NNT : 0000AIXM0000

THÈSE DE DOCTORAT

Soutenue à Aix-Marseille Université le 31 janvier 2025 par

Manon BARBOT

Cellules gliales et équilibre énergétique :
rôles des hémicanaux et des jonctions communicantes de Cx43 dans le CVD et l'hypothalamus

Discipline

Biologie Santé

Spécialité

Neurosciences

École doctorale

ED62-Sciences de la vie et de la santé

Laboratoire/Partenaires de recherche

CNRS, UMR7077-Centre de Recherche en Psychologie et Neurosciences

Composition du jury

Clémence BLOUET Reader – Université de Cambridge	Rapporteuse
Corinne LELOUP PU (HDR) – Université de Bourogne	Rapporteuse
Cendra AGULHON CR (HDR) – Université Paris Cité	Examinatrice
Rémi BOS CR (HDR)– Aix-Marseille Université	Examinateur
Franck VIDAL PR (HDR) – Aix-Marseille Université	Président du jury
Jean-Denis TROADEC PU (HDR) – Aix-Marseille Université	Directeur de thèse

Affidavit

Je soussignée, Manon BARBOT, déclare par la présente que le travail présenté dans ce manuscrit est mon propre travail, réalisé sous la direction scientifique de Jean-Denis TROADEC, dans le respect des principes d'honnêteté, d'intégrité et de responsabilité inhérents à la mission de recherche. Les travaux de recherche et la rédaction de ce manuscrit ont été réalisés dans le respect à la fois de la charte nationale de déontologie des métiers de la recherche et de la charte d'Aix-Marseille Université relative à la lutte contre le plagiat.

Ce travail n'a pas été précédemment soumis en France ou à l'étranger dans une version identique ou similaire à un organisme examinateur.

Fait à Marseille, le 20 novembre 2024



Cette œuvre est mise à disposition selon les termes de la Licence Creative Commons Attribution - Pas d'Utilisation Commerciale - Pas de Modification 4.0 International.

Liste des publications et/ou brevets et participation aux conférences

Liste des publications réalisées dans le cadre du projet de thèse :

1. **Barbot M**, Guillebaud F, Barbouche R, Brézun JM, Poirot K, Vasile F, Lebrun B, Rouach N, Dallaporta M, Gaige S, Troadec JD. Blockade of Glial Connexin 43 Hemichannels Reduces Food Intake. Cells. 2020 Oct 31;9(11):2387. doi: 10.3390/cells9112387. PMID: 33142723; PMCID: PMC7693394.

2. Lebrun B, **Barbot M**, Tonon MC, Prévot V, Leprince J, Troadec JD. Glial endozepines and energy balance: Old peptides with new tricks. Glia. 2021 May;69(5):1079-1093. doi: 10.1002/glia.23927. Epub 2020 Oct 26. PMID: 33105065.

3. Troadec JD, Gaigé S, **Barbot M**, Lebrun B, Barbouche R, Abysique A. Glial Modulation of Energy Balance: The Dorsal Vagal Complex Is No Exception. Int J Mol Sci. 2022 Jan 16;23(2):960. doi: 10.3390/ijms23020960. PMID: 35055143; PMCID: PMC8779587.

4. Gaige S, Barbouche R, **Barbot M**, Boularand S, Dallaporta M, Abysique A, Troadec JD. Constitutively active microglial populations limit anorexia induced by the food contaminant deoxynivalenol. J Neuroinflammation. 2022 Nov 19;19(1):280. doi: 10.1186/s12974-022-02631-7. PMID: 36403004; PMCID: PMC9675145.

Participation aux conférences et écoles d'été au cours de la période de thèse :

1. **Barbot M**, Guillebaud F, Gaigé S and Troadec JD. Effects of nutritional status on hypothalamic glial hemichannels activity. *Virtual poster session*, Club des cellules gliales (Neuratris), 18-22 Octobre 2022.

2. **Barbot M**, Guillebaud F, Gaigé S and Troadec JD. Glial communication through connexin 43 and energy intake: a possible link. *Virtual poster session*, Euroglia2021 (European Meeting on Glial Cells in Health and Disease), 05-09 Juillet 2022.

3. **Barbot M**, Guillebaud F, Gaigé S and Troadec JD. Effects of nutritional status on hypothalamic glial hemichannels activity. Virtual poster session, Neurofrance2021 (Société française des Neurosciences), 19-21 mai 2021.

4. Jacob PY, **Barbot M**, Sargolini F, Troadec JD and Rami S. Maternal high-fat diet impacts hippocampal activity and spatial representation in offspring. Oral communication, Neurofrance2021 (Société française des Neurosciences), 19-21 mai 2021.

5. **Barbot M**, Lebrun B, Guillebaud F, Rami S. Troadec JD. Glial communication through connexin 43 in the dorsal vagal complex and energy intake. Poster session, Club des cellules gliales, 23 mai 2023.

6. **Achucarro international Glia School.** Summer school (1 week). *Training course for researchers already working or interested in the field of Glial cells,* mai 2021

Résumé

La gestion du poids corporel est un enjeu de santé publique crucial, alors que le surpoids et l'obésité continuent d'augmenter à travers le monde. Elle résulte d'un équilibre entre les apports énergétiques et les dépenses énergétiques contrôlé par le système nerveux central, notamment par l'hypothalamus et le complexe vagal dorsal (CVD). Longtemps éclipsé par l'attention portée aux neurones, le rôle des cellules gliales dans la régulation de l'équilibre énergétique est aujourd'hui bien établi. Mon projet de thèse vise à mieux comprendre comment les cellules gliales contribuent au maintien de cet équilibre. Mon travail porte sur la connexine 43 (Cx43), une protéine essentielle à la communication gliale. Principalement exprimée par les astrocytes, la Cx43 joue un rôle crucial dans la communication intercellulaire, *via* les jonctions communicantes et les interactions neurogliales par les hémicanaux. Ce projet s'est articulé autour de deux études principales. La première a examiné les effets de l'inhibition des hémicanaux de Cx43 dans l'hypothalamus et le CVD, entraînant une anorexie chez les souris et une activation neuronale dans ces régions. La deuxième étude a porté sur un modèle murin avec réduction de l'expression de la Cx43 spécifiquement dans les astrocytes du CVD, par interférence ARN. Nous avons évalué le profil métabolique de ces animaux dans des conditions d'alimentation standard et sous un régime riche en graisses et en sucres. Si la réduction de la Cx43 a modifié la morphologie gliale, elle n'a entraîné aucune altération significative du phénotype métabolique. Ces résultats soulèvent des questions importantes sur l'existence de mécanismes compensatoires impliquant d'autres types cellulaires ou d'autres voies de communication neurones-glie, ainsi que sur la capacité du CVD à maintenir un contrôle robuste de l'homéostasie énergétique.

Mots clés : Cellules gliales, Astrocytes, Hypothalamus, Complexe Vagal Dorsal, Métabolisme, Obésité, Connexine, Hémicanaux.

Abstract

Body weight management is a critical public health issue, as overweight and obesity rates continue to rise globally. Body weight is determined by the balance between energy intake and energy expenditure, which is controlled by the central nervous system, particularly the hypothalamus and the dorsal vagal complex (DVC). Long overshadowed by the focus on neurons, the role of glial cells in maintaining energy balance is now well recognized. My thesis project aims to better understand how glial cells contribute to the regulation of energy balance. I focus on connexin 43 (Cx43), a key protein involved in glial communication. Cx43 is primarily expressed by astrocytes and plays a crucial role in intercellular communication through gap junctions and neuroglial interactions via hemichannels. This project consisted of two main studies. The first study examined the effects of inhibiting Cx43 hemichannels in the hypothalamus and DVC, which led to anorexia in mice and neuronal activation in these regions. The second study investigated a mouse model with reduced Cx43 expression specifically in DVC astrocytes via RNA interference. We assessed the metabolic profile of these animals under standard feeding conditions and a high-fat, high-sugar diet. Although the reduction in Cx43 altered glial morphology, no significant changes in the metabolic phenotype were observed. These findings raise important questions regarding the existence of compensatory mechanisms involving other cell types or alternative neuron-glia communication pathways, as well as the DVC's ability to ensure the regulation of energy homeostasis.

Keywords : Glial Cells, Astrocytes, Hypothalamus, Dorsal Vagal Complex, Metabolism, Obesity, Connexons, Hemichannels

Remerciements

Au terme de ce parcours de thèse, je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à ce périple inoubliable de ma vie.

Cette gratitude, je souhaite en premier lieu l'exprimer à Jean-Denis Troadec, qui m'a accompagnée depuis l'élaboration de mon projet en Master jusqu'à son aboutissement en tant que directeur de thèse, sept ans plus tard. Merci pour ta confiance, l'autonomie que tu m'as accordée, ton soutien constant dans mes choix, et ton aide inestimable pour la rédaction de ce manuscrit. Grâce à toi, j'ai pu m'investir pleinement dans l'enseignement en mûrissant à chaque prise de décision dans mes recherches.

Au terme de cette recherche, je souhaite témoigner ma reconnaissance à l'équipe BODI qui a toujours été présente pour m'apporter des solutions techniques et du soutien. Je remercie Bruno Lebrun pour son aide inestimable lors du changement de cap de ma thèse, avec le design des AAV, les demandes APAFIS, la gestion des premières cohortes d'animaux, ainsi que l'installation du poste de calorimétrie. Merci de ton implication, dès l'aurore, pour les protocoles du matin, ton aide dans la mise au point des chirurgies, ainsi que pour ta rigueur et ta minutie exemplaires. Je remercie également Anne Abysique et Rym Barbouche, non seulement pour leur expertise précieuse en histologie et en biochimie, pour avoir été des modèles d'enseignants-chercheurs, mais aussi mes « mamans du labo », grâce à leur présence, leur gentillesse, leur bienveillance, et leur espace de libre-expression toujours réconfortant. Anne, tes expressions tantôt créoles, tantôt marseillaises, tantôt d'origines bien mystérieuses, sont devenues de véritables mantras : « à chaque jour suffit sa peine » est parfait pour relativiser après une manip ratée ; « le mieux est l'ennemi du bien » me poursuivra toujours quand je m'acharnerai sur une broutille. Mais rien ne remplacera les appels de fin de journée, sur ton trajet de retour, que j'espère bien prolonger encore un peu ! Je remercie également Stéphanie Rami pour son aide en biologie moléculaire et en OGTT, ainsi que pour m'avoir permis de faire des vacations supplémentaires, et Michel Dallaporta pour m'avoir enseigné le maniement de la pince gouge, que je compte bien continuer à utiliser.

Je remercie aussi toute l'équipe de soutien technique du laboratoire, en particulier Kévin et la plateforme d'histologie, Sabine, Agnès et Isabelle, pour leur aide précieuse dans des moments parfois très chargés en échantillons et analyses. Merci à Patrick Chausson pour son aide dans l'installation de mon poste de tranches aiguës et aux zootechniciens pour leur patience.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à Nathalie Rouach, Cendra Agulhon, et Pierre-Yves Jacob, qui ont participé à mon comité de suivi de thèse et ont su m'orienter par leurs conseils avisés. Cendra m'a soutenue depuis le master, et j'ai eu la chance de bénéficier de sa bienveillance alliée à sa rigueur scientifique. Merci d'avoir accepté d'être membre du jury. Merci à Nathalie Rouach de m'avoir accueillie au Collège de France pour me former aux expériences de capture de EtBr *in situ*. Merci à Pierre-Yves de m'avoir incluse dans un projet innovant « Cellules de lieu et obésité maternelle », de m'avoir fait confiance en début de thèse sur les enregistrements d'électrophysiologie, et pour le souvenir associé à la courte expérience du spike sorting !

Je souhaite également exprimer ma sincère reconnaissance à Clémence Blouet, Corinne Leloup, Rémi Bos et Cendra Agulhon, qui ont accepté de faire partie des membres du jury et ont pris le temps de lire et d'examiner ce manuscrit. Merci pour votre engagement et votre expertise inspirants. Je tiens également à remercier Franck Vidal, qui me fait l'honneur d'être président du jury et qui a accepté cette responsabilité avec disponibilité, même au dernier moment.

Je n'oublie pas que ce projet a vu le jour grâce au soutien d'une bourse MENRT et d'un contrat d'ATER. Cette thèse s'est déroulée au sein du Laboratoire de Neurosciences Cognitives (LNC, UMR7291, AMU, CNRS), devenu en 2024 le Centre de Recherche en Psychologie et Neurosciences (CRPN, UMR7077, AMU, CNRS). Je tiens à saluer la contribution d'Aix-Marseille

Université, de l'ensemble du laboratoire et de sa direction, ainsi que de l'école doctorale ED62 et de son jury. Merci de m'avoir offert cette opportunité.

Tout ce travail n'aurait pas été possible sans le soutien et l'écoute de mon petit cocon en dehors du labo, tant dans les moments difficiles que pour me distraire.

Mes parents ont été un soutien indéfectible et mes interlocuteurs privilégiés à chaque difficulté rencontrée. Merci de m'avoir toujours soutenue et d'avoir été un modèle de pugnacité et de persévérance que je m'efforce de suivre. Merci à mes sœurs, Camille et Maëlle, pour les fous rires inoubliables, les « minutes sciences » gentiment taquinées, les appels confidences, les séances de mise en confiance, les voyages complices entre frangines, et les soirées italiennes. Grâce à vous, je ne me suis jamais sentie loin de la maison, même jusqu'aux dernières corrections du manuscrit et à sa mise en page où votre implication a été précieuse.

Je voudrais également élargir ces remerciements à tout le reste de mon cocon familial : Marie-Noëlle, Gérard, Henri et Giselle, Claudine, Bertrand, Maxime, Bastien, Marie-Christine, André, Vincent, Fred, Fabien, Hamza, Adrien, Ella, Brigitte, Jean-Luc. Merci à chacun d'entre vous pour vos encouragements.

Après sept ans loin de ma Bretagne natale, j'ai eu la chance de faire des rencontres inoubliables. Merci aux copains du labo : Jean-Yves, parce que c'est toujours réconfortant d'avoir un complice face aux pépins inhérents à nos recherches, et parce que, blague à part, tu es un ami formidable ! Célia, pour ton "girl power" explosif, Paul, Nathalie, Régis, Nada, et tous les autres. Merci à Aurélien pour son soutien pendant la pandémie, sa patience face à mes folies biblio, et les playlists qui m'ont accompagnée depuis le master. Merci aux « copains d'abord », pour tous ces week-ends ski, balades, barbecues, et même l'entraînement pour le trail, qui est un si beau projet collectif. Ce super noyau de copains marseillais, dans lequel vous m'avez pleinement intégrée, m'a fait adopter le Sud !

Enfin, merci à Flo de m'avoir toujours encouragée, mais aussi pour m'avoir poussée dans mes retranchements. Tu as été mon partenaire tout au long de cette thèse, d'abord comme camarade de recherche puis comme partenaire de vie. Merci pour ta présence quotidienne et ton soutien inébranlable, surtout dans ton rôle ingrat en tant que première ligne face aux variations d'humeur inhérentes à l'écriture de cette thèse.

Merci à toutes et à tous, du fond du cœur, votre soutien a été inestimable.

PS : Bravo d'être arrivé.e.s jusqu'à la 8e page. Courage, encore quelques centaines !

Table des matières

I. REVUE DE LA LITTÉRATURE 23

I.1 - Comportement alimentaire et homéostasie énergétique 25

I.1.1 - Homéostasie et balance énergétique 25

I.1.1.1 - Régulations et contrôles homéostatiques 25

I.1.1.2 - Balance énergétique et homéostasie énergétique 27

I.1.1.3 - Cadre théorique du contrôle et des régulations associées à la balance énergétique 29

I.1.2 - Généralités sur le comportement alimentaire 38

I.1.2.1 - Organisation temporelle du comportement alimentaire 39

I.1.2.2 - Le comportement alimentaire sous le contrôle du système nerveux central 43

I.1.2.3 - Circuits centraux du comportement alimentaire : une interface dynamique entre besoins et plaisir 45

I.1.3 - Hypothalamus médiobasal et Complexe vagal dorsal : des centres clés du contrôle de la balance énergétique 49

I.1.3.1 - Caractéristiques des centres de contrôle homéostatiques 51

I.1.3.2 - Région tubérale de l'hypothalamus 53

I.1.3.3 - Tronc cérébral caudal et interconnections avec l'hypothalamus médiobasal 55

I.2 - CVD et contrôle de la balance énergétique 61

I.2.1 - Anatomie du CVD 61

I.2.1.1 - Positionnement du CVD 61

I.2.1.2 - Architecture du CVD 61

I.2.1.3 - Diversité neuronale au sein du CVD 64

I.2.2 - Le CVD, un hub reliant les organes périphériques au SNC 66

I.2.2.1 - Relation étroite avec le nerf vague 66

I.2.2.2 - Accès privilégié aux molécules issues du sang 69

I.2.2.3 - Le CVD connecté aux autres régions du SNC 716

I.2.3 - Principales contributions du CVD au contrôle du comportement alimentaire 79

I.2.3.1 - Le CVD et ses connexions périphériques : digestion et régulation des réserves énergétiques 81

I.2.3.2 - Le CVD contrôle l'apport énergétique par la prise alimentaire 84

I.2.3.3 - CVD et homéostasie du glucose 94

I.3 - Cellules gliales du CVD et balance énergétique 101

I.3.1 - Généralité sur les cellules gliales et diversité gliale du CVD 101

I.3.1.1 - Aperçu historique de l'Étude des cellules gliales et fonctions générales 101

I.3.1.2 - Grandes fonctions des cellules gliales du SNC 102

I.3.1.3 - Diversité des cellules gliales du CVD adulte 107

I.3.2 - Les cellules gliales du CVD participent au contrôle de la balance énergétique 113

I.3.2.1 - Vagliocytes et contrôle de la balance énergétique 113

I.3.2.2 - Microglie du CVD et contrôle de la balance énergétique 117

I.3.2.3 - Oligodendrocytes, polydendrocytes du CVD et contrôle de la balance énergétique 118

I.3.2.4 - Astrocytes du CVD et contrôle de la balance énergétique 119

I.3.3 - Réseaux astrocytaires et communication via la connexine 43 133

I.3.3.1 - Généralités sur les Connexines, hémicanaux et jonctions communicantes 133

I.3.3.2 - Connexines gliales 137

II. RÉSULTATS 149

II.1 - Étude 1-Caractérisation de l'expression des connexines dans les centres de la balance énergétique et étude de l'inhibition pharmacologique des hémicanaux dans le contrôle de la balance énergétique 153

II.1.2 - Données supplémentaires 154
II.1.3 - Matériels et Méthodes 155
II.1.4 - Résultats 159

II.2 - Étude 2 : Développement d'un modèle transgénique de délétion de la Cx43 dans les cellules gliales du complexe vagal dorsal et/ou de l'hypothalamus 165

II.2.1 - Matériels et Méthodes 166
II.2.2 - Résultats 174
II.2.2.1 - L'endoxifène nduire une recombinaison homologue dans les astrocytes du CVD et de l'hypothalamus 175
II.2.2.2 - La TAT-Cre permet de cibler les cellules bordant les ventricules cérébraux 175
II.2.2.3 - Délétion de la Cx43 par la TAT-Cre ou d'endoxifène dans l'hypothalamus ou le CVD 179

II.3 - Étude 3 : Effets de la diminution de Cx43 par interférence ARN dans les astrocytes du CVD sur le contrôle de la balance énergétique 186

II.3.1 - Matériels et Méthodes 187
II.3.2 - Résultats 201
II.3.2.1 - L'injection des AAV-shARN permet de réduire l'expression de la Cx43 dans les astrocytes du CVD 201
II.3.2.2 - La réduction de l'expression de la Cx43 n'altère pas le phénotype métabolique chez des souris maintenues sous AO4 202
II.3.2.3 - Effets de la réduction de l'expression de la Cx43 chez des souris nourries avec un régime obésogène 218

III. DISCUSSION 239

III.1 - Étude 1 241

III.1.1 - Expression de la Cx43 dans les astrocytes de l'HYP et du CVD et modulation par l'état nutritionnel 241
III.1.2 - Hémicanaux de l'hypothalamus et du CVD 243
III.1.3 - L'inhibition des Cx43HC diminue la prise alimentaire 244
III.1.4 - Mécanismes possibles sous-jacents à la réduction de l'apport alimentaire 245
III.1.5 - Limites du modèle TAT-Gap19. 247

III.2 - Étude 3 249

III.2.1 - Réduction de l'expression de la Cx43 dans les astrocytes du CVD par interférence ARN 249
III.2.2 - La réduction de l'expression de la Cx43 dans les astrocytes du CVD ne modifie pas l'équilibre énergétique chez les animaux nourris avec un régime standard 250
III.2.3 - La réduction de l'expression de la Cx43 dans un contexte d'obésité induite par l'alimentation ne déstabilise pas l'équilibre énergétique 252
III.2.4 - Compensations possibles 255

III.3 - Discussion générale et perspectives 259

III.3.1 - Comparaison entre les deux études. 259
III.3.2 - Hétérogénéité du compartiment glial 261
III.3.3 - Nécessité d'une meilleure caractérisation des réseaux astrocytaires du CVD 263

IV. BIBLIOGRAPHIE 267

V. PROJETS ANNEXES ET PUBLICATIONS 324

V.1 - Collaboration : Projet Cellules de Lieu et obésité maternelle 325
V.2 - Barbot M, Guillebaud F et al. (2020)_Article 327
V.3 - Gaigé S et al. (2022)_Article 350
V.4 - Lebrun et al. (2020)_Revue de la littérature 351
V.5 - Troadec et al. (2022)_Revue de la littérature 352

Table des figures

I. REVUE DE LA LITTÉRATURE 23

I.1 - Comportement alimentaire et homéostasie énergétique 25

Figure 1 : Contrôles et régulations homéostatiques 26
Figure 2 : Représentation schématiue des trois composantes de la balance énergétique 28
Figure 3 : Modèle général des points de consigne 30
Figure 4 : Hypothèses glucostatique et lipostatique du maintien de la balance énergétique 32
Figure 5 : Modèle de zone de décantation/settling zone pour la régulation du poids corporel 34
Figure 6 : Organisation temporelle du comportement alimentaire, basée sur la cascade de satiété 38
Figure 7 : Cascade de satiété 40
Figure 8 : Prise alimentaire cumulée sur 24h typique d'une souris C57BL/6 40
Figure 9 : Flux d'informations contribuant au contrôle du comportement alimentaire 42
Figure 10 :: Quelques mésoconnexoins impliquées dans le contrôle du comportement alimentaire 46
Figure 11 : Modèle intégré simplifiÉ des circuits alimentaires. 48
Figure 12 : Interfaces sang/cerveau schématisées du tronc cérébral caudal et de l'hypothalamus médiobasal 50
Figure 13 : Réseaux intra-hypothalamiques 52
Figure 14 : L'HYPmb et le CVD, interconnectées et au cœur du contrôle du comportement alimentaire 54

I.2 - CVD et contrôle de la balance énergétique 61

Figure 15 : Situation schématisées du CVD 62
Figure 16 : Populations neuronales du CVD 64
Figure 17 : Schéma simplifié des relations entre le nerf vague et le CVD 68
Figure 18 : Barrière sang-parenchyme du CVD 70
Figure 19 : Voies ascendantes et descendantes du NTS postrémal et caudal 76
Figure 20 : Schématisation des contributions du CVD dans le contrôle des réponses digestives et sécrétoires 82
Figure 21 : Principaux signaux intégrés par le CVD et participant au contrôle de la prise alimentaire 86
Figure 22 : Projections ascendantes du CVD participant au contrôle de la prise alimentaire 92
Figure 23 : Schématisation des contributions du CVD dans le contrôle de l'homéostasie du glucose 96

I.3 - Cellules gliales du CVD et balance énergétique 101

Figure 24 : Résumé des grandes fonctions des cellules gliales 104
Figure 25 : Astrocytes GFAP+ dans le CVD 108
Figure 26 : Représentation schématique de la diversité des populations gliales présentes dans le CVD 110
Figure 27 : Vagliocytes et résumé de leurs fonctions présumées dans le contrôle de la balance énergétique 114
Figure 28 : Modulation des entrées viscérosensorielles par les astrocytes du NTS 120
Figure 29 : Rôle des astrocytes du CVD dans la détection de la glucopénie et réponses contre-régulatrices 124
Figure 30 : Astrocytes du CVD dans le contrôle de la prise alimentaire et des fonctions gastro-intestinale 130
Figure 31 : Topologie et cycle de vie des connexines 135
Figure 32 : Vue d'ensemble des fonctions des jonctions communicantes dans le SNC 140
Figure 33 : Coopéraation des JC et HC pour la propagation des signaux calciques 145

