major binding site III: implications for large-scale preparation of potent recombinant human and ovine leptin antagonists. *Biochem J.* 2005;391:221-30.
243. Seifarth C, Schehler B, Schneider HJ. Effectiveness of metformin on weight loss in non-diabetic individuals with obesity. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association.* 2013;121(1):27-31.
244. Cabral A, Valdivia S, Fernandez G, Reynaldo M, Perello M. Divergent neuronal circuitries underlying acute orexigenic effects of peripheral or central ghrelin: critical role of brain accessibility. *J Neuroendocrinol.* 2014;26(8):542-54.
245. Collden G, Balland E, Parkash J, Caron E, Langlet F, Prevot V, et al. Neonatal overnutrition causes early alterations in the central response to peripheral ghrelin. *Mol Metab.* 2015;4(1):15-24.
246. Steculorum SM, Collden G, Coupe B, Croizier S, Lockie S, Andrews ZB, et al. Neonatal ghrelin programs development of hypothalamic feeding circuits. *J Clin Invest.* 2015;125(2):846-58.
247. Gao Y, Tschöp MH, Luquet S. Hypothalamic tanycytes: gatekeepers to metabolic control. *Cell metabolism.* 2014;19(2):173-5.
248. Frank GK, Bailer UF, Henry S, Wagner A, Kaye WH. Neuroimaging studies in eating disorders. *CNS spectrums.* 2004;9(7):539-48.
249. Frank GK, Kaye WH. Positron emission tomography studies in eating disorders: multireceptor brain imaging, correlates with behavior and implications for pharmacotherapy. *Nuclear medicine and biology.* 2005;32(7):755-61.
250. Frank GK, Kaye WH. Current status of functional imaging in eating disorders. *The International journal of eating disorders.* 2012;45(6):723-36.
251. Baroncini M, Jissendi P, Balland E, Besson P, Pruvo JP, Francke JP, et al. MRI atlas of the human hypothalamus. *Neuroimage.* 2012;59(1):168-80.
252. Condon B, Hadley DM. Potential MR hazard to patients with metallic heart valves: the Lenz effect. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI.* 2000;12(1):171-6.
253. Berry I. CE, Lotterie JA, Toux F., Catalaa I. Manelfe C. Nouvelles techniques IRM du parenchyme cérébral. *Encyclopédie médico-chirurgicale.* 2003.
254. F. Heran RD, O. Gout, F. Lafitte, J-D. Piekarski. Imagerie par résonance magnétique pratique à l'usage des neurologues. 2009.
255. Soares DP, Law M. Magnetic resonance spectroscopy of the brain: review of metabolites and clinical applications. *Clinical radiology.* 2009;64(1):12-21.
256. X. Leclerc CD, J-Y. Gauvrit, P. Jissendi, C. Laurent, S. Caron, M. Faivre-Pierret, V. Le Thuc, M. Lernout, J-P. Pruvo. Etude du parenchyme cérébral et des vaisseaux cervicoencéphaliques : nouvelles techniques d'IRM et de scanner. *Neurologie.* 2007.
257. Friederich HC, Walther S, Bendszus M, Biller A, Thomann P, Zeigermann S, et al. Grey matter abnormalities within cortico-limbic-striatal circuits in acute and weight-restored anorexia nervosa patients. *Neuroimage.* 2012;59(2):1106-13.
258. Frank GK, Shott ME, Hagman JO, Yang TT. Localized brain volume and white matter integrity alterations in adolescent anorexia nervosa. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry.* 2013;52(10):1066-75.e5.
259. Via E, Zalesky A, Sanchez I, Forcano L, Harrison BJ, Pujol J, et al. Disruption of brain white matter microstructure in women with anorexia nervosa. *Journal of psychiatry & neuroscience : JPN.* 2014;39(6):367-75.
260. Artmann H, Grau H, Adelman M, Schleiffner R. Reversible and non-reversible enlargement of cerebrospinal fluid spaces in anorexia nervosa. *Neuroradiology.* 1985;27(4):304-12.
261. Ward MA, Carlsson CM, Trivedi MA, Sager MA, Johnson SC. The effect of body mass index on global brain volume in middle-aged adults: a cross sectional study. *BMC Neurol.* 2005;5:23-.
262. Dekkers IA, Jansen PR, Lamb HJ. Obesity, Brain Volume, and White Matter Microstructure at MRI: A Cross-sectional UK Biobank Study. *Radiology.* 2019;291(3):763-71.
263. Raji CA, Ho AJ, Parikshak NN, Becker JT, Lopez OL, Kuller LH, et al. Brain structure and obesity. *Human brain mapping.* 2010;31(3):353-64.
264. Kivipelto M, Ngandu T, Fratiglioni L, Viitanen M, Kåreholt I, Winblad B, et al. Obesity and vascular risk factors at midlife and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 2005;62(10):1556-60.
265. Ohrmann P, Kersting A, Suslow T, Lalee-Mentzel J, Donges US, Fiebich M, et al. Proton magnetic resonance spectroscopy in anorexia nervosa: correlations with cognition. *Neuroreport.* 2004;15(3):549-53.
266. Castro-Fornieles J, Bargallo N, Lazaro L, Andres S, Falcon C, Plana MT, et al. Adolescent anorexia nervosa: cross-sectional and follow-up frontal gray matter disturbances detected with proton magnetic resonance spectroscopy. *J Psychiatr Res.* 2007;41(11):952-8.
267. Godlewska BR, Pike A, Sharpley AL, Ayton A, Park RJ, Cowen PJ, et al. Brain glutamate in anorexia