II. RÉSULTATS 149

II.1 - Étude 1-Caractérisation de l'expression des connexines dans les centres de la balance énergétique et étude de l'inhibition pharmacologique des hémicanaux dans le contrôle de la balance énergétique 153

Figure 34 : Absorption de bromure d'éthidium par les hémicanaux du NTS 161

Figure 35 : Activité hémical dans le CVD lors d'un jeûne de 24 h 163

II.2 - Étude 2 : Développement d'un modèle transgénique de délétion de la Cx43 dans les cellules gliales du complexe vagal dorsal et/ou de l'hypothalamus 165

Figure 36 : Constructions génétiques des souris transgéniques utilisées 166

Figure 37 : Tamoxifène et ses métabolites 169

Figure 38 : Induction de CreERT2 dans les astrocytes par des injections icv d'endoxifène dans le 3V ou le 4V 174

Figure 39 : Induction de la recombinaison par la TAT-Cre en bordure des ventricules cérébraux 176

Figure 40 : Délétion de la Cx43 et expression chez les souris GAC 178

Figure 40 : Délétion de la Cx43 et expression chez les souris GAC_suite 180

II.3 - Étude 3 : Effets de la diminution de Cx43 par interférence ARN dans les astrocytes du CVD sur le contrôle de la balance énergétique 186

Figure 41 : Schématisation des protocoles expérimentaux 186

Figure 42 : Composition des vecteurs shARN-Cx43 et shARN-Scramble 190

Figure 43 : Analyse de la morphologie des astrocytes 195

Figure 44 : Analyse de la morphologie des cellules microgliales 195

Figure 45 : Knock-down de la Cx43 dans le CVD. 202

Figure 46 : Croissance pondérale et physiocages chez des souris maintenues sous régime standard 207

Figure 47 : Tests métaboliques chez des souris maintenues sous régime standard AO4. 211

Figure 48 : Tests métaboliques chez des souris maintenues sous régime standard AO4_ Suite 215

Figure 49 : Croissance pondérale, calorimétrie indirecte et OGTT chez des souris sous HFS ou AO4. 221

Figure 50 : OGTT et dosages plasmatiques d'insuline et de leptine 225

Figure 51 : Impact de la réduction de l'expression de la Cx43 sur les astrocytes GFAP+ du NTS/DMNX 231

Figure 52 : Impact de la réduction de l'expression de la Cx43 sur les microglies IBA1+ du NTS/DMNX. 235

Figure 53 : Absence de compensation d'autres connexines astrocytaires 236

III. DISCUSSION 239

Figure 54 : Résumé gaphique de l'étude 1 246

Figure 55 : Régime HFS prolongé de 3 semaines lors d'une réduction de l'expression de la Cx43 252

Figure 56 : Résumé graphique de l'étude 3 257

Liste des tableaux

I. REVUE DE LA LITTÉRATURE 23

I.1 - Comportement alimentaire et homéostasie énergétique 25

Tableau 1 : Principales réponses en phase céphalique 55

Tableau 2 : Principaux signaux intéroceptifs impliqués dans le contrôle du comportement alimentaire 60

I.2 - CVD et contrôle de la balance énergétique 61

Tableau 3 : Quelques molécules circulantes détectées par l'area postrema 71

Tableau 4 Principales connexions entre le CVD et les parties rostrales du SNC 79

I.3 - Cellules gliales du CVD et balance énergétique 101

Tableau 5 : Exemples de molécules qui peuvent ou non librement diffuser au travers de l'AP vers le NTS 115

Tableau 6 : Connexines gliales et complÉmentarité des connexines 136

II. RÉSULTATS 149

II.1 - Étude 1-Caractérisation de l'expression des connexines dans les centres de la balance énergétique et étude de l'inhibition pharmacologique des hémicanaux dans le contrôle de la balance énergétique 153

Tableau 7 : Composition des solutions artificielles de liquide cérébrospinal utilisées 156

II.2 - Étude 2 : Développement d'un modèle transgénique de délétion de la Cx43 dans les cellules gliales du complexe vagal dorsal et/ou de l'hypothalamus 165

Tableau 8 : Coordonnées stéréotaxiques par rapport au Bregma (Étude 2) 168

Tableau 9 : Liste des tampons et des anticorps utilisés dans l'Étude 2 171

Tableau 10 : Séquences des oligonucléotides utilisées (primers) pour les RT-qPCR de l'étude 2 173

Tableau 11 : Effectifs utilisés pour suivis longitudinaux des souris GAC 183

II.3 - Étude 3 : Effets de la diminution de Cx43 par interférence ARN dans les astrocytes du CVD sur le contrôle de la balance énergétique 186

Tableau 12 : Composition des rÉgimes alimentaires utilisÉs dans l'Étude 3. 188

Tableau 13 : AAV et vecteurs shARN-Cx43 et shARN-Scramble. 192

Tableau 14 : Liste des tampons et des anticorps utilisÉs dans l'étude 3. 197

Tableau 15 : Séquences des oligonucléotides utilisées (primers) pour les RT-qPCR de l'étude 3 199

Liste des abréviations et acronymes

Symboles et chiffres

/ : par
[Ca^{2+}]i : concentration intracellulaire d'ions calcium :
°C : degré Celsius
2DG : 2-deoxy-D-glucose
3V : Troisième Ventricule
4-OHT : 4-hydroxytamoxifène
4V : Quatrième Ventricule
α : en immunohistochimie, signifie anti
β-gal : β-galactosidase
µM : micromolaire
µm : micromètre
µL : microlitre

A

AAV : Vecteurs viraux adéno-associés
AgRP : Agouti-Related Peptide
Ai14 : Souris exprimant la tdTomato après recombinaison homologue par la Cre
al. : collaborateurs
AMP : adénosine monophosphate
AMPA :*α-amino-3-hydroxy-5-méthylisoxazol-4-propionate*
AMPAR : Récepteurs AMPA
anti-IgG : dirigé contre les Immunoglobulines G.
AO4 : Granulés alimentaires standards pour rongeurs
AP : Area Postrema
ARC : Noyau arqué de l'hypothalamus (*Arcuate Nucleus*)
ARN : Acide ribonucléique
ARNm : l'ARN messager (*Acide ribonucléique messager*)
ATP : Adénosine Triphosphate
AUC : aire sous la courbe

B

BHE : barrière hémato-encéphalique
Biomol : Biologie moléculaire
BSA : albumine sérique bovine

C

C57BL : souche murine utilisée
Ca^{2+} : Ion calcium
CA1 : aire hippocampique
cal : calories
CalcR : Récepteur à la Calcitonine
CART : *Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript*
CBX : carbenoxolone
cc : canal central
CCK : Cholécystokinine
CD : Cluster of Differentiation (e.g., CD11b, CD16/32, CD68, CD86, CD206)
CeA : amygdale centrale
CGRP : Peptide relié au gène de la calcitonine (*Calcitonin Gene-Related Peptide*)
CJC : Canal/Canaux intercellulaire(s) des jonctions communicantes
CNTF : Facteur Neurotrophique Ciliaire (*Ciliary Neurotrophic Factor*)
CRH : Corticotropin-Releasing Hormone
Ct : *Cycle threshold*
CVD : Complexe Vagal Dorsal
Cx : connexine
Cx43 : Connexine 43
Cx43HC : hémicanal ou hémicanaux de Cx43
Cx43JC : canal/canaux de jonctions communicantes formés de Cx43
$Cx43^{LoxP/LoxP}$: gène Cx43 « floxé »

D

D/V : dorso-ventral
DBI/ACBP : Acyl-CoA-binding protein
DE : dépenses énergétiques
DMH : Noyau dorsomédial de l'hypothalamus (*Dorsomedial Hypothalamus*)
DMNX : Noyau moteur dorsal du nerf vague **DON** : déoxynivalénol
DREADD : *Designer Receptor Exclusively Activated by Designer Drugs*.
Drp1 : dynamine 1

E

EAAT : Transporteurs d'acides aminés excitateur (*Excitatory Amino Acid Transporters*)
EGFP : protéine fluorescente verte
ELISA : *Enzyme-linked immunosorbent assay*
EM : éminence médiane
Endox : Endoxifène
EPSC : courants excitateurs postsynaptiques (*Excitatory Postsynaptic Currents*)
ERK/MAPK : Extracellular signal-Regulated Kinase / Mitogen-Activated Protein Kinase
ERT2 : récepteur œstrogénique modifié
Et100 : éthanol absolu
EtBr : bromure d'éthidium

F

FAC : fluoroacétate
FC : Fluorocitrate
Feeding bouts : Séquences ininterrompues de consommation alimentaire
fs : *funiculus separens*

G

g : gramme
G : gauge
GABA : Acide Gamma-Aminobutyrique
GAP19 : peptide mimétique bloquant sélectivement les hémicanaux de la connexine 43
GAP26 : peptide mimétique de la Cx43 (principalement hémicanaux).
GAP27 : peptide mimétique de la Cx43 (principalement hémicanaux).
GAPDH : Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
GE : neurones excités par le glucose (*Glucose-Excited*)
GFAP : Protéine acide fibrillaire gliale (*Glial Fibrillary Acidic Protein*)
GFP : Protéine fluorescente verte (*Green Fluorescent Protein*)
GFRAL : *Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Family Receptor Alpha-Like*
GI : neurones inhibés par le glucose (*Glucose-Inhibited*)
Gjb2 : gène codant pour la connexine 26
Gjb6 : gène codant pour la connexine 30
Gja1 : gène codant pour la connexine 43
Gjc1 : gène codant pour la connexine 45
GLAST : Transporteur de glutamate-aspartate, autre nom pour EAAT1 (*Glutamate Aspartate Transporter*)
GLP-1 : *Glucagon-Like Peptide-1*
GLP-1R : Récepteur du Glucagon-Like Peptide-1
GLT-1 : Transporteur de glutamate 1, autre nom pour EAAT2 (*Glutamate Transporter-1*)
GLUT : Transporteur du glucose (*Glucose Transporter*)

H

h : heure
HC : Hémicanal/Hémicanaux
HFD : Régime riche en graisses (*High Fat Diet*)
HFS : Régime enrichi en graisses et en sucres
Histo : Histologie
HRP : peroxydase de raifort Hsd11b2 : Hydroxysteroid 11-Beta Dehydrogenase 2
HYP : hypothalamus
HYPmb : Hypothalamus médiobasal (*Mediobasal Hypothalamus*)

I

Iba1 : Ionized Calcium-Binding Adapter Molecule 1
icv : injection intracérébroventriculaire
IHC : immunohistochimie
IP3 : Inositol 1,4,5-Trisphosphate
ip : injection intrapéritonéale

J

Jak-Stat : Janus Kinase-Signal Transducer and Activator of Transcription (voie de signalisation)
JC : Jonction Communicante

K

[K^+]e : potassium extracellulaire
KD : knockdown (reduction de l'expression génique, ici induite par interférence ARN)
kDa : kilodalton
KO : knock-out (délétion génétique, absence d'expression)

L

LCS : Liquide cérébrospinal
LCSa : liquide cérébrospinal artificiel
LepR : Récepteur à la Leptine
LHA : Aire hypothalamique latérale de l'hypothalamus
lPBN : noyau parabrachial latéral
LPS : Lipopolysaccharide

M

M/L : médio-latéral
MC3R : Récepteur des Mélanocortines de Type 3 (*Melanocortin 3 Receptor*)
MC4R : Récepteur des Mélanocortines de Type 4 (*Melanocortin 4 Receptor*)
MCT : Transporteurs de monocarboxylates, tels que le lactate (Monocarboxylate Transporters)
mGluR : métabotropiques du glutamate
min : minutes
M : molaire
mm : millimètres
MS : méthionine sulfoximine
MSH : Mélanocyte-Stimulating Hormone (Hormone Stimulante des Mélanocytes)
mV : millivolts
MW : poids moléculaire

N

NBDG : N-(7-Nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino ; analogue du glucose
NaCl : Chlorure de sodium
NaH_2PO_4 : Dihydrogénophosphate de sodium
NC : Régime standard (*normal chow)*
ng : nanogramme
NG2 : Neuron-Glial Antigen 2 (Protéoglycane sulfate de chondroïtine)
NGS : serum de chèvre
NPY : Neuropeptide Y
NTS : Noyau du Tractus Solitaire
$NTS^{GLP\text{-}1R}$: Neurones exprimant les récepteurs du GLP-1 dans le NTS
NTS^{CCK} : Neurones exprimant la Cholécystokinine dans le NTS
NTS^{POMC} : Neurones du NTS exprimant la Proopiomélanocortine
NTS^{PPG} : Neurones du NTS exprimant le Préproglucagon

N

nL : nanolitre
nm : nanomètre
NMDA : Récepteurs N-méthyl-D-aspartate
NO : Monoxyde d'Azote
NTSTH : Neurones du NTS exprimant la Tyrosine Hydroxylase
NTS^{SST} : Neurones du NTS exprimant la Somatostatine

O

OCV : Organes circumventriculaires
ODN : octadécaneuropeptide
OGTT : tests de tolérance orale au glucose (*Oral Glucose Tolerance Test)*
OPC : Cellules Précurseurs des Oligodendrocytes (*Oligodendrocyte Precursor Cells*)
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
OXT : Ocytocine

P

p : p-value
P2 : recepteur purinergique
P2X : recepteur ionotropique des purines
P2Y : recepteur métabotropique des purines
PA : Prise alimentaire
Panx1 : Pannexine 1
PB : Tampon phosphate
pb : paires de bases
PBN : Noyau parabrachial (*Parabrachial Nucleus*)
PBS : Tampon phosphate salin
PBN^{CGRP} : Neurones du Noyau Parabrachial exprimant le *Calcitonin Gene-Related Peptide*
PFA : paraformaldéhyde
pH : pondus Hydrogenium
PLC : Phospholipase C
POMC : Pro-opiomélanocortine
PPG : Préproglucagon
PVN : Noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (*Paraventricular Nucleus*)
PVN^{OXT} : Neurones du PVN exprimant l'Ocytocine
PVN^{TRH} : Neurones du PVN exprimant la *Thyrotropin-Releasing Hormone*
PYY : Peptide YY

Q-R

qPCR : réaction de polymérase en chaine quantitative
RE : Réticulum Endoplasmique
QR : quotient respiratoire
RT : réaction de transcription inverse

S

S100β : Protéine S100B (Protéine chélatrice du calcium, exprimée dans les astrocytes)
sc : sous-cutanée
SDS : dodécylsulfate de sodium
SEM : standard error of the mean
Ser368 : phospho-connexine 43
set-point : Valeur consigne
ShARN : molécules d'ARN synthétiques conçues pour induire un knockdown
ShARN-Cx43 : interférence ARN contre la connexine 43
shARN-Scramble : molécules d'ARN synthétiques qui n'induit pas de knockdown
siARN : molécules d'ARN synthétiques conçues pour induire un knockdown
SNC : Système Nerveux Central
SNP : Système Nerveux périphérique
snRNA : Séquençage ARN de Noyaux Isolés
SNS : Système Nerveux Sympathique
STAT : *Signal Transducer and Activator of Transcription*

T

TAT : *Trans-Activator of Transcription*
TAT-Gap19 : peptide mimétique bloquant spécifiquement l'ouverture des hémicanaux de Cx43 et couplé à la séquence TAT.
TAT-Cx43L2 : Peptide mimétique spécifique des hémicanaux Cx43
TBST : Tris-0,1 % Tween 20
TCc : Tronc cérébral caudal
tdTomato : protéine fluorescente rouge
TH : Tyrosine Hydroxylase
TMEM119 : Transmembrane Protein 119
TRH : Hormone de libération de la thyréotropine (*Thyrotropin-Releasing Hormone*)
TS : Tractus solitaire
Tx : triton (immunohistochimie)

V

Ve, VIIe, IX : Nerfs crâniens (respectivement trijumeau, facial et glossopharyngien)
V : volt
VCO_2 : production de dioxyde de carbone
VLM : Médulla ventrolatérale
VMH : Noyau ventromédian de l'hypothalamus (*Ventromedial Hypothalamus*)
VO_2 : consommation d'oxygène.

W-Z

X : Nerf Vague (Dixième paire de nerfs crâniens)
XII : noyau hypoglosse (noyau de la XIIe paire de nerfs crâniens)
ZT : Zeitgeber Time.

Préambule et structure du manuscrit

Les rapports internationaux, tels que L'État de la sécurité alimentaire et de la nutrition dans le monde 2024 (FAO et al., 2024), les rapports de suivi des progrès des maladies non transmissibles de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2022), ou le rapport Alimentation, planète Santé de la commission EAT-Lancet (Phelps et al., 2024), sont unanimes : la population mondiale souffrant de déséquilibres nutritionnels est en pleine croissance. Le constat dressé en 2022 est alarmant : alors que la famine recule selon des projections parfois optimistes, l'obésité progresse de manière inquiétante. Depuis quelques années, la majorité de la population mondiale vit dans des pays où le surpoids ou l'obésité causent plus de décès que l'insuffisance pondérale (OMS, 2022). Tandis qu'une ambition de développement durable des Nations Unies comme "faim zéro à l'horizon 2030" (Fao, 2023) reste plausible, il semble inconcevable de fixer un objectif similaire pour l'obésité, qui constitue une épidémie complexe en expansion. Depuis 1990, le taux d'obésité a plus que doublé chez les adultes et quadruplé chez les enfants et adolescents. La commission EAT-Lancet estime qu'en 2022, plus d'un milliard de personnes étaient obèses, soit 1 personne sur 8 : 879 millions d'adultes et 159 millions d'enfants et adolescents (Phelps et al., 2024).

Selon l'OMS, l'obésité est une « maladie chronique complexe, définie par une accumulation excessive de tissu adipeux nuisant à la santé ». Elle est associée à un large éventail de comorbidités, principalement des maladies métaboliques comme le diabète de type 2 et des maladies cardiovasculaires (hypertension, insuffisance cardiaque, risque accru d'accident vasculaire cérébral), ainsi que des troubles respiratoires (troubles du sommeil, asthme), gastro-intestinaux (maladie du foie gras non alcoolique, reflux gastro-oesophagien), musculo-squelettiques, endocriniens (dont une diminution de la fertilité) et des cancers (sein, endomètre, colon, foie, rein, etc,.Aronne, 2002). L'obésité peut aussi être associée à des problèmes de santé mentale tels que la dépression et l'anxiété, exacerbés par la stigmatisation sociale (Luppino et al., 2010). L'OMS estime que 2,8 millions de personnes meurent chaque année des suites de l'obésité[1]. À cela s'ajoute un impact économique important : la World Obesity Federation[2] anticipe que, d'ici 2060, le coût économique lié au surpoids et à l'obésité pourrait dépasser 3 % du PIB mondial.

L'accumulation de tissu adipeux, caractéristique de l'obésité, résulte d'un déséquilibre énergétique entre l'apport calorique et la dépense énergétique. Les modes de vie dans les pays développés et en développement ont subi des changements drastiques en termes d'habitudes alimentaires et d'activité physique (Bhurosy & Jeewon, 2014; Peters et al., 2002). Nos activités deviennent de plus en plus sédentaires (Silveira et al., 2022), tandis que l'accès à des portions alimentaires plus grandes et à des aliments énergétiquement denses est facilité (Livingstone & Pourshahidi, 2014). Ces changements ont modifié les déterminants de la prise alimentaire et sont considérés comme l'un de l'augmentation de l'obésité depuis les années 1970 (Westbury et al., 2023).

Cependant, les mécanismes précis à l'origine de ces déséquilibres énergétiques restent encore mal compris. Dans des conditions physiologiques, le système nerveux central (SNC) intègre des informations provenant des organes périphériques (intestin, foie, pancréas, tissu adipeux ; voir Kim et al. (2018) pour une revue) sur l'état nutritionnel et les besoins énergétiques, ainsi que des facteurs environnementaux, puis ajuste le comportement alimentaire et les dépenses énergétiques pour maintenir un poids corporel stable. Deux régions du SNC, l'hypothalamus médiobasal (HYPmb) et le complexe vagal dorsal (CVD) situé dans le tronc cérébral, sont spécialisés dans ces ajustements. Ces régions sont interconnectées avec d'autres régions impliquées dans les contrôles cognitifs et la motivation qui participent aussi au contrôle de l'appétit. Dans le cadre de l'obésité et du diabète, l'ensemble de ces régions présente des

[1] Lien vers le site de l'OMS : https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight

[2] Lien vers le site de la World Obesity Federation : https://data.worldobesity.org/economic-impact-new/

dysfonctionnements, souvent d'origine multifactorielle, incluant des environnements obésogènes, des facteurs psychosociaux et des prédispositions génétiques (Blüher, 2019; Locke et al., 2015). Malgré une recherche intense dans le domaine, il reste difficile de comprendre précisément comment les facteurs externes (environnement) et internes (prédispositions génétiques et interactions corps-cerveau) interagissent en perturbant durablement les fonctions cérébrales. En conséquence, les stratégies pour lutter efficacement et durablement contre l'obésité restent limitées (Blüher et al., 2023).

Mon projet de thèse est un projet de recherche fondamentale visant à mieux comprendre le contrôle de l'équilibre énergétique par le SNC, tant en conditions physiologiques que pathologiques. L'objectif principal de ce travail est de m'investir dans un effort collectif international pour mieux comprendre les dysfonctionnements associés aux pathologies métaboliques, et ainsi contribuer à leur prévention et à l'amélioration des stratégies de traitement.

PLAN SYNTHÉTIQUE

I

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 - Comportement alimentaire et homéostasie

I.2 - Complexe vagal dorsal et régulation de l'équilibre énergétique

I.3 - Cellules gliales du CVD et équilibre énergétique

II

RÉSULTATS

II.1 - Etude 1 : Caractérisation de l'expression des connexines dans les centres de la balance énergétique et étude de l'inhibition pharmacologique des hémicanaux dans le contrôle de la balance énergétique.

II.2 -Etude 2 : Développement d'un modèle transgénique de délétion de la Cx43 dans les cellules gliales du CVD et /ou de l'HYP.

II.3 - Etude 3 : Effets de la réduction d'expression de la Cx43 dans les astrocytes du CVD, chez des souris nourries avec un régime standard ou obésogène.

III

DISCUSSION

III.1 - Caractérisation de l'expression des connexines dans les centres de la balance énergétique et étude de l'inhibition pharmacologique des hémicanaux dans le contrôle de la balance énergétique.

III.2 - Effets de la réduction d'expression de la Cx43 dans les astrocytes du CVD, chez des souris nourries avec un régime standard ou obésogène.

III.3 - Comparaison des deux études 4 - Perspective et discussion générale

IV

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES & PROJETS ANNEXES

SECTION	DESCRIPTION
PARTIE 1 : REVUE DE LA LITTERATURE	
1.1. Comportement alimentaire et homéostasie énergétique	Quels facteurs influencent le comportement alimentaire ? Comment est-il possible d'ajuster sa prise alimentaire à ses besoins énergétiques ? La section établit le cadre théorique du contrôle du comportement alimentaire, en survolant les mécanismes qui sous-tendent un équilibre énergétique. Elle offre un aperçu du rôle du SNC dans le contrôle de l'appétit, en mettant particulièrement l'accent sur les deux régions cérébrales étudiées dans le cadre de ma thèse : l'hypothalamus (HYP) et le tronc cérébral caudal.
1.2. CVD et régulation de la balance énergétique	Comment le CVD du tronc cérébral peut-il influencer l'équilibre énergétique ? La section met en lumière une région cérébrale souvent négligée dans l'étude du comportement alimentaire et son rôle crucial dans la digestion le contrôle de la prise alimentaire, et de l'homéostasie du glucose. Elle souligne les avancées récentes dans la caractérisation des différentes populations neuronales de cette région impliquées, tout en révélant les lacunes qui persistent dans la compréhension des mécanismes qui sous-tendent un contrôle de l'équilibre énergétique.
1.3. Cellules gliales du CVD et balance énergétique	Les cellules gliales émergent comme des acteurs centraux dans l'intégration des signaux métaboliques et le maintien de l'équilibre énergétique. Dans le CVD, leur remarquable diversité et leurs interactions étroites avec les réseaux neuronaux, permettent de formuler de nouvelles hypothèses sur les mécanismes permettant de contrôler l'équilibre énergétique. Parmi ces cellules, les astrocytes sont particulièrement sensibles aux variations du statut nutritionnel, jouant potentiellement un rôle protecteur ou, au contraire, délétère en cas de déséquilibre alimentaire. Ce sont ces cellules que j'ai étudiées pendant ma thèse, avec l'hypothèse qu'une altération de la communication de ces cellules entre elles et avec les autres cellules voisines pourrait modifier le contrôle de l'équilibre énergétique. Dans ce contexte, mon travail s'est concentré sur la connexine 43 (Cx43), une protéine clé dans la communication gliale. La fin de cette section décrit comment cette protéine permet une communication intercellulaire des réseaux gliaux, ainsi que des interactions neurogliales en permettant la libération de molécules neuroactives.