- nervosa: a magnetic resonance spectroscopy case control study at 7 Tesla. *Psychopharmacology*. 2017;234(3):421-6.
268. Gonzales MM, Tarumi T, Eagan DE, Tanaka H, Vagharia M, Haley AP. Indirect effects of elevated body mass index on memory performance through altered cerebral metabolite concentrations. *Psychosomatic medicine*. 2012;74(7):691-8.
269. Hayes DJ, Lipsman N, Chen DQ, Woodside DB, Davis KD, Lozano AM, et al. Subcallosal Cingulate Connectivity in Anorexia Nervosa Patients Differs From Healthy Controls: A Multi-tensor Tractography Study. *Brain stimulation*. 2015;8(4):758-68.
270. Zhang A, Leow A, Zhan L, GadElkarim J, Moody T, Khalsa S, et al. Brain connectome modularity in weight-restored anorexia nervosa and body dysmorphic disorder. *Psychological medicine*. 2016;46(13):2785-97.
271. Cha J, Ide JS, Bowman FD, Simpson HB, Posner J, Steinglass JE. Abnormal reward circuitry in anorexia nervosa: A longitudinal, multimodal MRI study. *Hum Brain Mapp*. 2016;37(11):3835-46.
272. Frank GK, Shott ME, Riederer J, Pryor TL. Altered structural and effective connectivity in anorexia and bulimia nervosa in circuits that regulate energy and reward homeostasis. *Translational psychiatry*. 2016;6(11):e932.
273. Thomas K, Beyer F, Lewe G, Zhang R, Schindler S, Schönknecht P, et al. Higher body mass index is linked to altered hypothalamic microstructure. *Scientific reports*. 2019;9(1):17373-.
274. Medic N, Kochunov P, Ziauddeen H, Ersche KD, Nathan PJ, Ronan L, et al. BMI-related cortical morphometry changes are associated with altered white matter structure. *International journal of obesity (2005)*. 2019;43(3):523-32.
275. Florent V, Baroncini M, Jissendi-Tchofo P, Lopes R, Vanhoutte M, Rasika S, et al. Hypothalamic structural and functional imbalances in anorexia nervosa. *Neuroendocrinology*. 2019.
276. Baroncini M, Jissendi P, Cateau-Jonard S, Dewailly D, Pruvo JP, Francke JP, et al. Sex steroid hormones-related structural plasticity in the human hypothalamus. *Neuroimage*. 2010;50(2):428-33.
277. Florent V, Baroncini M, Prevot V. [Hypothalamic MRI, a new diagnostic tool in anorexia nervosa?]. *Med Sci (Paris)*. 2020;36(2):115-7.
278. Fenselau H, Campbell JN, Verstegen AM, Madara JC, Xu J, Shah BP, et al. A rapidly acting glutamatergic ARC-->PVH satiety circuit postsynaptically regulated by alpha-MSH. *Nat Neurosci*. 2017;20(1):42-51.
279. Jennings JH, Rizzi G, Stamatakis AM, Ung RL, Stuber GD. The inhibitory circuit architecture of the lateral hypothalamus orchestrates feeding. *Science*. 2013;341(6153):1517-21.