PARTIE 2 : RESULTATS

Cette partie compile les données publiées et non publiées obtenues dans le cadre de ce projet de thèse. Elle inclut aussi les protocoles expérimentaux utilisés dans chacune des trois études de ce projet.

2.1. Caractérisation de l'expression des connexines dans les centres de la balance énergétique et étude de l'inhibition pharmacologique des hémicanaux dans le contrôle de la balance énergétique.	Cette étude a permis de caractériser l'expression des connexines dans l'hypothalamus (HYP) et le CVD chez des souris adultes, dans des conditions d'alimentation standard et lors d'une modification du statut nutritionnel et d'évaluer l'activité des hémicanaux au sein de ces deux structures. Cette caractérisation nous a amené à nous focaliser sur les hémicanaux de Cx43. Nous avons testé *in vivo* l'effet de l'inhibition pharmacologique spécifique des hémicanaux de Connexine 43 (Cx43) sur le comportement alimentaire et l'activation neuronale au sein de l'HYP et du CVD. Ces résultats, publiés, apportent les premières preuves de l'implication des hémicanaux de Cx43 dans le contrôle de la prise alimentaire et suggèrent que les cellules gliales de l'HYP et du CVD libèrent de manière tonique des composés orexigènes.
2.2. Développement d'un modèle transgénique de délétion de la Cx43 dans les cellules gliales du CVD et /ou de l'hypothalamus.	La seconde étude adopte une approche plus méthodologique, visant à compléter l'approche pharmacologique par un ciblage de la Cx43 restreint à une région ou une population cellulaire spécifique. Nous avons élaboré plusieurs stratégies pour cibler les cellules gliales du CVD et de l'HYP chez des souris transgéniques. La délétion de la Cx43 avec le modèle murin que vous avons développé, inadaptée en raison de l'hypomorphisme de cette lignée pour la Cx43, nous a amenés à reconsidérer notre stratégie.
3.3 Effets de la diminution de Cx43 par interférence ARN dans les astrocytes du CVD sur le contrôle de la balance énergétique.	Cette étude a ciblé les astrocytes du CVD. En utilisant l'interférence ARN, nous avons réduit l'expression de Cx43 dans les astrocytes puis déterminé l'impact fonctionnel de cette réduction d'expression de la Cx43 dans le CVD sur la balance énergétique, chez des souris soumises à un régime standard ou obésogène. Malgré une délétion très significative de la Cx43 gliale, l'ensemble de ces tests n'a pas mis en évidence de phénotype métabolique modifié.

PARTIE 3 : DISCUSSION

Les résultats des études 1 et 3 sont d'abord analysés séparément, puis confrontés pour identifier les points de convergence et de divergence. L'ensemble des données est ensuite replacé dans un cadre scientifique plus large, en soulevant les questions qui demeurent pour approfondir notre compréhension du rôle des cellules gliales dans le contrôle de la balance énergétique.

I REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 Comportement alimentaire et homéostasie

I.1.1 - Homéostasie et balance énergétique

I.1.2 - Généralités sur comportement alimentaire

I.1.3 - Contrôle central de la balance énergétique

I.1.4 - Conclusion

I.2 Complexe vagal dorsal et régulation de l'équilibre énergétique

I.2.1 - Anatomie du CVD

I.2.2 - Le CVD un hub reliant les organes périphériques au SNC

I.2.3 - Principales contributions du CVD au contrôle du comportement alimentaire

I.2.4 - Conclusion

I.3 Cellules gliales du CVD et équilibre énergétique

I.3.1 - Généralité sur les cellules gliales et diversité gliale du CVD

I.3.2 - Les cellules gliales du CVD participent au contrôle de la balance énergétique

I.3.3 - Réseaux astrocytaires et communication via la Cx43

I.3.4 - Conclusion

I.1 - Comportement alimentaire et homéostasie énergétique

Cette première section a pour objectif de poser le cadre théorique du contrôle du comportement alimentaire. Elle met en lumière l'une des principales difficultés de la lutte contre l'obésité : la méconnaissance des mécanismes sous-jacents. Qu'est-ce qui contrôle la prise alimentaire ? Comment le poids corporel est-il maintenu ? Comment les dépenses énergétiques sont-elles ajustées ? Ces questions sont essentielles pour comprendre les troubles métaboliques, dont l'obésité, et développer des traitements efficaces.

I.1.1 - Homéostasie et balance énergétique

I.1.1.1 - Régulations et contrôles homéostatiques

L'homéostasie est la tendance d'un organisme à maintenir un état interne relativement stable malgré les fluctuations incessantes de l'environnement extérieur. Walter Bradford Cannon l'a nommé pour la première fois en 1925, en observant la remarquable constance de variables physiologiques, telles que la température corporelle ou la concentration de glucose dans le sang (Cannon, 1926). Ce concept a été rapidement adopté comme l'un des fondements de la physiologie et de la biologie (Billman, 2020). Cannon a largement été influencé par les idées de Claude Bernard qui, dès 1878, avait supposé que les organismes vivants supérieurs (les vertébrés) ne pouvaient être « libres et indépendants » que s'ils résistaient aux variations perpétuelles des conditions extérieures (Bernard et al., 1885 et Cooper, 2008 pour une revue sur les prémices de l'homéostasie). La définition initiale de Cannon a ensuite été étendue par Curt Richter pour inclure une composante comportementale (des contrôles homéostatiques comportementaux) permettant de maintenir la constance du milieu intérieur (Moran & Schulkin, 2000).

Pour atteindre une stabilité de paramètres physiologiques et la condition d'homéostasie malgré un environnement extérieur fluctuant, des processus physiologiques puissants sont nécessaires. Le système nerveux central (SNC) joue un rôle central dans ces mécanismes en intégrant les paramètres internes et les entrées sensorielles pour coordonner les réponses physiologiques et comportementales s'adaptant finement et avec une grande flexibilité aux conditions extérieures.

L'homéostasie implique ***des mécanismes de régulation*** qui préservent la stabilité de paramètres physiologiques à travers de boucles de rétrocontrôle (Adolph, 1961; Goldstein & Kopin, 2017). Ces systèmes de rétroaction (feedback) impliquent : 1) la détection de paramètres physiologiques variables, puis 2) la transmission à un centre de régulation (le SNC) et éventuellement la comparaison à une valeur prédéterminée (valeur consigne ou set-point) et, 3) une réponse compensatoire automatique qui est engagée afin de rétablir un niveau de référence optimal. Les variables régulées sont ainsi des paramètres physiologiques capables d'activer des capteurs, d'être détectées et maintenues dans des plages de valeurs relativement constantes.

L'homéostasie inclut également la mise en œuvre de ***réponses contrôlées*** visant à préserver la stabilité des paramètres physiologiques. En effet, même si des systèmes de régulation puissants existent, ils reposent souvent sur des rétrocontrôles internes et nécessitent d'autres réponses, incluant des comportements, pour être complétés. Les réponses contrôlées ne sont pas maintenues dans des gammes de valeurs fixes. Au contraire, elles varient en amplitude en réaction à des perturbations de l'environnement, permettant ainsi à la variable régulée de rester stable (Geary, 2023). Les régulations homéostatiques peuvent découler de réponses contrôlées (Yamamoto & Brobeck, 1965). Par exemple, les battements du cœur sont contrôlés pour assurer une stabilité régulée de la pression artérielle.

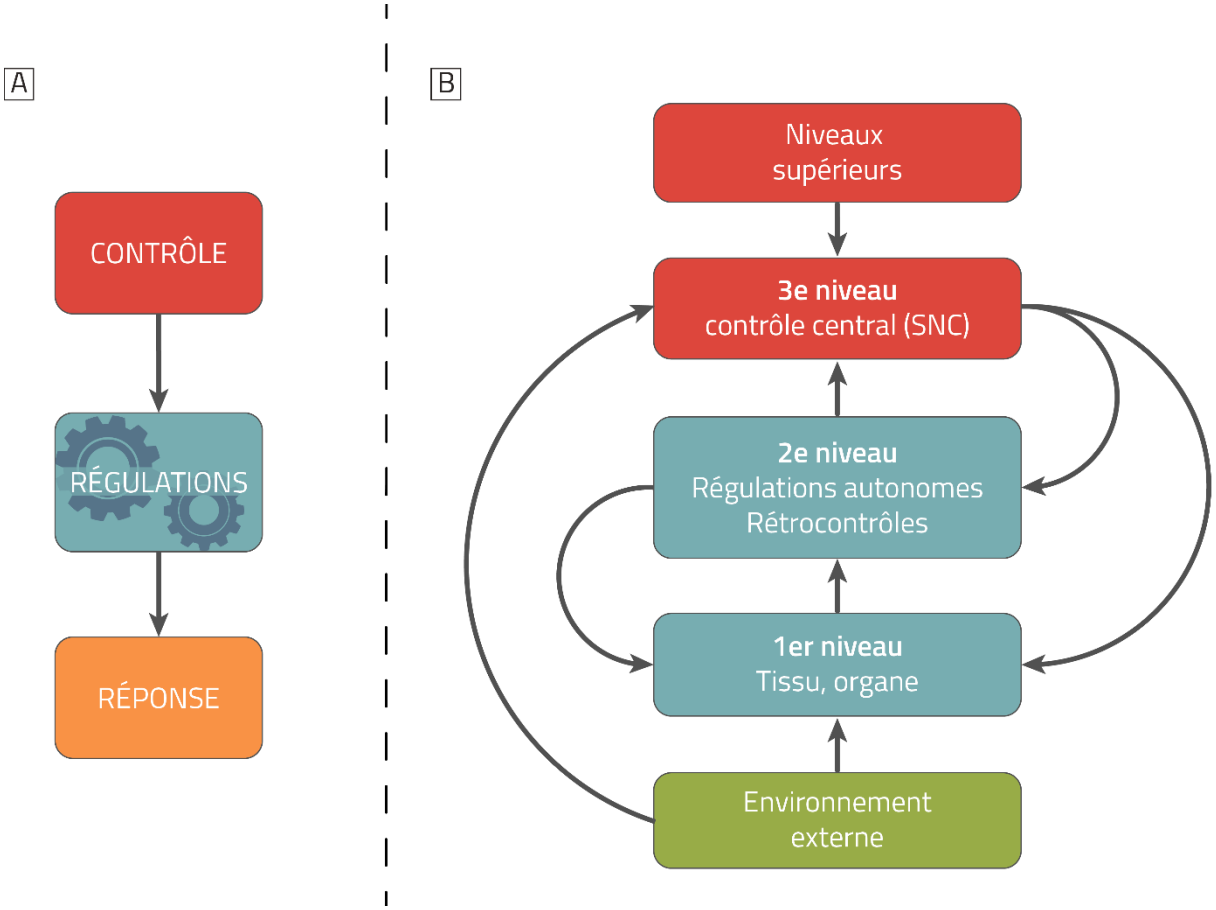


FIGURE 1 : CONTRÔLES ET RÉGULATIONS HOMÉOSTATIQUES

Figure basée sur Billman, (2020)

A. L'homéostasie nécessite la mise en œuvre de mécanismes de régulation et de mécanismes de contrôle. Les contrôles homéostatiques (en rouge) permettent de maintenir les processus de régulation (en bleu).

B. Les contrôles sont organisés de manière hiérarchisée et flexible et modulent les régulations homéostatiques. Ils permettent à l'organisme de s'adapter aux conditions environnementales changeantes.

Abréviation : **SNC** : système nerveux central.

Les systèmes de contrôle et de régulation s'organisent de manière coordonnée et dynamique à l'échelle de plusieurs organes pour atteindre la condition d'homéostasie (Billman, 2020, **Figure 1**). Ils se mettent en place de façon hiérarchisée pour limiter à des variations fines de nombreux paramètres physiologiques. Ainsi, la détection d'un paramètre physiologique anormal entraîne une vague de modifications comportementales et physiologiques synchrones, à l'échelle de l'organisme, optimisant ainsi la réponse adaptative.

"The coordinated physiological processes which maintain most of the steady states in the organisms are so complex and peculiar to living beings – involving, as they may, the brain and nerves, the heart, lung, kidneys and spleen, all working cooperatively – that I have suggested a special designation for these states, homeostasis. The word does not imply something set and immobile, a stagnation. It means a condition – a condition which may vary but is relatively constant." The Wisdom Of The Body by Walter B. Cannon (1963).

I.1.1.2 - Balance énergétique et homéostasie énergétique

La recherche sur le comportement alimentaire s'est largement inspirée des principes de l'homéostasie, considérant que l'apport en énergie par la prise alimentaire ou l'appétit peuvent être interprétés comme des réponses contrôlées visant à maintenir la stabilité de paramètres critiques du *milieu interne* (Billman, 2020).

Le terme d'homéostasie énergétique a été adopté comme l'ensemble des processus qui assurent une relative stabilité de la balance énergétique (ou du bilan énergétique). Cette balance énergétique repose sur **trois composantes** (voir Chapelot & Charlot (2019); Hall et al. (2012) et **Figure 2**).

❒ Les apports énergétiques

La prise alimentaire (PA) permet des apports discontinus d'énergie dans le système de balance énergétique. Les aliments ingérés contiennent des macronutriments (glucides, lipides, protéines) et, parfois, de l'alcool, qui sont métabolisés pour fournir de l'énergie utilisable par l'organisme. La teneur énergétique des aliments dépend de leur composition en macronutriments et de l'énergie métabolisable qu'ils peuvent fournir, calculée en kilocalories (kcal) par gramme (g) : lipides (9 kcal/g), glucides (4 kcal/g), protéines (environ 4 kcal/g), et alcool (7 kcal/g) (Atwater & Bryant, 1899). Ces valeurs représentent l'énergie brute disponible, bien que l'efficacité de conversion en adénosine triphosphate (ATP), la molécule porteuse d'énergie essentielle aux processus cellulaires, puisse varier légèrement selon les macronutriments et les conditions métaboliques (lipides : 9kcal/g ; glucides : 4kcal/g ; protéines : 3 kcal/g ; alcool : 6 kcal/g) (Atwater & Bryant, 1899). Les glucides et les lipides fournissent généralement la majeure partie des apports en énergie par l'alimentation (Mennella, 2019).

❒ Les dépenses énergétiques

Ce sont les sorties du système de balance énergétique. Elles correspondent à l'énergie utilisée par l'organisme sous la forme d'ATP. Les dépenses énergétiques (DE) sont de plusieurs natures : 1) le taux métabolique de base nécessaire au fonctionnement des différents organes, c'est-à-dire les dépenses en énergie à jeun, au repos et dans des conditions thermiquement neutres (Johnstone et al., 2005), 2) l'activité physique qui correspond à l'énergie dépensée dans tous les mouvements qui dépassent le taux métabolique de base et 3) la thermogenèse et la thermorégulation induite par l'alimentation. La régulation de la température du corps est coûteuse en énergie pour protéger l'organisme de l'exposition au froid ou réguler l'équilibre énergétique après des changements de régime alimentaire (Mennella, 2019).

❒ Les réserves énergétiques endogènes

Elles assurent la continuité des DE malgré une PA fractionnée. Le glucose et les acides gras constituent les principales sources de réserves énergétiques mobilisables distribuées dans tout le corps. Les réserves énergétiques sont de plusieurs formes : 1) des substrats énergétiques

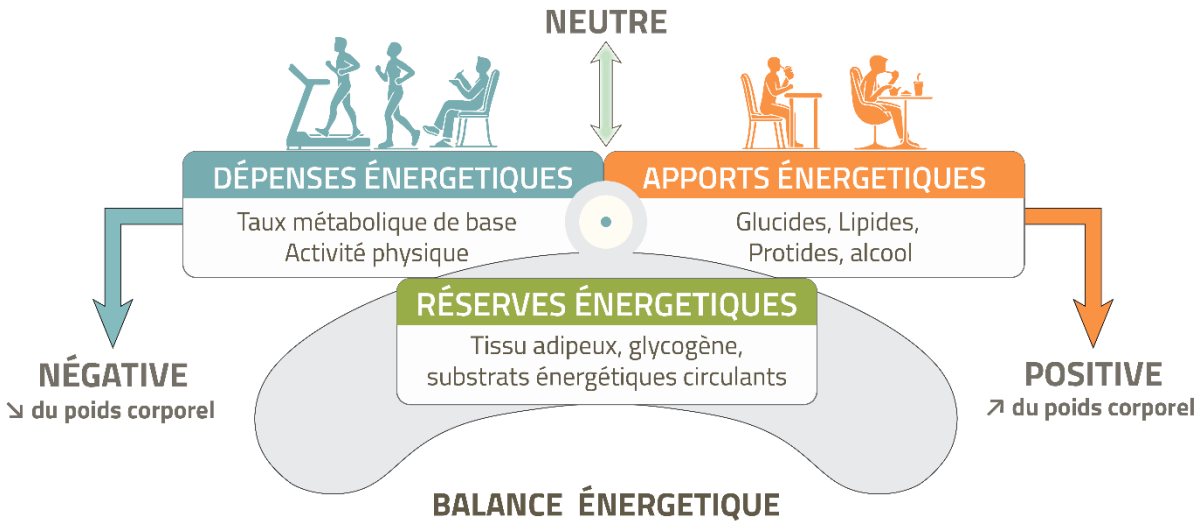


FIGURE 2 : REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DES TROIS COMPOSANTES DE LA BALANCE ÉNERGÉTIQUE : LES APPORTS ÉNERGÉTIQUES PAR L'ALIMENTATION, LES DÉPENSES ÉNERGÉTIQUES ET LES RÉSERVES ÉNERGÉTIQUES ENDOGÈNES

Une balance énergétique positive survient lorsque les apports caloriques sont supérieurs aux dépenses énergétiques, entraînant un gain de poids corporel. Une balance énergétique négative se produit lorsque les dépenses énergétiques sont supérieures aux apports, entraînant une perte de poids corporel. Lorsque la balance énergétique est positive ou négative, les mécanismes régulant et/ou contrôlant l'homéostasie énergétique entrent en jeu pour rétablir l'équilibre entre les apports et les dépenses. Ces mécanismes reposent sur la présence de rétroactions, déclenchées par la détection de paramètres associés à une variation du poids corporel ou à une modification de l'état nutritionnel et des besoins en énergie de l'organisme.

circulants, 2) des réserves glucidiques stockées principalement dans le foie et les muscles sous la forme de glycogène, 3) des réserves lipidiques stockées sous forme de triglycérides dans le tissu adipeux. Les triglycérides constituent des réserves à long terme alors que les stocks de glycogène sont restreints. Les glucides peuvent être convertis en lipides pour un stockage dans le tissu adipeux (Flatt, 1995). Les protéines sont utilisées pour la production d'énergie uniquement lorsque les réserves de glucides et de lipides sont épuisées, risquant d'affecter les fonctions essentielles. Elles ne sont donc pas une source d'énergie stockée privilégiée.

La balance énergétique est classiquement décrite par la formule (Geary, 2023) :

$$\Delta RE = PA - DE$$

Elle découle de la première loi de la thermodynamique, qui concerne la conservation de l'énergie et postule que l'énergie du corps correspond à la différence entre les entrées et les sorties d'énergie. Dans cette formule, ΔRE correspond à un changement des réserves énergétiques du corps (*body energy content*), PA à la prise alimentaire (*energy intake*) et DE aux dépenses énergétiques (*energy expenditure*). Ainsi, en cas d'apports énergétiques excédentaires par rapport aux DE, la balance énergétique devient positive, entraînant une augmentation des réserves énergétiques endogènes et, par conséquent, une prise de poids corporel. À l'inverse, si les DE dépassent les apports alimentaires, la balance énergétique devient négative : les réserves internes sont mobilisées pour couvrir les besoins énergétiques, entraînant une diminution du poids corporel (Leibel et al., 1995). Un bilan énergétique positif ou négatif déclenche des mécanismes de rétroaction visant à rétablir un équilibre entre les apports et les dépenses, ramenant ainsi la balance à un état d'équilibre et à un poids corporel stable (Hall et al., 2011; Polidori et al., 2016). C'est dans ces mécanismes de rétroaction et de contrôle que réside l'homéostasie énergétique.

I.1.1.3 - Cadre théorique du contrôle et des régulations associées à la balance énergétique

Le concept d'homéostasie énergétique s'est développé progressivement au cours des années 1950 grâce aux travaux de nombreux chercheurs tels que Jean Mayer ou Gordon Kennedy. De nombreuses hypothèses ont émergé concernant les mécanismes à l'origine de l'homéostasie énergétique. La recherche a eu pour ambition de comprendre ce que contrôle la PA, comment le poids corporel est régulé et comment les DE sont ajustées. Néanmoins, les liens de cause à effet entre les variables associées à la balance énergétique et les mécanismes qui les régulent et les contrôlent restent largement méconnus.

I.1.1.3.1 - Variables régulées par le comportement alimentaire

Il n'existe pas de consensus sur la nature précise des variables physiologiques régulées par le comportement alimentaire. Friedman (2008) souligne que comprendre la nature de ces variables pourrait fournir des informations précieuses sur les mécanismes, les processus biologiques ou les signaux qui influencent la quantité de nourriture consommée.

Ces variables doivent néanmoins refléter l'état énergétique du corps, incluant le niveau des réserves endogènes ainsi que les besoins énergétiques, ce qui pourrait impliquer des paramètres physiologiques multiples et interconnectés. Le poids corporel pourrait servir d'indicateur systémique des réserves énergétiques endogènes, tout comme les réserves adipeuses ou les niveaux de glucose. Le comportement alimentaire pourrait également viser à répondre aux besoins énergétiques des cellules et être régi par le métabolisme cellulaire.

- ❒ **Poids corporel**

Le poids corporel pourrait être une variable régulée par la PA et maintenue dans des gammes de valeurs stables (Cabanac et al., 1971). Cette hypothèse est appuyée par l'observation que le poids corporel des adultes est relativement stable pendant de longues périodes (Aars & Jacobsen, 2016). Par ailleurs, en réponse à des restrictions alimentaires sévères ou à une suralimentation, aussi

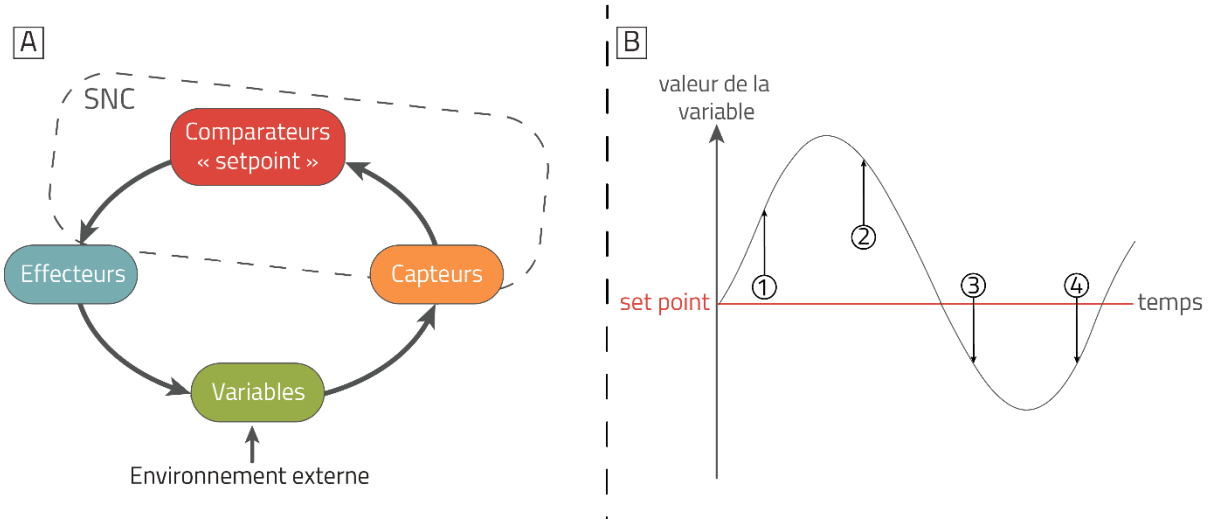


FIGURE 3 : MODÈLE GÉNÉRAL DES POINTS DE CONSIGNE

Figure modifiée de Modell et al., (2015)

A. Représentation simplifiée d'un système de régulation homéostatique ou de rétroaction basé sur les points de consigne. Les capteurs (encadré orange) mesurent les niveaux d'une variable physiologique régulée (encadré vert) et les transmettent au centre de contrôle (encadré rouge). Le centre de contrôle compare cette valeur avec la « valeur souhaitée » ou plage de valeurs que le système tente de maintenir (point de consigne). En cas de différence, il génère un signal d'erreur, déclenchant l'envoi d'instructions aux effecteurs (encadré bleu) pour ajuster la variable régulée et ramener sa valeur au niveau du point de consigne. Ainsi, le système maintient les variables physiologiques dans une plage optimale malgré les variations internes ou externes. Les effecteurs peuvent contrôler la prise alimentaire ou le comportement alimentaire pour rétablir des niveaux adéquats de la variable régulée. Les capteurs peuvent être localisés dans les organes périphériques ou dans le SNC. Le SNC (encadré en pointillé) contient un centre de contrôle, établit les points de consigne et commande les effecteurs.
B. Principe de feedback négatif d'une variable régulée. La variable régulée s'efforce d'atteindre des niveaux prédéterminés, le point de consigne, représenté par la ligne rouge. ① La variable, dont le niveau est au-dessus de la valeur du point de consigne, peut représenter une balance énergétique positive. ② L'écart positif par rapport au point de consigne est détecté par le SNC et déclenche des rétroactions permettant un retour au point de consigne. ③ Si la variable atteint des niveaux inférieurs aux points de consigne (par exemple, une balance énergétique négative), alors ④ d'autres rétroactions sont mises en jeu par le SNC. Ainsi, les mécanismes homéostatiques de rétroaction permettent de maintenir relativement stables les variables physiologiques et d'éviter des écarts trop importants qui mettraient en péril l'intégrité de l'organisme.
Abréviation : **SNC** : système nerveux central.

bien chez l'Homme (Sims & Horton, 1968) que chez le rongeur (Cohn & Joseph, 1962), on observe une tendance à retrouver le poids corporel initial. Chez l'Homme, ces retours au poids corporel initial sont principalement prononcés après une perte de poids (Leibel et al., 1995).

❒ **Adiposité**

Chez l'adulte, le tissu adipeux constitue le plus grand réservoir d'énergie endogène et les variations de poids corporel résultent principalement de changements dans l'adiposité (Forbes & Welle, 1983). La PA pourrait alors réguler les niveaux de masse grasse pour maintenir des réserves énergétiques constantes. Kennedy (1953) a été l'un des premiers à suggérer que le tissu adipeux (et l'adiposité) pouvait être le paramètre régulé dans le contrôle de la balance énergétique. Il est à l'origine du modèle lipostatique de régulation du poids corporel. La théorie lipostatique repose sur l'existence d'un niveau optimal d'adiposité : ni trop faible, ce qui pourrait compromettre la survie et la reproduction, ni trop élevé, ce qui pourrait augmenter le risque de maladies métaboliques et de comorbidités associées à l'obésité.

❒ **Niveaux de glucose**

Le glucose, en tant que première source d'énergie pour le système nerveux (Sokoloff et al., 1977), est aussi un élément clé qui pourrait informer de l'énergie disponible pour le corps. L'hypothèse glucostatique de Jean Mayer (1953) postule d'ailleurs que c'est l'utilisation du glucose qui est surveillée pour informer de l'état des réserves énergétiques de l'organisme.

❒ **Disponibilité en adénosine triphosphate (ATP)**

Il est de plus en plus admis que la PA permet de répondre aux besoins énergétiques de l'intégralité des cellules et n'a pas pour rôle de réguler les réserves énergétiques endogènes en glucides, en lipides ou le poids corporel. Le métabolisme cellulaire est crucial dans la régulation systémique de l'homéostasie énergétique. Les lipides, glucides et protéines apportés par l'alimentation sont métabolisés pour la production d'énergie sous la forme d'ATP (catabolisme) et pour la biosynthèse de constituants du corps ou de réserves énergétiques (anabolisme). C'est l'utilisation de ces macromolécules ingérées qui est régulée pour maintenir l'homéostasie (pour une revue voir Watts et al., 2022). En dehors des repas, le catabolisme augmente pour produire de l'ATP et l'énergie nécessaire aux besoins énergétiques des cellules. Après les repas, c'est l'anabolisme qui est privilégié pour constituer les réserves énergétiques et assurer les biosynthèses. La prédominance de l'anabolisme ou du catabolisme chez les organismes à un moment donné détermine s'ils gagnent, perdent ou maintiennent leur poids corporel. Friedman (2008) s'est largement inspiré de ces modèles pour expliquer comment la disponibilité en ATP dans toutes les cellules pouvait constituer la principale variable régulée dans l'homéostasie énergétique. Dans ces modèles, le pivot régulé par la PA est l'énergie cellulaire disponible, c'est-à-dire la disponibilité en ATP représentée par le ratio ATP/Adénosine diphosphate (ADP) ou ATP/adénosine monophosphate (AMP). L'ATP ne peut pas être stockée. Ainsi, le stockage des nutriments et leur mobilisation sont contrôlés pour assurer une stabilité dans les niveaux d'ATP.

I.1.1.3.2 - Cadre théorique du contrôle homéostatique du comportement alimentaire

Plusieurs modèles théoriques ont été formulés pour comprendre comment la stabilité de la balance énergétique peut être maintenue par le comportement alimentaire. Ces modèles explorent l'adaptation de la prise alimentaire aux besoins physiologiques et aux influences de l'environnement. Ils tentent d'expliquer comment une dérégulation de ce système peut mener à des pathologies associées à une variation du poids corporel ou à une perturbation de l'homéostasie énergétique, dont l'obésité, le syndrome métabolique ou le diabète.

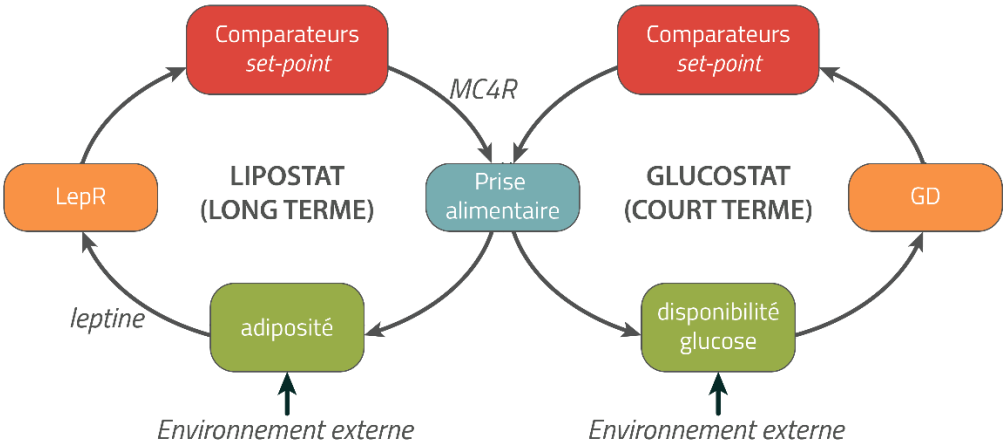


FIGURE 4 : HYPOTHÈSES GLUCOSTATIQUE ET LIPOSTATIQUE DU MAINTIEN DE LA BALANCE ÉNERGÉTIQUE

L'hypothèse lipostatique de Kennedy (1953) propose un point de consigne pour la masse grasse, avec un système de rétroaction où le tissu adipeux envoie un signal au cerveau pour ajuster la prise alimentaire et les dépenses énergétiques. Ce signal a été identifié comme la leptine qui agit sur des récepteurs à la leptine et recrute la voie des mélanocortines. La théorie glucostatique de Mayer (1953) postule que la disponibilité en glucose est surveillée comme un set-point, influençant la sensation de faim et la prise alimentaire. Cette théorie est soutenue par la découverte de neurones sensibles au glucose. Les hypothèses lipostatique et glucostatique sont complémentaires : la lipostase assure des réserves énergétiques à long terme, tandis que la glucostase régule les besoins nutritionnels à court terme.
Abréviations : **GD** : glucodétecteurs ; **LepR** : récepteurs à la leptine ; **MC4R** : récepteurs aux mélanocortines qui représentent la voie mélanocortinergique.

❒ Points de consigne et théorie du contrôle de la prise alimentaire

Dans les modèles de point de consigne, les organismes s'efforcent d'atteindre des niveaux prédéterminés d'énergie disponible et/ou de réserves endogènes appelés les points de consigne ou *set-points* (Anderson et al., 2001). Selon les théories des points de consigne, un écart important entre les niveaux détectés et les *set-points* déclenche des mécanismes de contrôle pour corriger et rétablir les niveaux préétablis. Ils passent notamment par un ajustement de la PA et/ou des DE (**Figure 3**).

Des théories du contrôle autour de points de consigne ont été décrites pour plusieurs variables physiologiques relatives à la balance énergétique comme le poids corporel (pondérostat, Cabanac et al. (1971)), l'adiposité (lipostat, Kennedy (1953)), les niveaux de glucose (glucostat, Mayer (1953)), la température corporelle (thermostat, Brobeck (1948) ; Strominger & Brobeck (1953)), l'énergie et le métabolisme cellulaire (ergostat, Booth (1972) et ischymétrie, Nicolaïdis & Rowland (1976)).

Parmi ces théories, les hypothèses glucostatique et lipostatique ont été prédominantes. Elles ont été un pilier pour comprendre comment la PA pouvait s'ajuster aux besoins énergétiques. Elles ont permis d'établir qu'une communication entre les organes périphériques et le SNC, à travers des signaux métaboliques informant des niveaux des réserves énergétiques, pouvait contrôler la PA et les DE.

Kennedy (1953) est à l'origine du modèle lipostatique de régulation du poids corporel. Il repose sur l'existence d'un point de consigne pour les niveaux de masse grasse, c'est-à-dire un niveau optimal d'adiposité et sur un système de rétroaction autour de ce point de consigne. Dans ce modèle, le tissu adipeux produit un signal détecté par le cerveau pour informer des niveaux de réserves énergétiques. Ce signal est comparé au point de consigne. Tout écart entre ce point de consigne et le signal déclenche des changements de la PA et des DE pour rétablir les niveaux de masse grasse d'origine. La théorie de Kennedy a largement été adoptée dans les années 1990, notamment à la suite de la découverte de la leptine par Friedman en 1994 (Zhang et al., 1994) et du système mélanocortinergique (Fan et al., 1997). La leptine, une hormone produite par les adipocytes proportionnellement à la masse grasse des organismes, a été décrite comme le signal informant le cerveau des niveaux de masse grasse. La leptine a une action anorexigène sur un ensemble de neurones impliqués dans le contrôle de l'appétit et dans la régulation des DE et permet ainsi d'enclencher des systèmes de rétroaction visant à rétablir le point de consigne d'adiposité.

Dans l'hypothèse glucostatique de Mayer (1953), c'est la disponibilité en glucose qui constitue un point de consigne surveillé. Dans sa théorie, même si des processus de régulation permettent de maintenir une certaine stabilité de la glycémie par des rétrocontrôles hormonaux, la PA permet périodiquement l'apport de substrats énergétiques nécessaires à ces régulations. Cette hypothèse est confortée par le fait qu'il existe une corrélation inverse entre les niveaux de glucose et la sensation de faim rapportée par les sujets humains. Ainsi, une privation de glucose déclenche immédiatement une faim intense et une PA élevée chez l'Homme et les rongeurs (Dunn-Meynell et al., 2009). La théorie glucostatique a été catalysée par la découverte de neurones sensibles aux niveaux de glucose (Oomura et al., 1969), et localisés à proximité des neurones répondant à la leptine.

Les hypothèses lipostatique et glucostatique apparaissent complémentaires. Le lipostat permet d'assurer des réserves endogènes stables à long terme alors que le glucostat permet de combler les besoins nutritionnels à court terme, sur des échelles de l'ordre du repas (**Figure 4**).

Dans ces modèles, l'obésité est la conséquence d'un changement des points de consigne et de la perte de la sensibilité aux signaux métaboliques (Mrosovsky & Powley, 1977). Néanmoins, plusieurs limites aux théories des points de consigne ont été proposées.

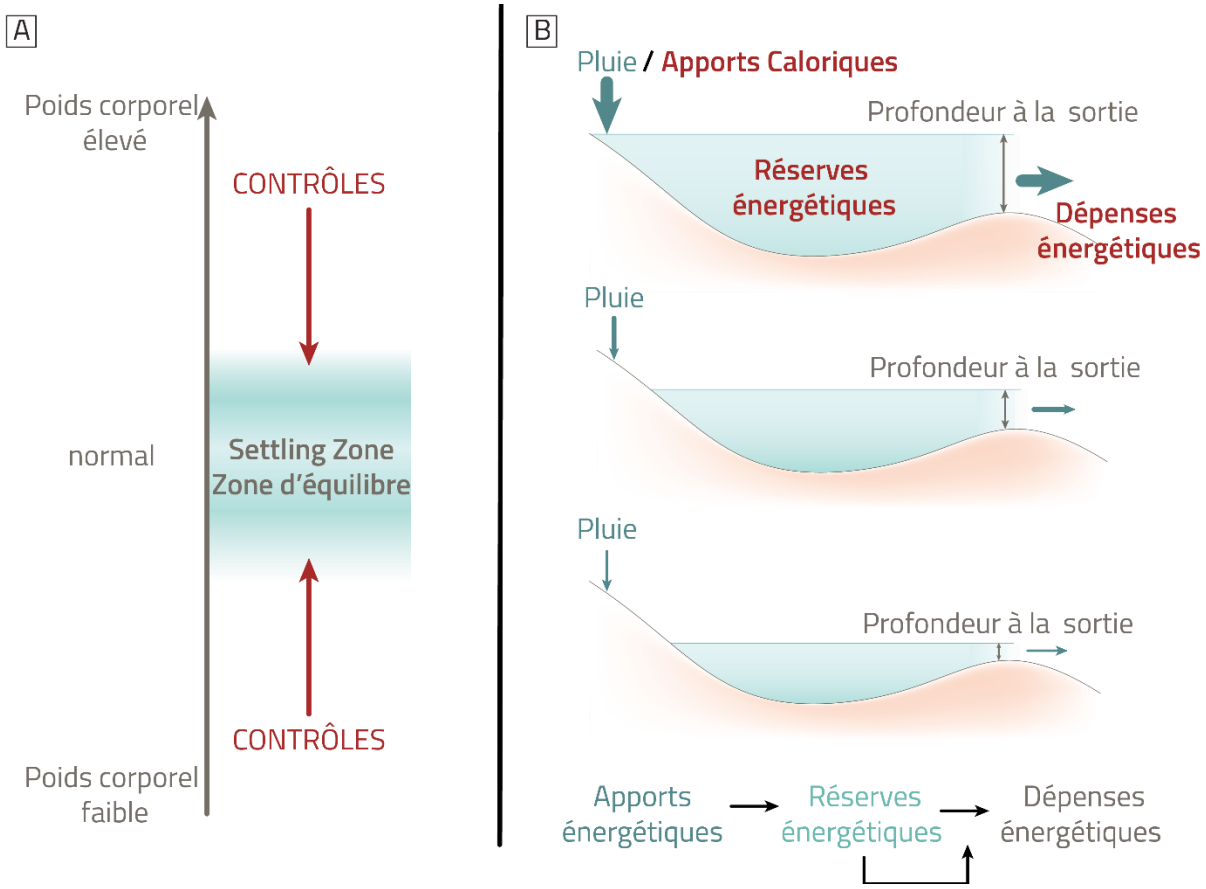


FIGURE 5 : MODÈLE DE ZONE DE DÉCANTATION/SETTLING ZONE POUR LA RÉGULATION DU POIDS CORPOREL

Figure adaptée de Levitsky (2005) et Speakman et al., (2011).

A. Dans ce modèle, une plage de valeurs est définie pour le poids corporel d'un individu. À l'intérieur de cette plage, le poids corporel fluctue « passivement » sous l'influence de facteurs environnementaux qui modulent le comportement alimentaire et/ou la dépense énergétique. Lorsque le poids corporel s'éloigne de cette plage, des mécanismes de contrôle s'activent pour ramener le poids dans la zone de stabilisation ou d'équilibre.
B. Analogie du système de stabilisation illustrée par les niveaux d'eau dans un lac. Dans ce schéma, l'apport d'eau au lac, représenté par la pluie tombant sur les collines, symbolise les apports caloriques par l'alimentation. La sortie d'eau du lac, représentant les dépenses énergétiques, est directement liée à la profondeur de l'eau, qui correspond aux réserves énergétiques. La profondeur de l'eau atteint un point de stabilisation où la sortie et l'entrée sont en équilibre (indiqué par la taille des flèches). Si la quantité de pluie, c'est-à-dire les apports caloriques, augmente (indiquée par une flèche plus large), le niveau d'eau dans le lac — et donc les réserves énergétiques — s'élève jusqu'à atteindre un nouveau point d'équilibre, où les sorties, ou dépenses énergétiques, égalent à nouveau les entrées. Inversement, si la quantité de pluie diminue, le niveau d'eau dans le lac baisse jusqu'à un nouveau point de stabilisation, où la sortie est une fois encore égale à l'entrée.

Les principales limites sont énoncées ici, mais ont été abordées bien plus en profondeur dans des revues de la littérature (Geary, 2023 ; Speakman et al., 2011 ; Speakman & Elmquist, 2022 ; Watts et al., 2022 ; Wirtshafter & Davis, 1977) :

1) Le manque de flexibilité des points de consigne, alors que les apports alimentaires, les dépenses énergétiques (DE), et les signaux informant de l'état des réserves énergétiques sont très variables sur le court terme. Par exemple, la rigidité des points de consigne n'explique pas pourquoi la leptine produit des réponses asymétriques : après un jeûne, les niveaux réduits de leptine induisent une forte hyperphagie et une réduction des DE (Ahima et al., 1996), alors qu'un surplus de leptine dû à une augmentation de la masse adipeuse sur plus long terme n'est à l'origine que d'une réduction modeste de la PA (Heymsfield et al., 1999)

2) Le manque de preuves de l'existence de points de consigne au niveau génétique et neuronal. L'héritabilité génétique n'a pas été modifiée depuis l'augmentation de la prévalence de l'obésité des 50 dernières années (Livneh et al., 2020).

3) La sous-estimation de l'impact des facteurs socio-économiques et environnementaux sur la PA et le poids corporel. Les théories de contrôle autour de points de consigne n'expliquent pas pourquoi les facteurs sociaux-économiques et environnementaux augmentent la propension à développer une obésité dans les populations occidentales.

❒ Les modèles de points d'équilibre

Une alternative aux modèles traditionnels de points de consigne a été proposée en 1977 et explique comment une stabilisation du poids corporel peut s'opérer chez des personnes avec des réserves adipeuses importantes. Introduit par Wirtshafter & Davis (1977), le modèle des points d'équilibre, de zone de décantation ou *settling point* repose sur des rétrocontrôles capables d'ajuster la balance énergétique sans l'existence de points de consigne fixes. Ces modèles expliquent, en partie, la variabilité et l'adaptabilité du poids corporel avec des fluctuations sur du court terme et une stabilité à plus long terme. Dans le modèle des points d'équilibre, la stabilité apparente du poids corporel est le résultat d'une multitude de boucles de rétroaction impliquant des facteurs environnementaux. Levitsky (2002) suggère qu'il existe pour chaque personne une « zone d'équilibre » de poids corporel dans laquelle une certaine stabilité s'opère naturellement. Dans cette « *settling zone* », si l'apport énergétique diminue, le poids diminue, entraînant une baisse des besoins énergétiques et un ralentissement du métabolisme jusqu'à un nouvel équilibre (Johannsen et al., 2012). Inversement, une augmentation de l'apport alimentaire conduit à une augmentation du poids, qui est ensuite régulée par une hausse des DE. Ces DE augmentent parce que l'augmentation de poids entraîne inévitablement une augmentation du métabolisme et des coûts énergétiques liés à l'activité physique, ce qui ralentit la prise de poids (James et al., 1978).

Speakman et ses collègues (2011) font l'analogie entre la zone d'équilibre du poids corporel et un réservoir d'eau ou un lac rempli par la pluie, qui se vide par divers écoulements (**Figure 5**). Les niveaux d'eau des lacs se régulent passivement à un niveau donné qui est le résultat des entrées de pluie et des écoulements d'eau du lac. En appliquant ce modèle à la régulation du poids corporel, la mise en réserve de lipides (augmentation du niveau d'eau du lac) ne serait que le reflet de l'apport énergétique (pluie), et ne serait pas régulée par l'adiposité (niveau initial du lac). Parallèlement, la dépense énergétique (baisse du niveau du lac) s'ajusterait de manière passive, étant influencée par le volume de graisse à un moment donné. En dehors de cette « zone d'équilibre », des mécanismes de contrôle sont déclenchés pour ramener le poids dans la plage de stabilité.

Le concept de point d'équilibre intègre facilement des facteurs environnementaux, socio-économiques et l'appétence de certains aliments qui influencent la PA. La prévalence de l'obésité dans les sociétés actuelles est interprétée comme le résultat d'un environnement obésogène. L'augmentation des apports en énergie mène à une accumulation de graisse jusqu'à ce qu'un nouvel équilibre soit atteint, dans lequel la dépense énergétique s'ajuste pour correspondre à l'apport. En cas de diminution des apports en énergie, les DE sont régulées à la baisse. La fin de la restriction alimentaire entraîne un stockage des graisses, une rééquilibration des niveaux d'adiposité, jusqu'à une certaine limite qui permet une adaptation passive des DE à la nouvelle

adiposité. Ce phénomène crée l'impression d'une régulation basée sur un poids fixe et prédéterminé, alors qu'il reflète en réalité un rééquilibrage dynamique des réserves énergétiques.

Le modèle des points d'équilibre propose une meilleure explication que celui des points de consigne pour expliquer la prévalence de l'obésité actuelle mais il est aussi largement critiqué. En particulier, ce modèle implique qu'il serait facile pour une personne obèse de perdre du poids de manière durable avec une simple restriction calorique, sans aucun mécanisme biologique pour s'y opposer. En réalité, il est connu que des changements de poids corporel induits expérimentalement dans des conditions environnementales constantes entraînent des ajustements compensatoires dans la prise alimentaire et la dépense énergétique (Harris et al., 1986; Heyman et al., 1992; Leibel et al., 1995). Ces ajustements tendent à ramener le poids corporel à son niveau initial. Ces réponses compensatoires ont aussi lieu lors de faibles variations de poids corporel, même si chez les humains, elles sont principalement observées après une perte de poids (Polidori et al., 2016).

❒ Autres modèles

Plusieurs modèles ont été proposés à la frontière entre les modèles de points de consigne et les modèles de points d'équilibre. Parmi ces derniers, le « *Dual intervention point model* » (Herman & Polivy, 1984) propose que les variables ne sont pas comparées à un point de consigne, mais doivent être comprises dans une gamme de valeurs donnée. Des mécanismes comparables à ceux du modèle des points d'équilibre s'opèrent dans cette plage. Si les seuils physiologiques sont franchis, des mécanismes de contrôle et des mécanismes de régulation se mettent en place. Ils diffèrent si c'est la limite haute ou basse qui est franchie. On peut également citer le « *General model of intake regulation* » (de Castro & Plunkett, 2002), qui propose que la PA est influencée par des facteurs environnementaux et physiologiques mais que seuls les facteurs physiologiques prennent en compte l'état énergétique du corps. Des concepts alternatifs à l'homéostasie ont été également proposés. Le plus emblématique est celui de l'Allostasie de Sterling et Eyer en 1988 (Sterling, 2012). Dans ce modèle, l'organisme ne réagit pas aux variations internes pour maintenir des paramètres physiologiques optimaux. Il cherche, au contraire, à anticiper ses besoins et se prépare à les satisfaire avant qu'ils n'arrivent. Ainsi, le SNC n'est pas seulement celui qui coordonne les réponses physiologiques et comportementales en réponse aux stimuli externes mais celui qui orchestre et priorise, de façon continue, l'ensemble des comportements et fonctions autonomes.