280. Plagemann A, Harder T, Rake A, Melchior K, Rohde W, Dörner G. Hypothalamic nuclei are malformed in weanling offspring of low protein malnourished rat dams. *The Journal of nutrition*. 2000;130(10):2582-9.
281. Bereiter DA, Jeanrenaud B. Altered neuroanatomical organization in the central nervous system of the genetically obese (ob/ob) mouse. *Brain research*. 1979;165(2):249-60.
282. Caron E, Ciofi P, Prevot V, Bouret SG. Alteration in neonatal nutrition causes perturbations in hypothalamic neural circuits controlling reproductive function. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2012;32(33):11486-94.
283. Rodrigues AM, Radominski RB, Suplicy Hde L, De Almeida SM, Niclewicz PA, Boguszewski CL. The cerebrospinal fluid/serum leptin ratio during pharmacological therapy for obesity. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2002;87(4):1621-6.
284. Nam SY, Kratzsch J, Kim KW, Kim KR, Lim SK, Marcus C. Cerebrospinal fluid and plasma concentrations of leptin, NPY, and alpha-MSH in obese women and their relationship to negative energy balance. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001;86(10):4849-53.
285. Padwal R, Leslie WD, Lix LM, Majumdar SR. Relationship Among Body Fat Percentage, Body Mass Index, and All-Cause Mortality: A Cohort Study. *Ann Intern Med*. 2016;164(8):532-41.
286. Global BMIMC. Body-mass index and all-cause mortality: individual-participant-data meta-analysis of 239 prospective studies in four continents. *Lancet*. 2016;388(10046):776-86.
287. Frederich RC, Hamann A, Anderson S, Lollmann B, Lowell BB, Flier JS. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nat Med*. 1995;1(12):1311-4.
288. Briggs DI, Enriori PJ, Lemus MB, Cowley MA, Andrews ZB. Diet-induced obesity causes ghrelin resistance in arcuate NPY/AgRP neurons. *Endocrinology*. 2010;151(10):4745-55.
289. Foretz M, Hebrard S, Leclerc J, Zarrinpashneh E, Soty M, Mithieux G, et al. Metformin inhibits hepatic gluconeogenesis in mice independently of the LKB1/AMPK pathway via a decrease in hepatic energy state. *J Clin Invest*. 2010;120(7):2355-69.
290. Igel LI, Sinha A, Saunders KH, Apovian CM, Vojta D, Aronne LJ. Metformin: an Old Therapy that Deserves a New Indication for the Treatment of Obesity. *Curr Atheroscler Rep*. 2016;18(4):16.
291. Seifarh C, Schehler B, Schneider HJ. Effectiveness of metformin on weight loss in non-diabetic individuals with obesity. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2013;121(1):27-31.
292. Rodriguez Y, Giri M, Feyen E, Christophe AB. Effect of metformin vs. placebo treatment on serum

- fatty acids in non-diabetic obese insulin resistant individuals. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2004;71(6):391-7.
293. Fontbonne A, Diouf I, Baccara-Dinet M, Eschwege E, Charles MA. Effects of 1-year treatment with metformin on metabolic and cardiovascular risk factors in non-diabetic upper-body obese subjects with mild glucose anomalies: a post-hoc analysis of the BIGPRO1 trial. *Diabetes Metab*. 2009;35(5):385-91.
294. Paolisso G, Amato L, Eccellente R, Gambardella A, Tagliamonte MR, Varricchio G, et al. Effect of metformin on food intake in obese subjects. *Eur J Clin Invest*. 1998;28(6):441-6.
295. Mannucci E, Tesi F, Bardini G, Ognibene A, Petracca MG, Ciani S, et al. Effects of metformin on glucagon-like peptide-1 levels in obese patients with and without Type 2 diabetes. *Diabetes Nutr Metab*. 2004;17(6):336-42.
296. Malin SK, Kashyap SR. Effects of metformin on weight loss: potential mechanisms. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2014;21(5):323-9.
297. Aubert G, Mansuy V, Voirol MJ, Pellerin L, Pralong FP. The anorexigenic effects of metformin involve increases in hypothalamic leptin receptor expression. *Metabolism*. 2011;60(3):327-34.
298. Huai L, Wang C, Zhang C, Li Q, Chen Y, Jia Y, et al. Metformin induces differentiation in acute promyelocytic leukemia by activating the MEK/ERK signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;422(3):398-404.
299. Schmalz C. Long-term metformin treatment decreases weight gains in DIO mice which may be a result of retained leptin transport through tanycytes by an ERK-stimulated pathway
- A. 2016.
300. Florent V, Baroncini M, Jissendi-Tchofo P, Lopes R, Vanhoutte M, Rasika S, et al. Hypothalamic structural and functional imbalances in anorexia nervosa. *Neuroendocrinology*. 2019;10.1159/000503147.
301. Mazon JN, de Mello AH, Ferreira GK, Rezin GT. The impact of obesity on neurodegenerative diseases. *Life sciences*. 2017;182:22-8.
302. McGuire MJ, Ishii M. Leptin Dysfunction and Alzheimer's Disease: Evidence from Cellular, Animal, and Human Studies. *Cellular and molecular neurobiology*. 2016;36(2):203-17.
303. King A, Brain A, Hanson K, Dittmann J, Vickers J, Fernandez-Martos C. Disruption of leptin signalling in a mouse model of Alzheimer's disease. *Metabolic brain disease*. 2018;33(4):1097-110.
304. Markowicz-Piasecka M, Sikora J, Szydłowska A, Skupien A, Mikiciuk-Olasik E, Huttunen KM. Metformin - a Future Therapy for Neurodegenerative Diseases : Theme: Drug Discovery, Development and Delivery in Alzheimer's Disease Guest Editor: Davide Brambilla. *Pharmaceutical research*. 2017;34(12):2614-27.
305. Koenig AM, Mechanic-Hamilton D, Xie SX, Combs MF, Cappola AR, Xie L, et al. Effects of the Insulin Sensitizer Metformin in Alzheimer Disease: Pilot Data From a Randomized Placebo-controlled Crossover Study. *Alzheimer disease and associated disorders*. 2017;31(2):107-13.
306. Karlsson J, Persson LO, Sjostrom L, Sullivan M. Psychometric properties and factor structure of the Three-Factor Eating Questionnaire (TFEQ) in obese men and women. Results from the Swedish Obese Subjects (SOS) study. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000;24(12):1715-25.
307. Lesdema A, Fromentin G, Daudin JJ, Arlotti A, Vinoy S, Tome D, et al. Characterization of the Three-Factor Eating Questionnaire scores of a young French cohort. *Appetite*. 2012;59(2):385-90.
308. Lluch A, Kahn J, Stricker-Krongrad A, Ziegler O, Drouin P, Mejean L. Internal validation of a French version of the Dutch eating behaviour questionnaire. *Eur Psychiatry*. 1996;11(4):198-203.
309. Wardle J. Eating style: a validation study of the Dutch Eating Behaviour Questionnaire in normal subjects and women with eating disorders. *J Psychosom Res*. 1987;31(2):161-9.
310. Glueck CJ, Fontaine RN, Wang P, Subbiah MT, Weber K, Illig E, et al. Metformin reduces weight, centripetal obesity, insulin, leptin, and low-density lipoprotein cholesterol in nondiabetic, morbidly obese subjects with body mass index greater than 30. *Metabolism*. 2001;50(7):856-61.
311. van Oosterhout WP, van der Plas AA, van Zwet EW, Zielman R, Ferrari MD, Terwindt GM. Postdural puncture headache in migraineurs and nonheadache subjects: a prospective study. *Neurology*. 2013;80(10):941-8.
312. Horlocker TT, Wedel DJ, Rowlingson JC, Enneking FK, Kopp SL, Benzon HT, et al. Regional anesthesia in the patient receiving antithrombotic or thrombolytic therapy: American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine Evidence-Based Guidelines (Third Edition). *Regional anesthesia and pain medicine*. 2010;35(1):64-101.
313. Titova OE, Hjorth OC, Schioth HB, Brooks SJ. Anorexia nervosa is linked to reduced brain structure in reward and somatosensory regions: a meta-analysis of VBM studies. *BMC psychiatry*. 2013;13(1):110.
314. Kojima S, Nagai N, Nakabeppu Y, Muranaga T, Deguchi D, Nakajo M, et al. Comparison of regional cerebral blood flow in patients with anorexia nervosa before and after weight gain. *Psychiatry research*. 2005;140(3):251-8.
315. Lemaire JJ, Frew AJ, McArthur D, Gorgulho AA, Alger JR, Salomon N, et al. White matter