Il n'existe pas de consensus sur les mécanismes précis qui contrôlent la PA, la régulation du poids corporel ou l'ajustement des DE. Les modèles de régulation du poids corporel, basés sur des concepts tels que les points de consigne ou les points d'équilibre, illustrent la complexité des mécanismes impliqués et soulignent l'importance des interactions entre les facteurs physiologiques et environnementaux. Néanmoins, dans tous ces modèles, les apports en énergie jouent un rôle central. Ces apports sont permis par le comportement alimentaire. Explorer ses caractéristiques, les facteurs qui l'influencent et la façon dont il est contrôlé par le SNC est donc essentiel pour comprendre comment la balance énergétique peut s'opérer et s'adapter aux besoins physiologiques et non physiologiques de l'organisme.

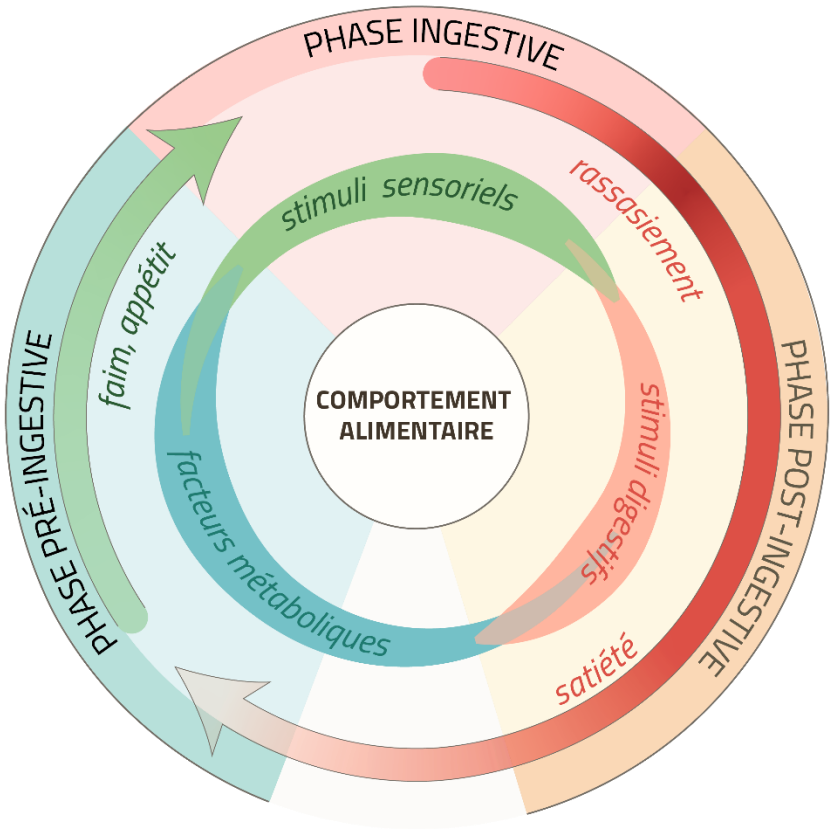


FIGURE 6 : ORGANISATION TEMPORELLE DU COMPORTEMENT ALIMENTAIRE, BASÉE SUR LA CASCADE DE SATIÉTÉ

Le comportement alimentaire inclut un ensemble de comportements qui se mettent en place de façon cyclique avant (phase pré-ingestive), pendant (phase ingestive) et après (phase post-ingestive) le repas. L'état de satiété conditionne la période entre les repas et permet l'adoption de comportements non-alimentaires. Chaque phase du cycle est influencée par des signaux extéroceptifs (sensoriels et cognitifs) et des signaux intéroceptifs renseignant sur l'état nutritionnel de l'organisme à court et long terme.

I.1.2 - Généralités sur le comportement alimentaire

Le comportement alimentaire est une condition *sine qua non* de la survie animale, car il fournit les nutriments et l'énergie nécessaires au fonctionnement des organismes. Le Magnen (1972) l'a défini comme « l'ensemble des actes de l'animal par lequel il ingère des aliments propres à satisfaire ses besoins organiques et refuse les substances non alimentaires ou toxiques ».

I.1.2.1 - Organisation temporelle du comportement alimentaire

I.1.2.1.1 - Phases pré-ingestive, ingestive et post-ingestive

Le comportement alimentaire suit une organisation temporelle stricte, initialement décrite par Craig (1917), comme l'alternance cyclique entre deux phases : la phase appétitive, qui englobe les processus de prise de décision et les actions entreprises pour rechercher la nourriture et la phase de consommation alimentaire. Le comportement alimentaire inclut donc des étapes successives se déroulant avant, pendant et après l'ingestion de nourriture. Ainsi, il peut être décrit comme un processus tripartite composé d'une phase pré-ingestive, d'une phase ingestive et d'une phase post-ingestive (**Figure 6**).

La phase pré-ingestive inclut les comportements associés à la phase appétitive du modèle de Craig ainsi que des réponses physiologiques qui précèdent l'ingestion de nourriture. Il s'agit d'une myriade de réactions digestives, endocriniennes, thermogéniques, cardiovasculaires et rénales, apprises ou innées, et appelées les réponses de la phase céphalique . Elles préparent l'organisme à ingérer, digérer, absorber et métaboliser les aliments.

Le début de la phase pré-ingestive est généralement déterminé par l'habitude, la commodité et l'opportunité, plutôt que par le besoin. Elle conduit à la perception des indices alimentaires ou des aliments (par la vue ou l'odeur), qui initient les réponses céphaliques (Andermann & Lowell, 2017). L'initiation du comportement alimentaire n'est donc pas toujours dictée par la faim, définie par l'OMS comme « l'ensemble des sensations provoquées par la privation de nourriture, qui incitent l'Homme ou l'animal à rechercher des aliments et que l'ingestion de nourriture fait disparaître ». Le terme de « phase appétitive », indique au contraire que le comportement alimentaire est initié par l'appétit, lequel est associé à un état motivationnel pour la PA. L'appétit peut exister indépendamment d'une réelle privation énergétique (Castonguay et al., 1983).

La phase ingestive ou prandiale est le déclenchement de la PA puis l'arrivée des aliments dans le tube digestif. La PA permet l'apport de substrats énergétiques, minéraux et hydriques nécessaires au métabolisme cellulaire. Le remplissage de l'estomac inhibe progressivement la faim et l'appétit par l'installation du rassasiement (Satiation en anglais, Benelam, 2009), c'est-à-dire le sentiment de satisfaction signalant l'arrêt de l'alimentation et la fin de la phase ingestive.

La phase post-ingestive est associée à la digestion et à l'absorption des nutriments. Elle est marquée par la sensation de satiété (Satiety en anglais, Benelam, 2009), qui inhibe la poursuite du comportement alimentaire et détermine la durée de l'intervalle entre les repas. Au cours de cette phase, la mise en réserve de substrats énergétiques permet d'assurer la continuité des DE de l'organisme jusqu'au repas suivant.

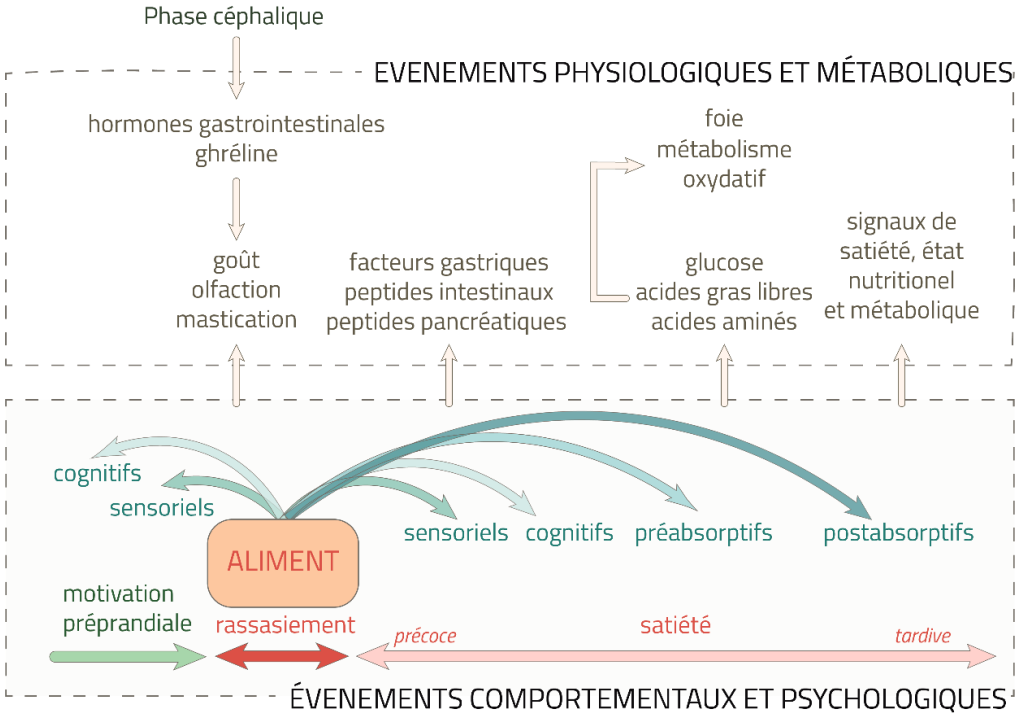


FIGURE 7 : CASCADE DE SATIÉTÉ

Schéma adapté de Bellisle (2005).

Le comportement alimentaire est influencé par des facteurs intéroceptifs et extéroceptifs et va lui-même être à l'origine d'une succession de comportements et de phénomènes psychologiques, associés à des processus physiologiques et métaboliques. La cascade de satiété de Blundell (bas du schéma) illustre les signaux impliqués dans l'initiation de l'alimentation jusqu'à la sensation de satiété. Blundell distingue, dans son modèle, la satiété précoce, qui se développe pendant la consommation du repas, et la satiété tardive, qui se produit après la digestion et l'absorption des nutriments. La satiété tardive correspond à la sensation prolongée de plénitude qui empêche de ressentir la faim pendant une période après le repas.

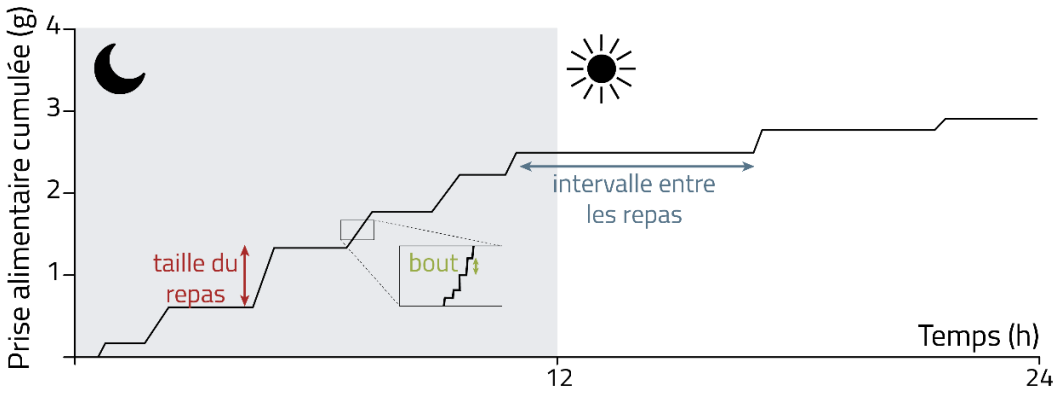


FIGURE 8 : PRISE ALIMENTAIRE CUMULÉE SUR 24 H, TYPIQUE D'UNE SOURIS C57BL/6

Chez les rongeurs, la prise alimentaire est caractérisée par des épisodes de repas discontinus, composés de plusieurs "bouts" de consommation (zoomé sur l'encadré). Un repas est défini par la somme de ces épisodes, séparés par des intervalles inter-repas. Chez les rongeurs, la majeure partie des repas est consommée la nuit (partie gauche du graphique). La taille des repas est diminuée en phase diurne et l'intervalle entre les repas est augmenté.

I.1.2.1.2 - Cascade de satiété et signaux influençant le comportement alimentaire

La "cascade de satiété" décrite par Blundell et al. (1987) explique les différents signaux impliqués depuis l'initiation de l'alimentation jusqu'à la sensation de satiété (**Figure 7**). Dans ce modèle, les premiers signaux qui initient le comportement alimentaire sont des facteurs extéroceptifs (facteurs issus de l'environnement). Ils incluent des signaux sensoriels tels que la vue, l'odeur, le goût et la texture des aliments, ainsi que des informations cognitives relatives à l'environnement social, économique et culturel (McCrickerd & Forde, 2016). Ces signaux extéroceptifs interviennent également dans la mise en place de la sensation de rassasiement.

Pour mettre fin au repas, les facteurs extéroceptifs sont complétés par des signaux intéroceptifs qui se manifestent lors de la sélection et de la consommation de la nourriture, ainsi que dans les premières étapes de la digestion. Par exemple, la distension de l'estomac génère des signaux mécaniques indiquant que les aliments ont été consommés (Benelam, 2009). Les signaux intéroceptifs se succèdent pendant les différentes étapes de la digestion, permettant l'installation de la satiété précoce et sa persistance sous forme de satiété tardive. Ils régulent la faim et l'appétit jusqu'au prochain repas. L'arrivée des aliments dans l'intestin entraîne la sécrétion de nombreuses hormones à effet rassasiant et satiétogène. Ces aliments sont ensuite catabolisés en nutriments, et les nutriments circulants fournissent des informations sur le statut nutritionnel, influencent la satiété tardive. La détection des nutriments est complétée par des signaux de satiété qui renseignent sur l'état des réserves énergétiques du corps jusqu'au repas suivant (Woods et al., 1998).

I.1.2.1.3 - Le repas, unité fonctionnelle de l'alimentation

Les épisodes de prise alimentaire sont, chez tous les mammifères, discontinus et séparés en repas (Richter, 1922). Le repas constitue ainsi l'unité fonctionnelle de l'alimentation. Il est lui-même composé d'épisodes ininterrompus de consommation alimentaire appelés les bouts ou feeding bouts. La microstructure des repas est un indicateur clé du comportement alimentaire (Benelam, 2009). Elle inclut la taille des repas consommés en période nocturne et diurne, ainsi que l'intervalle entre ces repas et leur fréquence. La taille des repas fait référence à la quantité de nourriture consommée au cours du repas et fournit des informations précieuses sur les signaux de rassasiement qui mettent fin au repas. La fréquence des repas et l'intervalle entre les repas reflètent des signaux de satiété ainsi que l'inhibition de l'appétit et de la sensation de faim entre les repas. Le rapport entre la taille des repas et l'intervalle entre les repas est appelé rapport de satiété (ou Satiety ratio, généralement exprimé en minutes (min)/gramme (g)) et peut fournir un indice sur la capacité de certains aliments à induire de la satiété (Clifton, 2000). L'étude de la composition des repas et de leur microstructure est essentielle pour caractériser le comportement alimentaire. Elle permet principalement l'étude des mécanismes de satiété lorsque la nourriture est proposée en quantités *ad libitum*.

Chez le rongeur, un repas comporte un ou plusieurs bouts et est séparé du repas suivant par un intervalle de temps donné (généralement d'au moins 3 minutes (Rathod & Di Fulvio, 2021). Le rongeur est un animal nocturne qui consomme la majorité de ses repas la nuit (70 % de la PA), en particulier pendant les 3 premières heures (h) après l'extinction des lumières, chez les animaux de laboratoire cyclés sur un rythme de 12 h d'éclairage et 12 h de nuit (**Figure 8**). Les souris ayant un accès *ad libitum* à la nourriture consomment généralement environ 15 petits repas sur 24 h pour un total d'environ 15 grammes de granulés standard (type AO4, appelés NC (normal chow) dans la suite du manuscrit) par 100 g de poids corporel (10 à 12 kcal/g de poids corporel). Cette structure des repas est particulièrement dépendante des conditions expérimentales. Par exemple, les rongeurs consomment moins de repas et une plus grande quantité par repas quand la nourriture n'est pas facilement accessible (Corwin et al., 1998) et la palatabilité des aliments modifie la structuration des repas (Ishii et al., 2003).

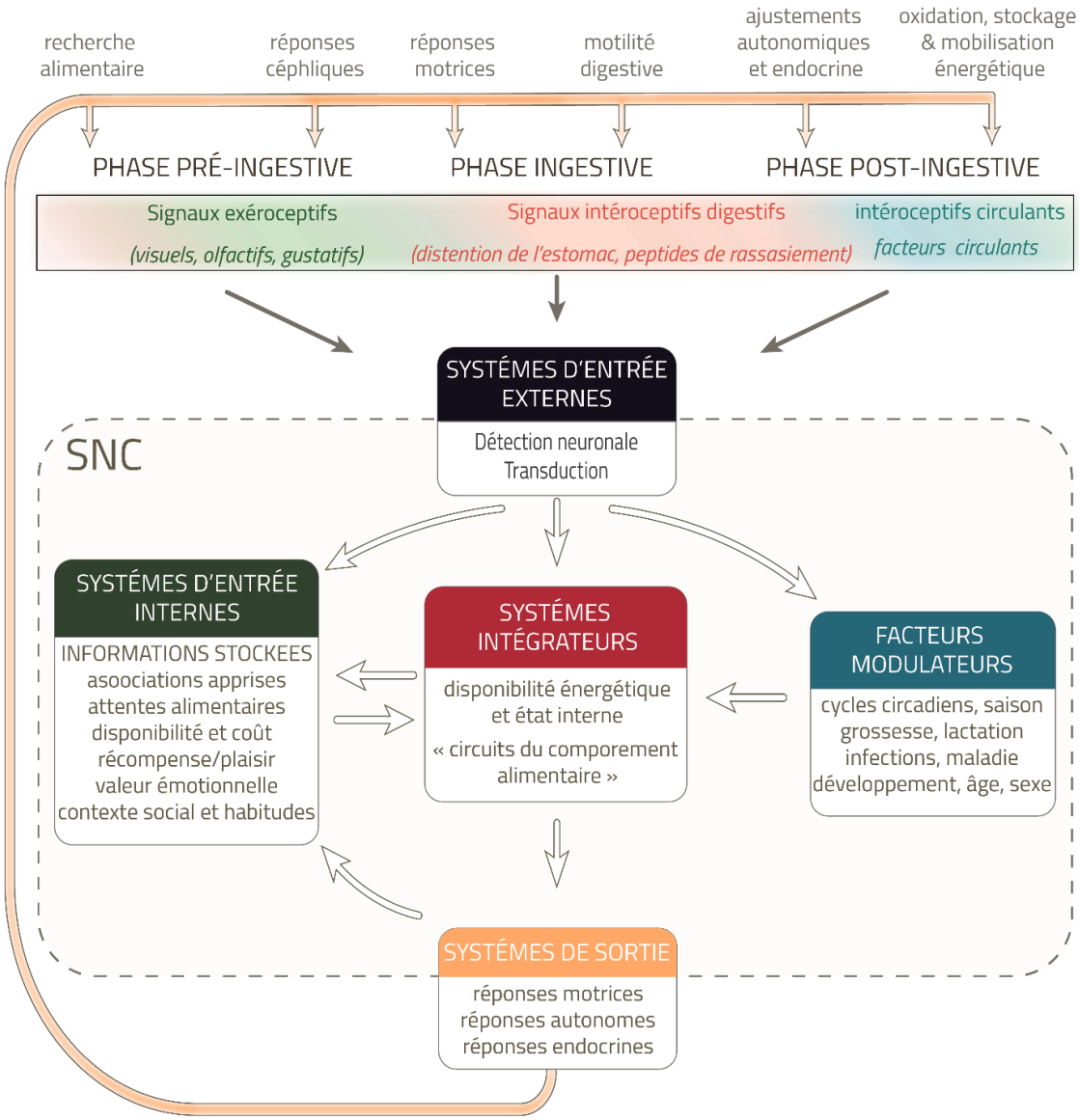


FIGURE 9 : FLUX D'INFORMATIONS CONTRIBUANT AU CONTRÔLE DU COMPORTEMENT ALIMENTAIRE

Schéma modifié à partir de Berthoud (2002).

Le contrôle du comportement alimentaire peut être représenté par un modèle d'entrées et de sorties au sein du système nerveux central (SNC). Les systèmes d'entrée externes au SNC correspondent à la réception des informations intéroceptives (capteurs viscéraux, hormones, etc.) et extéroceptives (les cinq sens) acheminées jusqu'au SNC. Les systèmes d'entrée internes se réfèrent aux informations préalablement stockées dans le SNC et basées sur la mémoire et l'apprentissage (compétences, habitudes), ainsi que les mécanismes spécifiques à l'espèce et individuels, génétiquement prédéterminés. Les réponses émises par les systèmes de sortie renvoient des informations aux systèmes d'entrée externes et internes. Le comportement alimentaire peut être initié à n'importe quelle étape d'intégration par le SNC, par exemple, par la récupération d'informations stockées, déclenchée par la vue d'un aliment, une faible disponibilité énergétique perçue de manière périphérique ou centrale, ou le manque d'un nutriment particulier. Les réseaux neuronaux impliqués dans le comportement alimentaire sont modulés par des facteurs tels que le cycle diurne, les besoins particuliers pendant le développement, la grossesse et la lactation.

Les apports en énergie par le comportement alimentaire sont ainsi structurés en repas autour des phases pré-ingestive, ingestive et post-ingestive. Chaque phase est influencée par des signaux extéroceptifs et intéroceptifs qui permettent l'installation du cycle appétit/faim-rassasiement /satiété. L'alimentation ne se déroule pas de manière isolée, mais en coordination avec d'autres comportements, notamment la prise hydrique, qui est souvent synchronisée ou séquencée avec la prise alimentaire. Ce comportement alimentaire doit être adapté pour optimiser l'apport en énergie lorsque la nourriture est disponible, tout en permettant l'expression d'autres comportements essentiels à la survie et à la reproduction, tels que l'évitement des prédateurs, les interactions sociales, l'accouplement… (Barnett, 1956).

I.1.2.2 - Le comportement alimentaire sous le contrôle du système nerveux central

Le comportement alimentaire , comme tous les comportements, est finement contrôlé par le SNC (Berthoud, 2002 ; Morton et al., 2006 ; Schwartz et al., 2000 ; Watts et al., 2022). Il nécessite une coordination complexe entre différents systèmes neuraux et est le résultat d'une interaction complexe entre de multiples aires cérébrales. Cette coordination est essentielle pour l'enchaînement des différentes phases du comportement alimentaire (**Figure 6**). Chaque phase, de l'anticipation à la consommation et à la digestion, est dirigée par des circuits spécifiques qui intègrent des signaux intéroceptifs (ou entrées intéroceptives) provenant de l'intérieur du corps, et extéroceptifs, provenant de l'environnement, afin d'ajuster la PA aux besoins métaboliques et contextuels (**Figure 9**).

L'initiation du comportement alimentaire, la phase appétitive, nécessite une attention particulière tournée vers la nourriture et les indices associés, ainsi qu'une motivation pour acquérir cette nourriture. Le SNC est en état d'éveil. L'état d'éveil est influencé par les entrées extéroceptives et par des informations préalablement stockées. Il va être modulé par le moment de la journée ou la saison, l'état nutritionnel et métabolique de l'organisme, le contexte social, les associations apprises, et modulé par des informations sensorielles et l'anticipation du plaisir ou de la satisfaction que peut procurer la nourriture. Une valeur motivationnelle est alors accordée aux indices qui prédisent la disponibilité de nourriture (Koob & Volkow, 2016) : c'est l'importance incitative (termes incentive salience ou incentive value) associée au concept de désir ou d'envie (terme wanting utilisé dans l'étude des comportements motivés).

Cette première étape initie la recherche active de nourriture (foraging). Le SNC utilise alors ses capacités de planification qui reposent en partie sur l'apprentissage et la mémoire pour contrôler les comportements, notamment locomoteurs, axés vers la recherche de nourriture (Garrett & Daw, 2020). Ces comportements varient en durée et complexité pour s'adapter à l'environnement. La nourriture est alors identifiée pour ses divers attributs comme sa forme, couleur, goût, texture (McCrickerd & Forde, 2016). Ces informations sensorielles amorcent la phase céphalique pour préparer l'organisme au repas. Cela inclut l'organisation, par le SNC, de réponses autonomes et neuroendocriniennes contrôlant les glandes salivaires, le tractus gastro-intestinal, le pancréas, ainsi que les systèmes cardiovasculaire et rénal (Mattes,1997 et **Tableau 1**).

La phase prandiale est également sous le contrôle du SNC, qui orchestre des séquences motrices rythmiques nécessaires notamment à la mastication et à la déglutition. Pendant l'ingestion, il intègre de multiples informations sensorielles relatives à la composition du repas et à la palatabilité des aliments. Ces informations proviennent à la fois des organes des sens (yeux, nez, langue) et du tractus gastro-intestinal. Le SNC module également la motilité du tractus digestif et surveille le remplissage de l'estomac et les premiers signaux de rassasiement émis par la sphère digestive pour freiner la prise alimentaire voire mettre fin au repas (Ritter, 2004). Pendant l'ingestion, il compare les attributs sensoriels de l'ingesta avec les attributs anticipés ou attendus. Cette évaluation est associée à la satisfaction hédonique (terme liking utilisé dans l'étude des comportements motivés ; Koob & Volkow, 2016), et est liée au plaisir ressenti en mangeant. La satisfaction hédonique implique des préférences alimentaires individuelles, ainsi que la mémoire des plaisirs et aversions alimentaires. La supervision du système digestif et

l'évaluation hédonique jouent un rôle déterminant dans l'estimation de la quantité d'aliments consommés, de la taille du repas et du moment de la fin du repas.

Après le repas, le SNC continue de superviser la digestion, d'assurer les régulations autonomes relatives à l'absorption et à l'utilisation des nutriments et d'intégrer les signaux relatifs à l'état nutritionnel du corps. Il est sous l'influence d'une combinaison de signaux intéroceptifs à court terme issus de la digestion et de l'absorption de nutriments, et de signaux à long terme qui informent de façon tonique de l'état nutritionnel de l'organisme. Les signaux de rassasiement et les signaux de satiété à court terme se chevauchent pour former un continuum dans le processus d'ingestion. Le SNC enregistre la capacité des aliments à satisfaire les besoins énergétiques pour moduler la sensation de satiété. Lors de futures rencontres avec des aliments similaires, ces informations pourront influencer les décisions alimentaires futures (choix alimentaires, quantité consommée).

Toutes les étapes du comportement alimentaire sont supervisées par des aires cognitives responsables des fonctions exécutives, les compétences permettant aux mammifères de manipuler des idées mentalement, de prendre le temps de réfléchir avant d'agir, de faire face à des défis nouveaux et imprévus, de résister aux tentations et de rester concentré (Diamond, 2013). Elles jouent un rôle essentiel dans la planification des repas et activités non alimentaires, dans l'évaluation des conséquences des choix alimentaires à long terme par rapport aux bénéfices à court terme et dans l'intégration des normes sociales et culturelles associées au comportement alimentaire (Vermeir et al., 2020). Par ailleurs, les besoins énergétiques et l'état physiologique de l'organisme sont pris en compte à chaque étape du contrôle du comportement alimentaire. Ils varient en fonction du sexe, de l'âge (particulièrement lors du développement), de la saison (photopériode, température), lors d'une grossesse, d'infections ou de maladie, …

Le comportement alimentaire s'exprime à travers diverses réponses, incluant des réponses motrices, autonomes et neuroendocriniennes. Certaines réponses motrices peuvent être déclenchées plus ou moins automatiquement en réponse à des informations sensorielles et concernent les mouvements des muscles de la face ainsi que ceux de la sphère orale et pharyngée. Ces mouvements sont associés à la mastication, la salivation et la déglutition (Miller, 2002). À cela s'ajoutent des réponses locomotrices, moins stéréotypées, qui s'adaptent à l'environnement et favorisent la recherche motivée de nourriture. Les réponses autonomes sont régulées par le système nerveux autonome, incluant les systèmes nerveux sympathique et parasympathique. Elles sont involontaires et en réponse à des stimuli liés à l'alimentation, afin de moduler l'absorption des nutriments et de mobiliser les réserves énergétiques (Messina et al., 2013). Enfin, les réponses neuroendocriniennes reposent sur la libération d'hormones en réponse à des signaux neuronaux. Ces hormones régulent l'appétit, la digestion et le métabolisme dans son ensemble et interagissent avec les centres de contrôle du comportement alimentaire (Valassi et al., 2008).

Le comportement alimentaire est ainsi un processus d'une complexité remarquable, impliquant non seulement une série d'étapes bien coordonnées, mais aussi une interaction sophistiquée entre les signaux intéroceptifs et extéroceptifs (**Figure 9**). L'interaction entre le SNC et le comportement alimentaire est à double sens. C'est une relation de haut en bas (top-down) puisque les contrôles centraux influencent le comportement alimentaire, l'anticipent et l'initient, mais aussi une relation de bas en haut (bottom-up) car les fonctions cérébrales sont largement influencées par le comportement alimentaire (Erickson et al., 2014).

I.1.2.3 - Circuits centraux du comportement alimentaire : une interface dynamique entre besoins et plaisir

Le comportement alimentaire ne se limite pas à la simple ingestion de nourriture pour satisfaire la faim. Il oriente les choix alimentaires vers des aliments qui procurent aussi de la satisfaction et du plaisir. Il s'inscrit dans un cadre social, culturel et économique et repose sur une interaction constante et active avec l'environnement et des actions orientées vers des objectifs pour se procurer de la nourriture ou planifier ses repas. Par définition, il s'agit d'un comportement motivé (Craig, 1917), nécessitant un état d'éveil pour engager des comportements de recherche de nourriture, identifier les indices associés à la nourriture et faire des choix alimentaires.

Un déficit énergétique entraîne une motivation accrue et déclenche un comportement alimentaire « homéostatique » visant à restaurer l'équilibre énergétique. Cependant, les mammifères montrent une préférence marquée pour les aliments riches en graisses et en sucre, ce qui les pousse à manger non pas par faim, mais pour le plaisir procuré par ces aliments (Erlanson-Albertsson, 2005). Cette motivation peut favoriser une alimentation opportuniste et hédonique, dépassant la simple réponse aux besoins énergétiques.

Face à cette distinction entre besoins et plaisir, le contrôle central du comportement alimentaire est parfois divisé en un contrôle homéostatique et un contrôle non-homéostatique (Berthoud, 2006; Saper et al., 2002 ; **Figure 10**).

Le contrôle homéostatique correspond aux processus contrôlés par le système nerveux central pour assurer la stabilité de la balance énergétique (Morton et al., 2006; Schwartz et al., 2000). Il est principalement assuré par l'hypothalamus médiobasal (HYPmb) et le tronc cérébral caudal (TCc), deux structures clés dans la modulation de la PA, des DE et du stockage des réserves.

Le contrôle non-homéostatique intègre la dimension émotionnelle et contextuelle de l'alimentation, influencée par l'environnement psychosocial et les habitudes culturelles (Hall et al., 2014; Mintz & Bois, 2002). Ce contrôle repose sur des mécanismes motivationnels et hédoniques, impliquant des circuits cérébraux non spécialisés dans la régulation alimentaire, mais essentiels dans la gestion des comportements motivés (Rossi et Stuber, 2018). Notamment, les aires corticales jouent un rôle fondamental dans la prise de décision, l'inhibition comportementale, le contrôle de l'attention et l'évaluation du plaisir associé à l'alimentation (Salehinejad et al., 2021; Val-Laillet et al., 2015). De plus, les circuits mésocorticolimbiques participent à la modulation de la récompense et de la motivation alimentaire (Berridge & Dayan, 2021), tandis que les régions impliquées dans la mémoire et l'apprentissage influencent la formation des préférences alimentaires et des habitudes (Holtzman, 2006).

Cette dichotomie reste largement simplificatrice, car les contrôles homéostatiques et non-homéostatiques sont profondément interconnectés (Ferrario et al., 2016). L'expérience subjective de l'alimentation illustre bien cette interdépendance : manger est plus agréable lorsque l'on a faim que lorsqu'on est rassasié, un phénomène que Cabanac (1971) a qualifié d'alliesthésie alimentaire. Réciproquement, la sensation de rassasiement ne répond pas uniquement à la satisfaction des besoins énergétiques, mais s'accompagne d'une diminution progressive du plaisir de manger et d'une sensation de plénitude (Cornil, 2017).

L'interdépendance se manifeste également sur le plan neuroanatomique (**Figure 10**). Certaines structures historiquement décrites comme impliquées dans les contrôles homéostatiques, comme l'HYP (Betley et al., 2015; Burdakov & Peleg-Raibstein, 2020; Saper & Lowell, 2014; Stuber & Wise, 2016) jouent également un rôle central dans la régulation motivationnelle et hédonique de l'alimentation. À l'inverse, des régions classiquement associées aux contrôles non-homéostatiques, telles que l'amygdale étendue (Izadi & Radahmadi, 2022; Kim & Kim, 2021) et le noyau parabrachial (PBN, (Zhao et al., 2023)) sont particulièrement sensibles aux variations du statut nutritionnel.

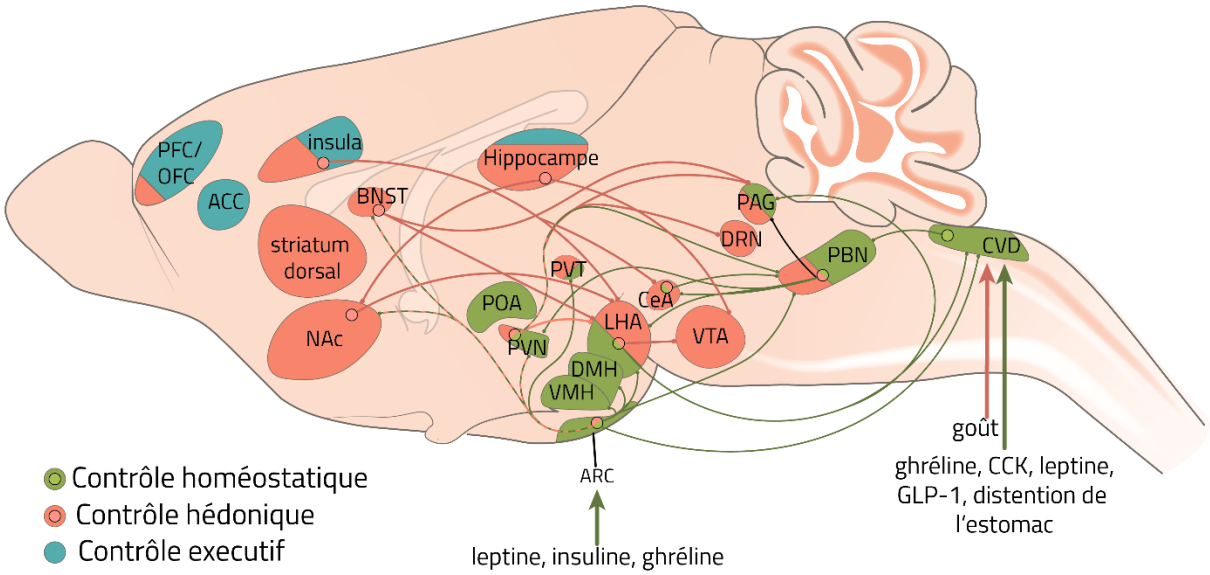


FIGURE 10 : REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DE QUELQUES MÉSOCONNEXIONS IMPLIQUÉES DANS LE CONTRÔLE HOMÉOSTATIQUE ET NON HOMÉOSTATIQUE DU COMPORTEMENT ALIMENTAIRE

Figure inspirée de Ahn et al. (2022), Caron & Richard (2017), Hao et al. (2020).

Bien qu'incomplète, cette figure illustre comment les circuits impliqués dans le contrôle homéostatique et hédonique du comportement alimentaire se superposent. Les aires cérébrales impliquées dans le contrôle homéostatique (en vert) sont principalement localisées dans le tronc cérébral et l'hypothalamus, jouant un rôle crucial dans la régulation de l'équilibre énergétique et des fonctions autonomes. Les régions impliquées dans les contrôles hédoniques (en rouge) sont principalement concentrées dans le cerveau moyen, influençant la motivation et le plaisir associés à l'alimentation. Les régions impliquées dans les contrôles cognitifs et les fonctions exécutives (en bleu) sont principalement des aires corticales, intégrant des aspects comme la prise de décision et la mémoire. Les macroconnexions peuvent soit être impliquées dans des fonctions autonomes et permettre de contrôler des composantes homéostatiques (lignes vertes), soit être associées à la motivation et à la composante hédonique du contrôle du comportement alimentaire (lignes rouges). Les connexions impliquées dans le contrôle exécutif ne sont pas représentées sur ce schéma. Les régions marquées sont approximatives.

Abréviations : **ACC** : Anterior cingulate cortex ; **BNST** : Bed nucleus of the stria terminalis (amygdale étendue); **CeA** : Central amygdala (amygdale étendue) ; **CVD** : Complexe Vagal Dorsal ; **DMH** : Dorsomedial hypothalamus ; **DRN** : Dorsal raphe nucleus ;**LHA** : Lateral hypothalamic area ; **NAc** : Nucleus accumbens ; **PAG** : Periaqueductal gray ; **PBN** : Parabrachial nucleus ; **PFC/OFC** : Prefrontal cortex/Orbitofrontal cortex ; **POA** : Preoptic area ; **PVN** Paraventricular nucleus ; **VMH** : Ventromedial hypothalamus ; **VTA** : Ventral tegmental area

En effet, les signaux métaboliques (voir **Tableau 2**), comme l'insuline, la leptine, la ghréline et la cholécystokinine (CCK), interagissent directement avec ces circuits et influencent des réponses émotionnelles, notamment l'anxiété et la peur (Alvarez-Crespo et al., 2012; Crespi, 2019; Izadi & Radahmadi, 2022; Kishi & Elmquist, 2005). Par exemple, Ip et al. (2019) ont montré que l'insuline module les neurones du noyau central de l'amygdale exprimant le neuropeptide Y (NPY) pour réduire l'appétit et augmenter la dépense énergétique. Un stress chronique, entraînant une réduction de l'expression des récepteurs à l'insuline (InsR) dans ces neurones, ou une délétion des InsR, conduisait à une augmentation de l'appétit et une diminution de la dépense énergétique, favorisant ainsi la prise de poids.

L'interaction être les régions cérébrales, qui sous tend cette interdépendance, est de mieux en mieux comprise grâce aux avancées dans l'étude des réseaux impliqués dans le contrôle du comportement alimentaire. Ce domaine a considérablement progressé avec l'exploration des macroconnexions (reliant différentes régions du SNC) et des mésoconnexions (connectant les neurones entre eux) (Swanson & Lichtman, 2016), rendue possible en partie grâce aux outils de chémogénétique et d'optogénétique. Cependant, l'organisation précise de ces circuits reste partiellement caractérisée. Si certaines interactions entre noyaux hypothalamiques ont été bien décrites (Dietrich & Horvath, 2009; Jobst et al., 2004) à la fois à l'échelle des régions cérébrales et des neurones, elles ne permettent pas encore d'établir un modèle global de réseau de contrôle du comportement alimentaire. La complexité cytoarchitecturale de certaines régions complique ces investigations.

La littérature sur les circuits neuronaux impliqués dans le contrôle du comportement alimentaire est particulièrement dense et diversifiée. Plutôt que d'en proposer une revue exhaustive, ce manuscrit met en avant plusieurs approches qui permettent d'appréhender ces réseaux sous différents angles. Ces perspectives vont au-delà de la simple distinction entre contrôle homéostatique et non-homéostatique et illustrent la complexité des interactions entre les différentes structures cérébrales impliquées :

❒ Centres de convergence

Certains chercheurs, tels que Berthoud (2007) ou Rossi & Stuber (2018), mettent en avant des centres de convergence où les signaux intéroceptifs et extéroceptifs associés au comportement alimentaire sont intégrés. Ces centres constituent des points d'intégration essentiels dans la régulation du comportement alimentaire.

❒ Systèmes de neurotransmetteurs

Les systèmes de neurotransmetteurs sont fondamentaux dans le contrôle du comportement alimentaire, assurant l'intégration et la transmission des informations neuronales. Par exemple, le système mélanocortinergique, qui implique de nombreuses régions cérébrales, est essentiel à l'homéostasie énergétique et la régulation du poids corporel (Krashes et al., 2016). De même, les systèmes sérotoninergique (van Galen et al., 2021), dopaminergique (Vucetic & Reyes, 2010), ocytocinergique (Romano et al., 2020) et orexinergique/hypocrétinergique (Barson, 2020; Li & de Lecea, 2020) jouent des rôles majeurs.

❒ Circuits de la temporalité du comportement alimentaire

Certains chercheurs se concentrent sur les différentes étapes du comportement alimentaire et décrivent des circuits spécifiques impliqués dans la recherche de nourriture, la consommation et l'arrêt des repas (Alcantara et al., 2022; Watts et al., 2022). Plusieurs aires cérébrales participent aux différentes étapes, soulignant la complexité et la coordination nécessaires pour réguler l'alimentation, indépendamment des contrôles homéostatiques ou hédoniques

❒ Réseaux d'intégration sensorimoteurs

Une approche plus intégrative repose sur les réseaux d'intégration sensorimoteurs, aussi appelés réseaux entrée-intégration-sortie, dans lesquels les signaux intéroceptifs et extéroceptifs sont transformés en réponses comportementales (Azevedo et al., 2022; Clifton, 2017; Mishra et al., 2017; Petrovich, 2018; Schwartz & Zeltser, 2013; Watts et al., 2022).

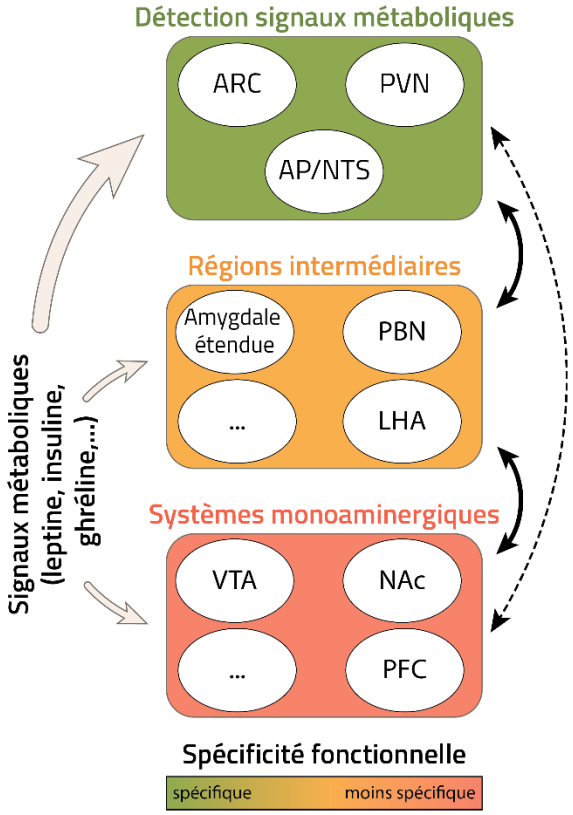


FIGURE 11 : MODÈLE INTEGRÉ SIMPLIFIÉ DES CIRCUITS ALIMENTAIRES.

Figure adaptée de Rossi et Stuber (2018).

Certaines régions cérébrales sont spécialisées dans la détection des signaux métaboliques (encadré vert) et sont principalement associées aux contrôles homéostatiques du comportement alimentaire. Les régions intermédiaires et monoaminergiques, ayant des fonctions moins spécifiques, contribuent à la récompense, l'aversion, la motivation et d'autres fonctions adaptatives, tout en influençant l'appétit et la régulation du poids corporel.
Il existe de fortes connexions réciproques entre les régions détectant les signaux métaboliques et les régions intermédiaires, ainsi qu'entre les régions intermédiaires et monoaminergiques. Les connexions directes entre les régions détectant les signaux métaboliques et les noyaux monoaminergiques sont relativement rares ou absentes (indiquées par la ligne pointillée).
Abréviations : **AP/NTS** : area postrema et noyau du tractus solitaire ; **ARC**, noyau arqué ; **LHA** : aire hypothalamique latérale ; **NAc** : noyau accumbens ; **PBN** : noyau parabrachial ; **PFC** : cortex préfrontal ; **PVN** : noyau paraventriculaire de l'hypothalamus ; **VTA** : aire tegmentale ventrale.

❒ Différentes composantes du comportement alimentaire

Enfin, certains auteurs décrivent des circuits spécifiques du comportement alimentaire sous différents angles, indépendamment des contrôles homéostatiques et non-homéostatique. Par exemple, Adan et al. (2008) distinguent des circuits dédiés au contrôle de la taille des repas, à la PA à long terme et à la motivation. Sternson & Eiselt (2017) présentent un modèle où le contrôle neural de la prise alimentaire repose sur trois principaux circuits ou piliers du contrôle du comportement alimentaire : un pilier associé à une valence négative (sensations désagréables de la faim), impliquant une population de neurones localisés dans l'HYPmb (les neurones *Agouti-Related Peptide* (AgRP) du noyau arqué de l'hypothalamus (ARC), voir **section I.1.3.2**, p 55) ; un pilier associé à une valence positive (récompense de la nourriture palatable), impliquant également l'hypothalamus (aire latérale hypothalamique, LHA) ; un pilier associé à l'aversion viscérale, impliquant les neurones du PBN et les signaux de satiété issus de la sphère gastro-intestinale.

L'HYPmb et le TCc s'intègrent pleinement dans ces différents modèles de réseaux impliqués dans le contrôle du comportement alimentaire (**Figure 11**). Mon projet de thèse s'est principalement focalisé sur ces régions cérébrales, avec une attention particulière portée au TCc. Bien que leurs fonctions « non-homéostatiques » et leurs interactions avec des régions cérébrales moins spécialisées dans le contrôle alimentaire ne soient pas ignorées, la suite du manuscrit s'attachera principalement à décrire leur contribution spécifique au contrôle de l'alimentation homéostatique.

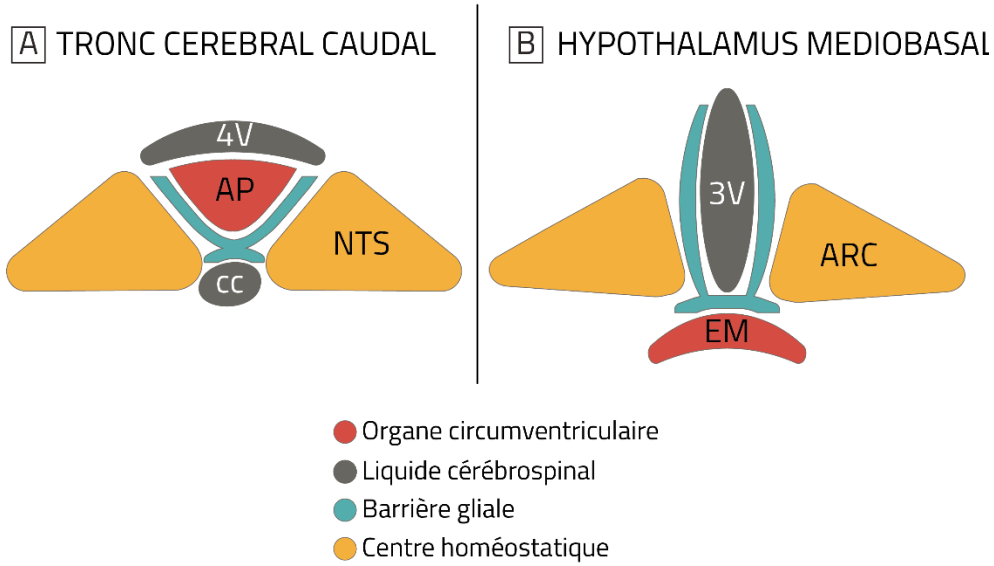


FIGURE 12 : INTERFACES SANG/CERVEAU SCHÉMATISÉES DU TRONC CÉRÉBRAL CAUDAL ET DE L'HYPOTHALAMUS MÉDIOBASAL

Les réseaux neuraux impliqués dans le contrôle homéostatique du comportement alimentaire sont en partie localisés dans le noyau du tractus solitaire (NTS) et le noyau arqué (ARC) (indiqués en jaune). Ces noyaux se trouvent à proximité des ventricules cérébraux (en gris) et des organes circumventriculaires (en rouge), *l'area postrema* (AP) et l'éminence médiane (EM). Les organes circumventriculaires sont caractérisés par une perméabilité élevée aux molécules sanguines grâce à la présence de capillaires fenestrés. Toutefois, une barrière gliale située à l'interface entre les centres homéostatiques, les ventricules et les organes circumventriculaires limite le passage de ces molécules vers le NTS et l'ARC.
Abréviations : **3V** : troisième ventricule **; 4V** : quatrième ventricule **; AP** : Area Postrema ; **ARC** : noyau arqué de l'hypothalamus ; **cc** : canal central ; **EM** : éminence médiane ; **NTS** : noyau du tractus solitaire.