- connectivity of human hypothalamus. *Brain research*. 2011;1371:43-64.
316. Caron E, Ciofi P, Prevot V, Bouret SG. Alteration in neonatal nutrition causes perturbations in hypothalamic neural circuits controlling reproductive function. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2012;32(33):11486-94.
317. Provencher SW. Automatic quantitation of localized in vivo ¹H spectra with LCModel. *NMR in biomedicine*. 2001;14(4):260-4.
318. Sternson SM, Eiselt AK. Three Pillars for the Neural Control of Appetite. *Annu Rev Physiol*. 2017;79:401-23.
319. Stuber GD, Wise RA. Lateral hypothalamic circuits for feeding and reward. *Nat Neurosci*. 2016;19(2):198-205.
320. Cabral A, Fernandez G, Tolosa MJ, Rey Moggia Á, Calfa G, De Francesco PN, et al. Fasting induces remodeling of the orexigenic projections from the arcuate nucleus to the hypothalamic paraventricular nucleus, in a growth hormone secretagogue receptor-dependent manner. *Molecular metabolism*. 2020;32:69-84.

ANNEXES

I. PUBLICATIONS & COMMUNICATIONS :

A. Articles correspondant au travail de thèse :

Florent V, Baroncini M, Jissendi-Tchofo P, Lopes R, Vanhoutte M, Prevot V, et al.
Hypothalamic structural and functional imbalances in anorexia nervosa
Neuroendocrinology. 2019

Florent V, Baroncini M., Prevot V
L'IRM hypothalamique, un nouvel outil diagnostique dans l'anorexie mentale ?
Médecine/Sciences 2020

Florent V, Baroncini M., Prevot V
Tanycytes hypothalamiques, barrière hématoencéphalique et rôle dans la régulation de l'homéostasie énergétique
Cahier de nutrition et de diététique. 2017

Florent V, Baroncini M, Pigeyre M, Prevot V
From anorexia nervosa to obesity, toward a neurobiological visualization of eating disorders
Revue en préparation

Florent V, Baroncini M, Jissendi-Tchofo P, Lopes R, Vanhoutte M, Prevot V, et al.
Lateral hypothalamic area structural alteration in anorexia nervosa
En préparation

B. Articles hors thématique de thèse :

Vincent FLORENT, Bulle GAUDRAT, Eric PREVOT, Caroline LATTEUX, Ali MROUEH, Kathleen JACQUEZ, Stevan RAKOVIC, Séverine ANDRIEUX
Cardiac rehabilitation for six weeks is associated with functional improvements and reduced visceral fat without changes in body mass index or waist-to-hip ratio
Soumis à JAMA Cardiology

Gaudrat B, Andrieux S., **Florent V**, Rousseau A,
Influence of Psychological Characteristics on Weight-Loss Expectations of Patients Seeking Bariatric Surgery
Bariatric Surgical Practice and Patient Care, December 2018

Ilski A, Vermeulen A, Boutemy S, **Florent V**
Les troubles de la déglutition : du diagnostic à la prise en charge
Information diététique, Janvier 2018

Petit V, Defebvre M, Caron B, **Florent V**, Roussel A, Delbrouque C, Marissal J-P, Puisieux F
La dénutrition dans une population de personnes âgées fragiles : intérêt d'un parcours de soins adapté
La revue de gériatrie, octobre 2017