I.1.3 - Hypothalamus médiobasal et Complexe vagal dorsal : des centres clés du contrôle de la balance énergétique

I.1.3.1 - Caractéristiques des centres de contrôle homéostatiques

Le contrôle central de la balance énergétique repose en partie sur les fonctions de l'hypothalamus médiobasal (HYPmb) et du tronc cérébral caudal (TCc). Ces régions constituent des centres d'intégration spécialisés, traitant une large diversité de signaux renseignant le SNC sur l'état nutritionnel de l'organisme, les niveaux de réserves énergétiques et les changements physiologiques influençant les besoins énergétiques actuels et futurs. Ces signaux sont principalement intéroceptifs et incluent des nutriments issus de la digestion, des signaux provenant du tractus gastro-intestinal et, plus largement, du système digestif, ainsi que des hormones d'adiposité, dont les concentrations circulantes sont proportionnelles à la masse grasse de l'organisme (voir **Tableau 2**, Montégut et al., 2021; Sobrino Crespo et al., 2014; Woods et al., 1998).

Leur capacité à assurer cette fonction d'intégration est permise par leur position stratégique au sein du SNC (**Figure 12**) :

❒ **Proximité avec les ventricules cérébraux**

Ils sont situés à proximité des ventricules cérébraux, des cavités sont remplies de liquide cérébrospinal (LCS), un fluide qui distribue des nutriments et diverses molécules à travers le SNC, facilitant ainsi la transmission des signaux métaboliques et hormonaux (Seeley & Woods, 2003; Veening & Barendregt, 2010; Zappaterra & Lehtinen, 2012). L'HYPmb est localisé près du troisième ventricule (3V), tandis que le TCc est situé à proximité du quatrième ventricule (4V).

❒ **Présence d'organes circumventriculaires (OCV)**

Ils abritent des organes circumventriculaires des organes circumventriculaires (OCV), des structures richement vascularisées et présentant des barrières hémato-encéphaliques incomplètes, facilitant l'accès des molécules véhiculées par le sang dont celles impliquées dans la régulation de la balance énergétique (Oldfield & McKinley, 2015, **section I.2.2.2 -**, p 71 pour une description plus détaillée des OCV). L'HYPmb abrite l'éminence médiane (EM), tandis que le TCc contient l'area postrema (AP), deux OCV essentiels dans la détection et la transmission des signaux périphériques vers les centres de contrôle cérébraux.

❒ **Présence de noyaux intégrateurs**

L'HYPmb et le TCc renferment des noyaux spécialisés dans l'intégration des signaux métaboliques. Le noyau arqué (ARC) de l'HYPmb et le noyau du tractus solitaire (NTS) du TCc hébergent des populations neurales sensibles aux variations de l'état énergétique de l'organisme et capables d'y répondre en ajustant leur activité. Leur activité influence en retour les réseaux neuronaux étendus contrôlant la prise alimentaire et le métabolisme énergétique (voir **section I.1.2.3**, p 46) ainsi que les systèmes nerveux autonome et neuroendocrinien, avec lesquels ces noyaux entretiennent des interactions étroites (Ganong, 2000). Cette connexion permet d'influencer l'activité des organes périphériques, notamment en régulant l'absorption des nutriments et la mobilisation des réserves énergétiques (Messina et al., 2013).

Grâce à cette organisation structurelle et fonctionnelle, l'HYPmb et le TCc jouent un rôle central dans la régulation de la balance énergétique. Ils modulent la dépense énergétique, orchestrent le stockage des lipides dans le tissu adipeux, régulent l'homéostasie glucidique et influencent la

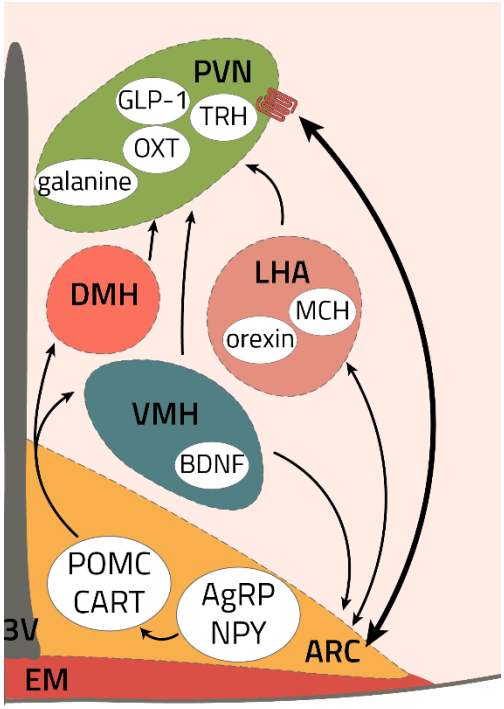


FIGURE 13 : RÉSEAUX INTRA-HYPOTHALAMIQUES

Schéma, inspiré de Yeo & Heisler (2012).

Représentation simplifiée des noyaux hypothalamiques et de leurs populations neuronales impliquées dans le contrôle de la balance énergétique et du comportement alimentaire. Quelques connexions intra hypothalamiques sont représentées par les flèches. La leptine, la ghréline ou encore l'insuline ont un accès facilité aux noyaux hypothalamiques depuis l'éminence médiane et ses capillaires fenestrés. Les connexions extra hypothalamiques ne sont pas représentées sur ce schéma.

Abréviations : **ARC** : noyau arqué de l'hypothalamus ; **BDNF** : Brain-Derived Neurotrophic Factor ; **CRH**: Corticotropin-Releasing Hormone ; **DMH** : noyau dorsomédial de l'hypothalamus ; **ERα** : Récepteur aux œstrogènes; **GLP-1** : Glucagon-Like Peptide 1 ; **LHA** : aire latérale de l'hypothalamus ; **MCH** : Melanin-Concentrating Hormone ; **NOS1** : Nitric Oxide Synthase 1 ; **OXT** : Oxytocin ; **PACAP** : Pituitary Adenylate CyclaseActivating Polypeptide ; **PVN** : noyau paraventriculaire de l'hypothalamus ; **TRH** : Thyrotropin-Releasing Hormone ; **VGAT** : Vesicular GABA Transporter ; **VGLUT2** : Vesicular Glutamate Transporter 2 ; **VMH** : noyau ventromédial de l'hypothalamus.

sensation de faim ou de satiété (Brüning & Fenselau, 2023; Myers et al., 2021, **Figure 14**). De plus, ces structures permettent de générer des réponses comportementales, neuroendocriniennes (Valassi et al., 2008) ainsi que des réponses motrices, essentielles à la régulation du comportement alimentaire.

I.1.3.2 - Région tubérale de l'hypothalamus

L'hypothalamus (HYP) compte parmi les premières régions cérébrales étudiées pour son rôle dans le contrôle du comportement alimentaire. Dans les années 1940, Hetherington & Ranson (1940) ont observé que des lésions de la partie médiobasal de l'hypothalamus (HYPmb), incluant le noyau arqué (ARC) et le noyau ventromédian (VMH), provoquaient une hyperphagie et une obésité marquée chez le rat, établissant ainsi un lien entre ces noyaux et le comportement alimentaire. Au sein de l'HYP, plusieurs noyaux participent au contrôle du comportement alimentaire (**Figure 13**).

Parmi ces derniers, l'ARC abrite de nombreuses populations neuronales impliquées dans le contrôle de la balance énergétique (Brüning & Fenselau, 2023; Guillebaud, 2019; Jais & Brüning, 2021). Il contient notamment deux populations neuronales aux effets opposés, souvent considérées comme des populations de neurones de premier ordre dans le maintien de la balance énergétique (Yu & Kim, 2012) : la première exprime le peptide apparenté à l'agouti (*Agouti-Related Peptide*, AgRP) et le neuropeptide Y (NPY), et la seconde, la pro-opiomélanocortine (POMC) et le transcrit associé à la cocaïne et aux amphétamines (*Cocaine- and amphetamine-related transcript* (CART)). Les neurones NPY/AgRP stimulent la prise alimentaire (fonction orexigène) et réduisent les DE, tandis que les neurones POMC/CART réduisent la prise alimentaire (anorexigène) et augmentent les DE (Balthasar et al., 2005; Gropp et al., 2005, **Figure 13**). Leur activité est modulée par des hormones périphériques, comme la leptine et l'insuline, ainsi que par des nutriments comme le glucose, les acides aminés et les lipides (Belgardt et al., 2009). Ces populations, en particulier les neurones POMC, sont néanmoins hétérogènes et ne répondent pas aux mêmes signaux (Horvath et al., 1997; Quarta et al., 2021).

Les neurones NPY/AgRP et POMC/CART exercent leurs effets par leurs projections, principalement vers d'autres noyaux hypothalamiques, parfois qualifiés de second ordre, comme ceux de l'aire latérale hypothalamique (LHA), le noyau paraventriculaire (PVN), le noyau ventromédian (VMH) et le noyau dorsomédial de l'hypothalamus (DMH) (Waterson & Horvath, 2015). Les effets de ces neurones sont dus aux peptides qu'ils libèrent et à leur fixation sur des récepteurs spécifiques. Par exemple, le NPY est un puissant stimulateur de la prise alimentaire lorsqu'il est injecté en intraventriculaire (Clark et al., 1984) ou directement au sein du PVN (Stanley & Leibowitz, 1984), et son action passe principalement par les récepteurs Y1 et Y5 (Belgardt et al., 2009). POMC, quant à lui, est une protéine précurseur qui peut être clivée en plusieurs peptides actifs, parmi lesquels l'α- et le β-MSH. Ces peptides réduisent la prise alimentaire et augmentent la dépense énergétique chez le rongeur mais aussi chez l'Homme (Fan et al., 1997; Lee et al., 2006). Ces effets sont médiés par le système mélanocortinergique, agissant via les récepteurs aux mélanocortines de type 3 (MC3R) et de type 4 (MC4R). L'AgRP agit comme un agoniste inverse de ses récepteurs pour prévenir l'effet anorexigène des mélanocortines (Lu et al., 1994), même si ses fonctions dépassent cette seule voie de signalisation (Hagan et al., 2000).

Le PVN est souvent considéré comme un « centre de la satiété », car une ablation de ses neurones (caractérisés par l'expression du facteur de transcription Single-minded homolog 1), ou de ses populations exprimant MC4R, conduit à une obésité chez le rongeur (Li et al., 2019; Shah et al., 2014 ; Balthasar et al., 2005; Gropp et al., 2005). Par opposition, la LHA est vue comme un "centre de la faim" (Cowley, 2003; Elmquist et al., 1999) et agit comme un hub à la frontière des contrôles homéostatiques et non homéostatiques du comportement alimentaire (Stuber & Wise, 2016).

Ces noyaux hypothalamiques interagissent pour recruter le système endocrinien, le système autonome et somatomoteur, ainsi que les réseaux étendus qui contrôlent le comportement alimentaire. Ensemble, ils permettent une régulation précise de la prise alimentaire, des DE et de l'homéostasie du glucose (Brüning & Fenselau, 2023).

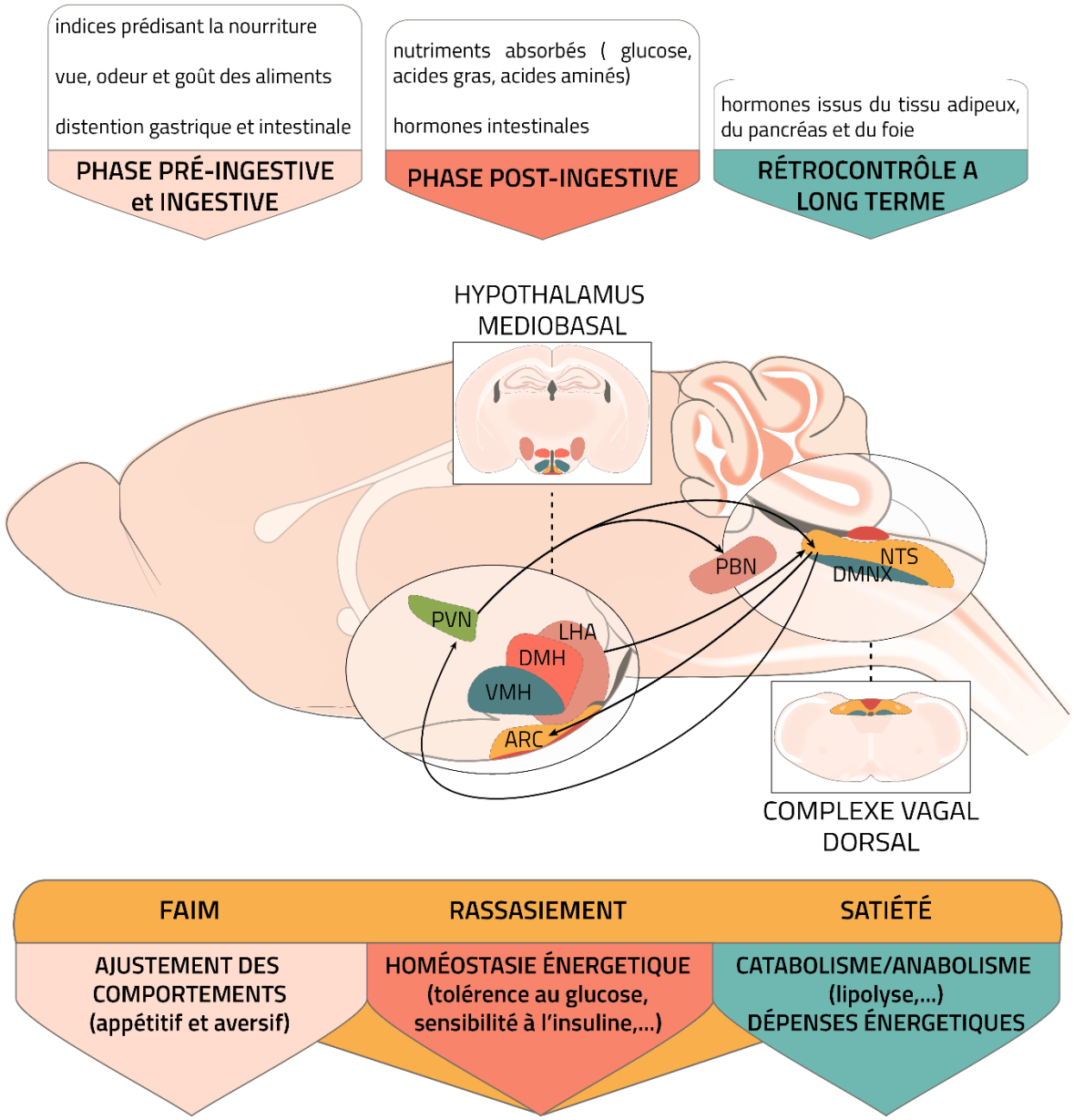


FIGURE 14 : L'HYPOTHALAMUS MÉDIOBASAL ET LE CVD, DEUX RÉGIONS INTERCONNECTÉES AU CŒUR DU CONTRÔLE COMPORTEMENT ALIMENTAIRE

Figure inspirée de Brüning & Fenselau, 2023.

Les signaux intégrés pour les contrôles homéostatiques (panel du haut) signalent l'état nutritionnel et physiologique de l'organisme et sont présents à toutes les phases du comportement alimentaire. L'hypothalamus médiobasal et le CVD du tronc cérébral sont des régions interconnectées au cœur de ces contrôles homéostatiques. Ils contrôlent toutes les étapes du comportement alimentaire (panel du bas), incluant la faim, le rassasiement et la satiété, et régulent le métabolisme énergétique ainsi que les dépenses énergétiques pour assurer la cohérence avec la prise alimentaire et maintenir la stabilité des réserves énergétiques. Par ailleurs, cette région cérébrale influence les comportements appétitifs et aversifs associés à l'alimentation. Les régions marquées sont approximatives.

Abréviations : **ARC** : noyau arqué de l'hypothalamus ; **DMH** : noyau dorsomédial de l'hypothalamus ; **DMNX** : noyau moteur du nerf vague ; **LHA** : aire latérale de l'hypothalamus ; **NTS** : noyau du tractus solitaire ; **PBN** : noyau parabrachial ; **PVN** : noyau paraventriculaire de l'hypothalamus ; **VMH** : noyau ventromédial de l'hypothalamus.

Les cellules non neuronales de l'HYP jouent également un rôle essentiel dans le contrôle de l'équilibre énergétique (García-Cáceres et al., 2019; Nampoothiri et al., 2022). Ces cellules détectent de nombreuses molécules pertinentes pour la régulation de la balance énergétique et peuvent également libérer des molécules modulant l'activité des réseaux neuronaux de l'HYPmb. Les populations gliales, notamment les astrocytes et les microglies, sont impliquées dans la modulation de l'activité neuronale et la réponse aux signaux métaboliques comme le glucose, les acides gras, et les hormones telles que la leptine et l'insuline.

I.1.3.3 - Tronc cérébral caudal et interconnections avec l'hypothalamus médiobasal

Le TCc, en particulier le complexe vagal dorsal (CVD), présente des similitudes fonctionnelles avec l'HYPmb. Il intègre des signaux métaboliques humoraux qui peuvent également agir sur les réseaux neuraux de l'HYP, ainsi que des signaux spécifiques transmis principalement par voie nerveuse. En réponse à ces signaux, le CVD régule la taille des repas (Berthoud et al., 2006), la réponse aux ingestions nocives et potentiellement toxiques (Miller & Leslie, 1994), ainsi que le poids corporel (Cheng et al., 2022). Des circuits spécifiques au sein du CVD, et notamment ceux impliquant le noyau du tractus solitaire (NTS), sont capables d'inhiber le comportement alimentaire. Ces circuits jouent un rôle crucial en réponse à la glucoprivation, une condition où le niveau de glucose disponible est insuffisant, ce qui peut être causée par l'hypoglycémie ou un blocage du métabolisme du glucose (Roh et al., 2016).

Le CVD et ses contributions au contrôle du comportement alimentaire font l'objet du Chapitres 2 et 3 de cette revue de la littérature.

L'HYPmb et le TCc sont interconnectés pour réguler l'équilibre énergétique. Les circuits réciproques entre ces régions s'opèrent principalement entre les neurones de l'ARC, du PVN et de LHA de l'HYP et les neurones du NTS du TCc. Ces connexions peuvent être directes ou indirectes, avec un relais au sein du PBN ou du thalamus. Elles sont essentielles pour l'intégration des signaux provenant des organes périphériques, signalant l'état nutritionnel de l'organisme à la fois à court et à long terme. Ces connexions, sont discutées à la **section I.2.2.3**, p 76.0

TABLEAU 1 : PRINCIPALES RÉPONSES EN PHASE CEPHALIQUE

Schéma traduit et adapté de Zafra et ses collaborateurs, (2006).

Les réponses céphaliques aux indices alimentaires ou à la perception des aliments précèdent l'ingestion de nourriture. Ce sont principalement des réponses sécrétoires qui déclenchent la libération de substances chimiques et d'enzymes le long du tractus gastro-intestinal. Bien qu'elles impliquent également des réponses non-sécrétoires.

	REPONSE	FONCTION(S)	REFERENCES
Cavité buccale	Salivation (et libération d'enzymes digestives)	Lubrification et protection de la muqueuse orale ; Améliore la perception du goût Initie la digestion de l'amidon et des lipides	**Découverte :** Pavlov, 2010) **Fonctions :** (Mattes, 2000; Pedersen et al., 2002)
Estomac	Sécrétion d'acide chlorhydrique	Dégradation des aliments	***Découverte :*** (« The Work of the Digestive Glands », 1903)
	Sécrétion de gastrine	Production d'acide gastrique	***Découverte :***(Feldman et al., 1979) ***Fonctions :***(G. Dockray et al., 2005)
	Sécrétion d'enzymes digestives (lipase)	Dégradation des graisses	***Découverte :***(« The Work of the Digestive Glands », 1903) ***Fonctions :***(Miled et al., 2000)
	Sécrétion de leptine	Inhibition de la vidange gastrique Stimulation des sécrétions pancréatiques	***Découverte :*** (Konturek & Konturek, 2000) ***Fonctions :*** (Picó et al., 2003)
	Ghréline	Action orexigène	***Découverte :***(Arosio et al., 2004) ***Fonctions :*** (Ueno et al., 2005)
	↗ Activité motrice gastrique	Facilite la vidange gastrique	***Découverte :***(Stern et al., 1989) ***Fonctions :***(Janssen et al., 2011)
Duodénum	Sécrétion de bicarbonate	Neutralisation de l'acide gastrique	***Découverte :***(Ballesteros et al., 1991) ***Fonctions :*** (Konturek et al., 2004)
Fonction cardiovasculaire	Fréquence cardiaque / Variabilité de la fréquence cardiaque	Indique l'excitation / activité sympathique, y compris l'activité vagale	Découverte :(Giduck et al., 1987) Fonctions : (Chang et al., 2021)
Systémique	Thermogenèse post-prandiale	Résulte de l'augmentation du taux métabolique. Fonction inconnue	***Découverte :*** (S. McGregor & Lee, 1995) ***Fonctions :*** (LeBlanc, 2000)
Pancréas	Sécrétion d'enzymes digestives (lipase, amylase, trypsine, chymotrypsine)	Dégradation des graisses, des glucides et des protéines	***Découverte :*** (Preshaw et al., 1966) ***Fonctions :*** (Veedfald et al., 2016)
Pancréas	Sécrétion d'insuline	Prévention contre une hyperglycémie postprandiale Absorption des acides aminés	***Découverte :*** (H. R. Berthoud et al., 1980) ***Fonctions :*** **(O**sundiji & Evans, 2013)
	Sécrétion de glucagon	Prévention contre l'hypoglycémie induite par les repas riches en protéines	***Découverte :***(Secchi et al., 1995) ***Fonctions :*** (Osundiji & Evans, 2013)
	Sécrétion de polypeptide pancréatique	Inhibition de la sécrétion pancréatique ; Inhibition de la vidange gastrique ; Action anorexigène	***Découverte :*** (Taylor et al., 1978) ***Fonctions :*** (Morricone et al., 2000; Williams, 2014)