C. Communications dans des congrès en lien avec la thématique de thèse :

Florent V, Baroncini M, Jissendi-Tchofo P, Lopes R, Vanhoutte M, Rasika S, Pruvo J-P, Vignau J, Johansen J, Pigeyre M, Bouret S, Nilsson I, Prevot V
Impact de l'anorexie mentale sur l'intégrité fonctionnelle et structurelle hypothalamique au cours de la prise alimentaire
Société Française de Neurochirurgie, Saint Malo, Mars 2020 (reporté en octobre 2020), communication affichée sur la thématique de thèse

Florent V, Baroncini M, Jissendi-Tchofo P, Lopes R, Vanhoutte M, Rasika S, Pruvo J-P, Vignau J, Johansen J, Pigeyre M, Bouret S, Nilsson I, Prevot V
Impact de l'anorexie mentale sur l'intégrité fonctionnelle et structurelle hypothalamique au cours de la prise alimentaire
Journées Francophones de Nutrition, Nice, décembre 2018, communication orale séance plénière

Florent V, Baroncini M, Jissendi-Tchofo P, Lopes R, Vanhoutte M, Rasika S, Pruvo J-P, Vignau J, Johansen J, Pigeyre M, Bouret S, Nilsson I, Prevot V
Impact of anorexia nervosa and constitutional leanness on hypothalamic activity in the context of food intake and neuronal connectivity
Keystone Symposia, Neuronal Control of Appetite, Metabolism and Weight, Copenhagen, mai 2017, communication affichée

D. Communications dans des congrès hors thématique de thèse :

Florent V
Prise en charge du patient obèse présentant une HTIC idiopathique
Congrès de la société française de neurochirurgie, St Malo, mars 2020 (reporté en octobre 2020), communication orale

Florent V, Dauchy J, Barbe E, Prevost E, Pepin C, Andrieux S,
Evolution de la composition corporelle et de la fonctionnalité musculaire après 6 semaines de réhabilitation à l'effort chez une population de coronariens et insuffisants cardiaques
Journées Francophones de Nutrition, Rennes, Novembre 2019, communication affichée

Florent V,
Approche nutritionnelle en pré-opératoire dans la chirurgie carcinologique digestive
Congrès des UCOG (Unité de coordination en oncogériatrie), Chantilly, juin 2019, communication orale

Florent V, Iliski A, Petit M, Dubus N, Hoarau M, Gaudrat B, Andrieux S,
Intérêt médico-économique d'un dépistage systématique de la dénutrition par une UTNC
Journées Francophones de Nutrition, Montpellier, décembre 2016, communication affichée

II. PROTOCOLES DE RECHERCHE EN COURS :

A. LEPTOB :

- **Leptinoreistance in obesity** : Etude de la communication de l'hypothalamus avec la périphérie : impact de la metformine sur le transport de la leptine dans le liquide cébrospinal de patients obèses. Etude monocentrique, prospective, de type 1
- Investigateur coordonnateur
- Inclusions en cours : 2019- 2021
- <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03974139?term=leptob&draw=2&rank=1>

B. SIBOB :

- **Small Intestinal bacterial overgrowth obese** : Modifications de la flore digestive après by pass gastrique: étude pilote sur la pullulation microbienne en chromatographie phase gazeuse
- Investigateur coordonnateur
- Inclusions terminées : 2015-2022
- <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02819037?term=sibob&draw=2&rank=1>

C. VERTEXA :

- **Virtual Reality Therapy by Exposition in Anorexia Nervosa** : Evaluation de l'impact d'une thérapie d'exposition à la réalité virtuelle sur le trouble du schéma corporel de patientes anorexiques mentales
- Investigateur coordonnateur
- Rédaction du protocole en cours et recherche de financements



D. RECOVERY :

- **Resting Energy expenditure of the CORONA virus patient in Reanimation context**, dépense énergétique de repos et infection au coronavirus en contexte réanimatoire
- Investigateur coordonnateur
- Soumission CPP en cours

E. REVERSE :

- European randomized placebo-controlled double blind study of the dose effects of a dietary supplement on glucose and lipid homeostasis in subjects with dysglycemia (MERIEUX NUTRISCIENCES)
- Investigateur principal
- Inclusions en cours 2020-2020

RESUME

Titre : Etude de la communication de l'hypothalamus avec la périphérie chez l'Homme : répercussions sur l'activité métabolique cérébrale et le contrôle de l'homéostasie énergétique

Mots Clefs : Hypothalamus, anorexie, obésité, tanocytes, IRM, homéostasie énergétique

Le comportement alimentaire et l'homéostasie énergétique dépendent de l'intégration hypothalamique de signaux périphériques de différentes natures : métaboliques, hormonales. Ce dialogue continu entre la périphérie et le cerveau est indispensable pour le maintien de l'homéostat énergétique et permet ainsi une adéquation entre apports et dépenses caloriques. Malgré ce système finement régulé, des variations significatives de poids peuvent survenir et on observe alors un déséquilibre de la balance énergétique. L'origine de ce désordre est complexe, multifactorielle, avec une composante comportementale expliquant le trouble des conduites alimentaires. L'implication de l'hypothalamus dans ces pathologies est peu étudiée et notamment sa communication avec la périphérie. En effet les mécanismes de transport des signaux hormonaux au travers de l'éminence médiane, véritable porte d'entrée du cerveau, sont défaillants chez le sujet obèse. Le rôle des tanocytes dans le transport de ces signaux dont la leptine est aujourd'hui bien démontrée. Ces cellules gliales spécialisées forment un pont entre les vaisseaux sanguins et le système nerveux central et contrôlent l'accès des hormones périphériques. Or des données récentes montrent qu'une voie de transport au sein des tanocytes est défaillante, pouvant être à l'origine d'une résistance au passage de ces signaux, et mener à un éventuel trouble du comportement alimentaire, de l'anorexie à l'obésité.

Au cours de ma thèse j'ai d'abord examiné comment évoluait *in vivo* l'activation de certaines régions hypothalamiques impliquées dans la régulation de la prise alimentaire en réponse à la faim chez une population de patientes souffrant d'anorexie mentale ou chez des patientes maigres constitutionnelles grâce à des techniques d'IRM métaboliques. Nous avons pu mettre en évidence une inversion de la réponse glutamatergique à la prise alimentaire chez la patiente anorexique associée à un seuil basal plus élevé que les témoins dans la condition de jeûne alors même que l'activation de neurones glutamatergiques dans le noyau arqué hypothalamique et l'aire hypothalamique latérale, deux régions indispensables à la régulation de la prise alimentaire, provoque une perte d'appétit chez la souris nourrie *ad libitum*. De plus nous avons pu montrer que le nombre de fibres nerveuses passant à travers le noyau arqué hypothalamique était considérablement réduit chez la patiente anorexique et mince constitutive reflétant un caractère spécifique au phénotype de la maigreur, ce noyau étant considéré comme le chef d'orchestre de la régulation homéostatique. A l'inverse, l'aire hypothalamique latérale contient plus de fibres nerveuses chez les patientes anorexiques. Enfin des analyses de volumétrie ont permis de constater des variations dans l'ultrastructure hypothalamiques, variations corrélées au poids des sujets.

Ensuite, en miroir de l'anorexie, nous avons souhaité mieux comprendre le phénomène de résistance hormonale à la leptine du sujet obèse. Pour cela j'ai conçu une étude ayant pour objectif de mettre en évidence à la fois des modifications d'imagerie comme dans l'anorexie, mais également neuro-hormonales, de métabolisme, et de comportement alimentaire chez le sujet obèse, à l'issue d'un traitement par metformine. Ce traitement améliore en effet le passage de la leptine dans les tanocytes de l'hypothalamus médio-basal dans un modèle de souris obèses. Les recrutements pour cette seconde étude sont en cours.

L'ensemble de ces données démontrent pour la première fois des anomalies structurelles et fonctionnelles de l'ultrastructure hypothalamique *in vivo* chez la patiente anorexique mentale, avec nous l'espérons, la mise en évidence future de ces anomalies chez le sujet obèse afin de permettre une meilleure compréhension du mécanisme de leptinorésistance chez ces patients.