MOLECULE	ORIGINE, PRODUCTION	RECEPTEURS, CIBLE	PRINCIPAUX EFFET CENTRAUX SUR LE COMPORTEMENT ALIMENTAIRE OU LE METABOLISME	REFERENCE
Signaux d'adiposité *Pour qu'une molécule puisse informer des niveaux de réserve énergétique adipeuses elle doit : 1) circuler à des niveaux proportionnels à la teneur de masse grasse de l'organisme, 2) agir les systèmes neuronaux impliqués dans l'homéostasie de l'énergie et 3) l'altération de ses actions sur les neurones doit augmenter l'apport alimentaire et le poids corporel (Morton et al., 2006). Seules les actions sur le SNC de ces peptides sont indiquées dans le tableau.*				
LEPTINE Hormone de la superfamille des cytokines 16 kilodalton (kDa)	Principalement sécrétée par les adipocytes (tissu adipeux blanc)	**LepR** (différentes isoformes produites à partir d'un même gène-épissage alternatif ou processus protéolytique). LepRb (forme longue): la plus exprimée et la principale responsable des effets de la leptine sur la balance énergétique. **Principaux sites centraux d'expression des LepR :** Hypothalamus (ARC, VMH, DMH, LH) Tronc cérébral caudal (NTS, AP) Forebrain,midbrain	**ANOREXIGENE, CATABOLIQUE** Module l'activité de plusieurs neurones qui sécrètent des peptides anorexigènes ou orexigènes. Module l'action d'autres signaux métaboliques (CCK, ghréline) Favorise la thermogenèse, augmente l'activité locomotrice	(Auwerx & Staels, 1998; Balland et al., 2019; Boston et al., 1997; Obradovic et al., 2021; Seeley et al., 1997; Xu et al., 2018)
INSULINE 5,8 kDa	Principalement par les cellules β des îlots de Langerhans. (Pancréas)	**InsR :** récepteur à activité tyrosine kinase **Principaux sites centraux d'expression des Ins** Blube olfactif, cortex,hippocamppe, cervelet, striatum, thalamus, midbrain, Hypothalamus (ARC, VMH, DMH,PVN) Tronc cérébral caudal (NTS, AP, DMNX)	**ANOREXIGENE, CATABOLIQUE** Module l'activité de plusieurs neurones qui sécrètent des peptides anorexigènes ou orexigènes. Augmente les effets de satiété induits par la CCK Favorise la thermogenèse, augmente l'activité locomotrice	(Dodd et al., 2018; Fernandez & Torres-Alemán, 2012; Kullmann et al., 2020; Scherer et al., 2021; Schulingkamp et al., 2000; Woods et al., 1998)
Régulateurs intestinaux de l'appétit *Ces peptides sont principalement libérés en réponse à la présence de nutriments dans la lumière intestinale et ont majoritairement une action anorexigène. La plupart de ces peptides ont des actions sur le SNC et sur les organes périphériques, ici ne sont abordé que les effets centraux.*				
CHOLECYSTOKININE (CCK) multiples formes biologiquement actives, CCK-8 et CCK-33 sont les plus étudiées CCK-8 : 1,1 kDa	Principalement libérée par le duodénum et du jéjunum en réponse à la présence de graisses et de protéines Aussi libérée par certains neurones du NTS	Récepteurs couplés à des protéines G : - **CCK A / CCK 1** (expression principalement périphérique, permet la stimulation des afférences vagales) ; principalement Gs et Gq **-CCK B / CCK 2** (expression centrale et périphérique) ; principalement Gq **Principaux sites centraux d'expression des CCKR**	**ANOREXIGENE-Hormone de rassasiement** Stimule l'arrêt du repas ; initie une séquence de comportements typiques de la satiété. L'administration répétée ou chronique de CCK n'a pas effet sur le poids corporel car la régulation à court terme de la taille des repas est supplantée par le bilan énergétique global	(G. J. Dockray, 2009; Honda et al., 1993; L. J. Miller et al., 2021; Sekiguchi, 2021; Wank, 1995)

MOLECULE	ORIGINE, PRODUCTION	RECEPTEURS, CIBLE	PRINCIPAUX EFFET CENTRAUX SUR LE COMPORTEMENT ALIMENTAIRE OU LE METABOLISME	REFERENCE
		Cortex, amygdale, bulbe olfactif Tronc cérébral caudal (NTS, AP, DMNX)		
GLUCAGON LIKE PEPTIDE 1 ***(GLP-1)*** *Et l'agonsiste Exendin* 3,3 kDa	Libérée par les cellules enteroendocrine surtout présentes dans l'ileum et le colon (sous la forme de proglucagon) Augmentation après un repas proportionnellement à la valeur calorique ingérée Aussi libérée par les neurones préproglucagon du NTS	**GLP-1-R :** Récepteurs couplés à des protéines Gs **Principaux sites centraux d'expression des GLP-1R** Hypothalamus (PVN, DMH, LHA, ARC, aire préoptique) PBN Tronc cérébral caudal (NTS, AP) VTA/NAc, amygdale étendue	**ANOREXIGENE - Hormone de satiété** Diminution de la prise alimentaire et perte de poids corporel à long terme ; rôle dans l'arrêt du repas ; augmentation de la sécrétion d'insuline ; choix et préférences alimentaires : prévient un apprentissage excessif d'une récompense alimentaire. Ne peut passer la BHE(Barrière Hémato-Encéphalique) que lorsqu'il est sécrété à des niveaux élevés ; la demi-vie du GLP-1 dans le plasma n'est que de 1 à 2 minutes.	(Hayes, De Jonghe, et al., 2010; Skibicka, 2013; Trapp & Brierley, 2022; Trapp & Hisadome, 2011)
PEPTIDE TYROSINE-TYROSINE et NEUROPEPTIDE Y ***(PYY)*** 4,3 kDa	Libérée par les cellules enteroendocrine de l'ileum et du colon après l'ingestion de protéines et de lipides	**Récepteurs Y** : récepteurs couplés aux protéines Gi. 5 sous types (Y1-Y5). PYY a la plus haute affinité pour Y2 **Principaux sites centraux d'expression des Y2** Hypothalamus (ARC) Hippocampe Afférences du vague	**ANOREXIGENE - Hormone de satiété** Hormone de satiété Agit sur les afférences vagales pour transmettre des signaux de satiété au SNC/ Agit principalement sur les neurones POMC et AgRP Rôle dans la vidange et la motilité gastrique ; contribution dans l'homéostasie du glucose	(Alonso et al., 2024; C. H. Chen & Rogers, 1995; De Silva & Bloom, 2012; Samms et al., 2022; Ueno et al., 2008)
Autres signaux issus de la sphère digestive				
GHRELINE 3,3 kDa	Principalement par l'estomac, avec des taux qui augmentent avant le repas. Seule la forme acétylée est active	**Récepteurs GHS1R** : récepteurs couplés aux protéines Gq. Hétéromérisation avec d'autres récepteurs comme 5-HT2C, D1R, MC3R. **Principaux sites centraux d'expression des GHS1R** Hypothalamus (ARC, PVN, LHA, DMH, noyau suprachiasmatique, VMH) Tronc cérébral caudal (AP, NTS, DMNX) VTA, hippocampe.	**OREXIGENE** Sert de signal préprandial d'initiation de repas ; participe à l'homéostasie du glucose et à la stimulation de la libération d'insuline ; impliqué dans la motilité et l'activité gastrique	(Andrews, 2011; Fry & Ferguson, 2010; Hedegaard & Holst, 2020; López & Nogueiras, 2023; Sovetkina et al., s. d.; Zigman et al., 2006)

MOLECULE	ORIGINE, PRODUCTION	RECEPTEURS, CIBLE	PRINCIPAUX EFFET CENTRAUX SUR LE COMPORTEMENT ALIMENTAIRE OU LE METABOLISME	REFERENCE
Amyline	Principalement par les cellules β des îlots de Langerhans. (Pancréas) co-sécrétée avec l'insuline par les cellules cellules β en réponse à l'augmentation des niveaux de glucose dans le sang.	**Récepteurs à la calcitonine (CalcR) :** L'affinité du CTR pour l'amyline augmente de manière significative lorsqu'il est associé à l'une des protéines RAMP, créant ainsi des récepteurs spécifiques à l'amyline. Le complexe **CalcR-Ramp3** est particulièrement pertinent dans le contexte de l'effet de l'amyline sur la satiété et la régulation de l'énergie, ainsi que dans certaines réponses cardiovasculaires. **Principaux sites centraux d'expression des CalcR-Ramp3 :** Tronc cérébral caudal (AP, NTS) Hypothalamus (ARC) Amygdale, cortex insulair	**ANOREXIGENE - Hormone de satiété** Hormone de satiété, ralentit la vidange gastrique, ce qui retarde l'absorption du glucose dans le sang, et inhibe la sécrétion de glucagon, une hormone qui stimule la libération de glucose par le foie.	(Boccia et al., 2020; Lutz, 2012; Mietlicki-Baase, 2016)

TABLEAU 2 : PRINCIPAUX SIGNAUX INTÉROCEPTIFS IMPLIQUÉS DANS LE CONTRÔLE DU COMPORTEMENT ALIMENTAIRE

Les nutriments ne sont pas inclus dans ce tableau. Pour une vision plus complète de ces signaux, voir (Montégut et al., 2021; Sobrino Crespo et al., 2014; Woods et al., 1998).
Abréviations : **AgRP** : Agouti-Related Peptide ; **AP** : Area Postrema ;**ARC** : Noyau arqué de l'hypothalamus ; **CalcR** : Récepteurs à la calcitonine ; **CCK** : Cholecystokinine ; **CCKR** : Récepteurs à la cholecystokinine ; **DMH** : Noyau dorsomédial de l'hypothalamus ; **DMNX** : Noyau moteur dorsal du nerf vague ; **GHS1R** : Récepteurs du Growth Hormone Secretagogue Receptor ; **GLP-1** : Glucagon-Like Peptide 1 ; **GLP-1-R** : Récepteurs du Glucagon-Like Peptide 1 ; **InsR** : Récepteur à l'insuline ; **LepR** : Récepteurs à la leptine ; **LHA** : Aire latérale de l'hypothalamus ; **MC3R** : Récepteur 3 des mélanocortines ; **NAc** : Noyau accumbens ; **NTS** : Noyau du tractus solitaire ; **PBN** : Noyau parabrachial ; **POMC** : Proopiomélanocortine ; **PVN** : Noyau paraventriculaire de l'hypothalamus ; **RAMP** : Receptor Activity-Modifying Protein ; **VMH** : Noyau ventromédial de l'hypothalamus ; **VTA** : Aire tegmentale ventrale ; **Y1-Y5** : Sous-types des récepteurs Y pour le neuropeptide Y (NPY) et le peptide YY (PYY).

Conclusion du Chapitre 1

Ce premier chapitre avait pour objectif d'explorer comment l'homéostasie énergétique est maintenue par des contrôles complexes et dynamiques du comportement alimentaire. Ces contrôles vitaux sont orchestrés par le SNC. Ils permettent l'anticipation comportementale et physiologique des repas, l'assimilation adéquate des nutriments, vitamines et minéraux, ainsi que la gestion des réserves énergétiques et de l'énergie circulante pour répondre aux besoins physiologiques et non physiologiques de l'organisme.

Pour contrôler le comportement alimentaire, le SNC : 1) reçoit et intègre des signaux intéroceptifs, nerveux, humoraux, et extéroceptifs. Il analyse l'environnement et les besoins du corps à court terme (pendant un repas) et à long terme (sur plusieurs jours ou semaines) ; 2) orchestre et coordonne des réponses motrices, autonomes et neuroendocriniennes pour adapter le comportement alimentaire au contexte interne et environnemental. Cette coordination inclut la gestion de la motivation, du plaisir, du désir et des besoins physiologiques, exprimés en partie à travers le cycle appétit-rassasiement-satiété.

Les réseaux neuronaux impliqués, répartis dans de nombreuses régions cérébrales, reposent sur des systèmes peptidergiques et de neurotransmetteurs divers pour assurer cette coordination complexe. Ces réseaux incluent les cellules neurales de l'HYPmb et du CVD du TCc, spécialisées dans le contrôle de l'alimentation homéostatique, protégeant l'organisme contre les déficits énergétiques et caloriques.

Le cœur de mon projet se concentre principalement sur une région du SNC, le CVD, qui fait l'objet des Chapitres 2 et 3 de ce manuscrit. Cette région, souvent négligée dans l'étude du comportement alimentaire, occupe aujourd'hui une place centrale dans les modèles de réseaux contrôlant ce comportement, en raison de à sa capacité à intégrer une multitude de signaux métaboliques acheminés par des voies nerveuses et humorales. Le CVD est également au cœur de l'axe intestin-cerveau, dont la contribution au comportement alimentaire est de plus en plus reconnue.

L'une des caractéristiques remarquables du TCc est sa capacité à générer des comportements alimentaires de manière relativement autonome, même lorsqu'il est isolé des régions supérieures du cerveau comme le cortex, les structures limbiques et l'HYP (Grill & Kaplan, 2002). Il régule les fonctions autonomes digestives, contrôle la taille des repas et la sensation de rassasiement, et déclenche des réponses compensatoires pour restaurer l'homéostasie du glucose.

I.2 - CVD et contrôle de la balance énergétique

Le CVD est une structure cérébrale hautement conservée qui exerce un rôle de premier plan dans la régulation de fonctions autonomes vitales et dans le maintien de l'homéostasie. C'est le premier point de passage pour les signaux afférents transmis par les nerfs crâniens. Il supervise de manière étroite des processus vitaux tels que la respiration et la fréquence cardiaque (Smith et al., 2009; Zoccal et al., 2014). En plus de sa contribution fondamentale à la physiologie cardiorespiratoire, le CVD est étroitement associé au système gastro-intestinal, ce qui lui permet de jouer un rôle essentiel dans la digestion, la régulation du métabolisme et le contrôle de l'appétit (Berthoud et al., 2006).

I.2.1 - Anatomie du CVD

I.2.1.1 - Positionnement du CVD

Le CVD est situé dans la portion la plus caudale du tronc cérébral, appelée la *medulla oblongata* ou moelle allongée (anciennement le bulbe rachidien). La moelle allongée est protégée par l'os occipital et localisée à proximité du foramen magnum, un orifice large qui sert de passage entre la cavité crânienne et le canal vertébral. C'est la région localisée ventralement par rapport au cervelet qui connecte la moelle épinière au reste du tronc cérébral (**Figure 15**). La moelle allongée, comme les autres régions du tronc cérébral (le pont et le mésencéphale) est généralement divisée anatomiquement dans l'axe dorsoventral et dans l'axe rostrocaudal. De façon très schématique, les parties les plus ventrales de la moelle allongée ont des fonctions motrices alors que les parties les plus dorsales ont des fonctions sensorielles. De plus, une vaste région de la moelle allongée antérieure est responsable des fonctions cardiovasculaires (Iordanova & Reddivari, 2024), tandis que la région caudale est principalement impliquée dans les fonctions viscérales.

Le CVD est positionné dans la partie médiane, dorsale et caudale de la moelle allongée (**Figure 15**). Au sein du CVD, les informations sensorielles provenant de différents organes périphériques sont organisées selon un axe rostro-caudal, on parle de viscérotopie rostro-caudale. En revanche, les sorties motrices vagales sont alignées en colonnes le long d'un axe dorso-ventral (Berthoud, 2004). Cette organisation anatomique permet une intégration complexe et efficace des signaux sensoriels et des réponses motrices dans le TCc, facilitant ainsi des réflexes précis et coordonnés pour la régulation des fonctions corporelles vitales.

I.2.1.2 - Architecture du CVD

Le CVD est composé de trois structures distinctes : le noyau du tractus solitaire (NTS), le noyau moteur dorsal du nerf vague (DMNX) et l'AP. Il est généralement divisé en trois niveaux anatomiques sur des sections coronales : la partie rostrale, la partie postrémale, et la partie caudale qui est prolongée par la moelle épinière (pour plus de détails sur l'anatomie du CVD chez le rongeur, voir Barraco et al. (1992) et Ganchrow et al. (2013).

I.2.1.2.1 - Noyau du tractus solitaire (NTS)

Le NTS constitue une partie significative du CVD. Il est composé de plusieurs sous-noyaux viscérosensoriels, responsables du traitement d'une variété d'informations sensorielles, notamment la pression artérielle, la composition chimique du sang, la distension gastrique, et, de

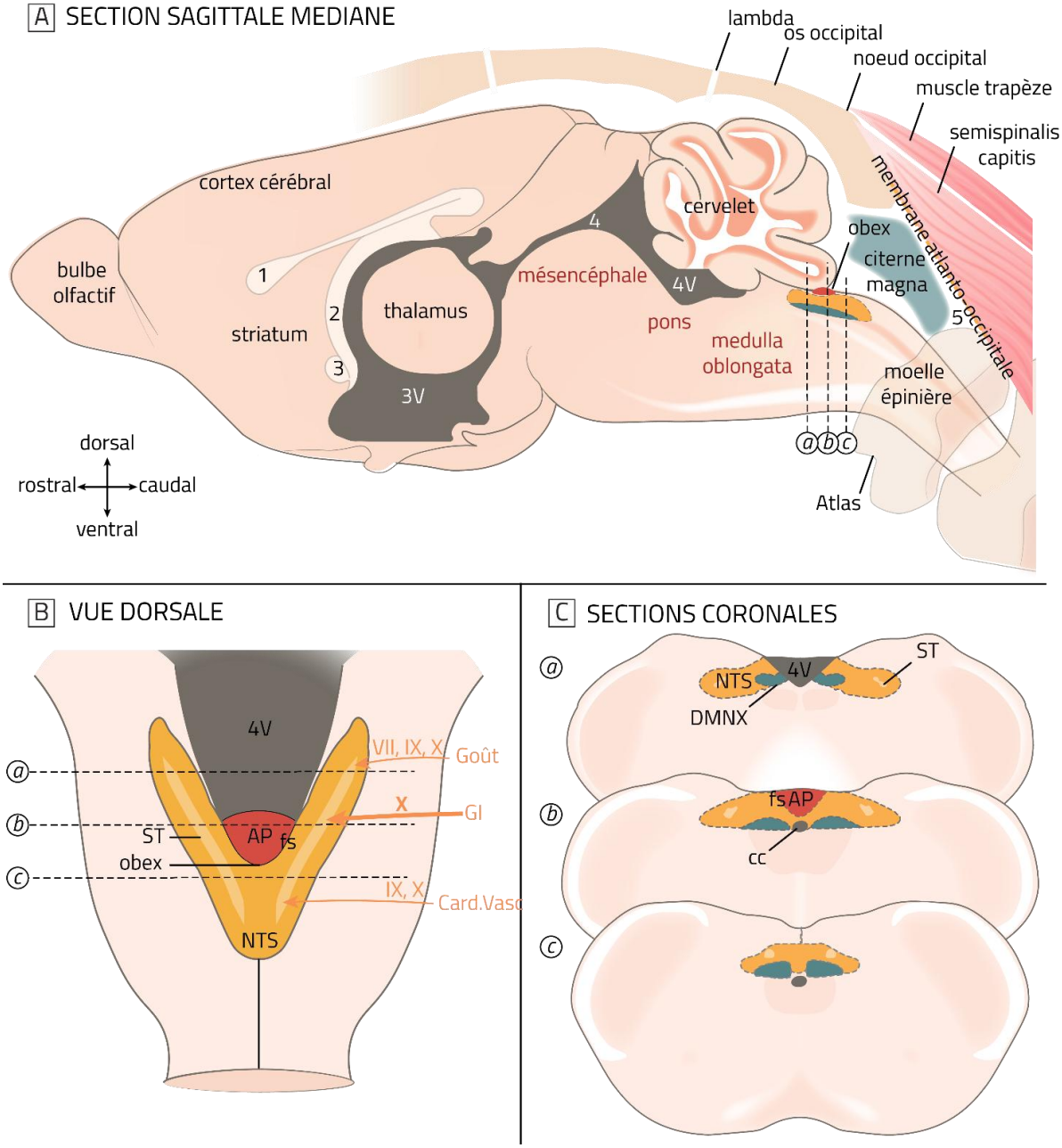


FIGURE 15 : SITUATION SCHÉMATISÉE DU CVD

Figure inspirée de Cutsforth-Gregory & Benarroch (2017) et Schröder et al. (2020).

A. Cette illustration d'une coupe sagittale médiane du cerveau de souris, montre le tronc cérébral localisé sous le cervelet, à l'arrière du cerveau, où il assure la jonction entre l'encéphale et la moelle épinière. Il est orienté face aux structures du diencéphale dont le thalamus et l'hypothalamus. Le tronc cérébral se compose du mésencéphale (la partie rostrale), du pons (aussi appelé pont de Varole), et de la médulla oblongata (moelle allongée). Il est parcouru par le quatrième ventricule (4V). La médulla oblongata se situe sous le foramen magnum, un passage formé par l'os occipital et l'atlas (la première vertèbre cervicale). Dans cette région, le système nerveux central est protégé par la membrane atlanto-occipitale (dure-mère) et par les muscles trapèze et semispinalis capitis. Le CVD est localisé près de l'obex, un repère anatomique situé à la transition entre la médulla oblongata et la moelle épinière. L'obex marque le point où le 4V se rétrécit pour continuer en tant que canal central de la moelle épinière. Les repères ***(a), (b) et (c)*** indiquent respectivement les positions anatomiques des portions rostrale, postrémale et caudale du CVD.

manière plus générale, l'état métabolique de l'organisme. Ces informations sont principalement acheminées via le tractus solitaire, également appelé faisceau solitaire (TS) qui relie le tronc cérébral aux organes périphériques. Le TS est un faisceau fortement myélinisé, constitué de fibres afférentes provenant de plusieurs nerfs crâniens : le nerf trijumeau (Ve paire de nerfs crâniens), le nerf facial (VIIe paire), le nerf vague (Xe) et le nerf glossopharyngien (IXe). Le nerf facial véhicule la majorité des informations gustatives, tandis que les informations viscérosensorielles provenant des organes abdominaux et thoraciques, ainsi que des barorécepteurs de l'aorte et de la carotide, sont transmises par le nerf vague et le nerf glossopharyngien.

Les sous-noyaux du NTS sont disposés autour du TS, suivant une organisation topographique fonctionnelle approximative des afférences. Le NTS rostral reçoit les afférences du nerf facial et du nerf glossopharyngien, principalement de nature gustative, tandis que les parties intermédiaires et caudales du NTS reçoivent principalement les projections du nerf vague, responsables des afférences gastro-intestinales et cardiorespiratoires. La partie intermédiaire du NTS, située sous l'area postrema, est désigné comme le NTS commissural ou postrémal et reçoit des afférences convergentes issues des quatre paires de nerfs crâniens (Contreras, Fox, et al., 1982). Pour une topographie plus détaillée des afférences reçues par le nerf vague, voir les travaux de Cutsforth-Gregory & Benarroch (2017) et Neuhuber & Berthoud (2021).

Le rôle du NTS ne se limite pas au traitement des informations transmises par les nerfs crâniens. Il établit de nombreuses connexions avec le reste du SNC, ce qui lui permet de participer à diverses fonctions vitales, dont le contrôle de la balance énergétique.

I.2.1.1.2.2 - L'area postrema (AP)

L'AP (Area Postrema) est une petite structure médiane restreinte à la partie postrémale du CVD, sur sa face dorsale et au-dessus du NTS. Elle se trouve près des extrémités caudales du 4V, à la transition vers le canal central de la moelle épinière. Sur le plan morphologique, l'AP présente des différences entre les rongeurs et l'Homme: chez l'Homme, elle est divisée en deux segments distincts (Duvernoy & Risold, 2007). Néanmoins, chez les deux espèces, longitudinalement, elle forme une structure en V, dont la pointe est située à l'obex. L'AP est un organe circumventriculaire, avec une vascularisation dense composée, en partie, de capillaires qui sont dépourvus de BHE (Allen Institute for Brain Science et al., 2008 ; McKinley et al., 2003). C'est une région du TCc considérée comme ouverte, qui permet des échanges importants avec le compartiment vasculaire (Price et al., 2008 et **section I.2.2.2 -**, p 71). Le *funiculus separens* est la région qui longe la frontière entre le NTS et l'AP. Cette crête oblique agit comme une barrière partielle en limitant la diffusion de certaines substances du sang vers le parenchyme (Dallaporta et al., 2009).

FIGURE 15 SUITE.

B. La face dorsale du tronc cérébral caudal (vue du dessus) laisse apparaître le triangle formé par le noyau du tractus solitaire, à l'extrémité du 4V. C'est sur cette face que l'on peut le plus distinguer l'obex, à proximité directe de l'*area postrema*. Les flèches schématisent les afférences périphériques principales reçues par le NTS au travers du TS, mettant en lumière la viscérotopie rostro-caudale.
C. Représentation des trois niveaux anatomiques classiquement décrits du CVD : rostral ***(a)***, postrémal ***(b)*** et caudal ***(c)***. L'*area postrema* est restreinte à la portion postrema du CVD.
Abréviations : **1** : corpus callosum ; **2** : fornix ; **3** : commissure antérieure ; **4** : aqueduc du mésencéphale ; **5** : foramen magnum ; **3V** : troisième ventricule ; **4V** : quatrième ventricule ; **AP**: *area postrema* ; **Card.Vasc** : afférences cardiovasculaires ; **cc** : canal central ; **DMNX**: noyau moteur du nerf vague ; **fs :** *funiculus separens* ; **GI** : afférences gastro-intestinales ; **NTS**: noyau du tractus solitaire ; **ST**: tractus solitaire ; **V :** nerf trijumeau (Ve paire de nerf crâniens) ; **VII :** le nerf facial ; I**X :** nerf glossopharyngien ; **X :** nerf vague.

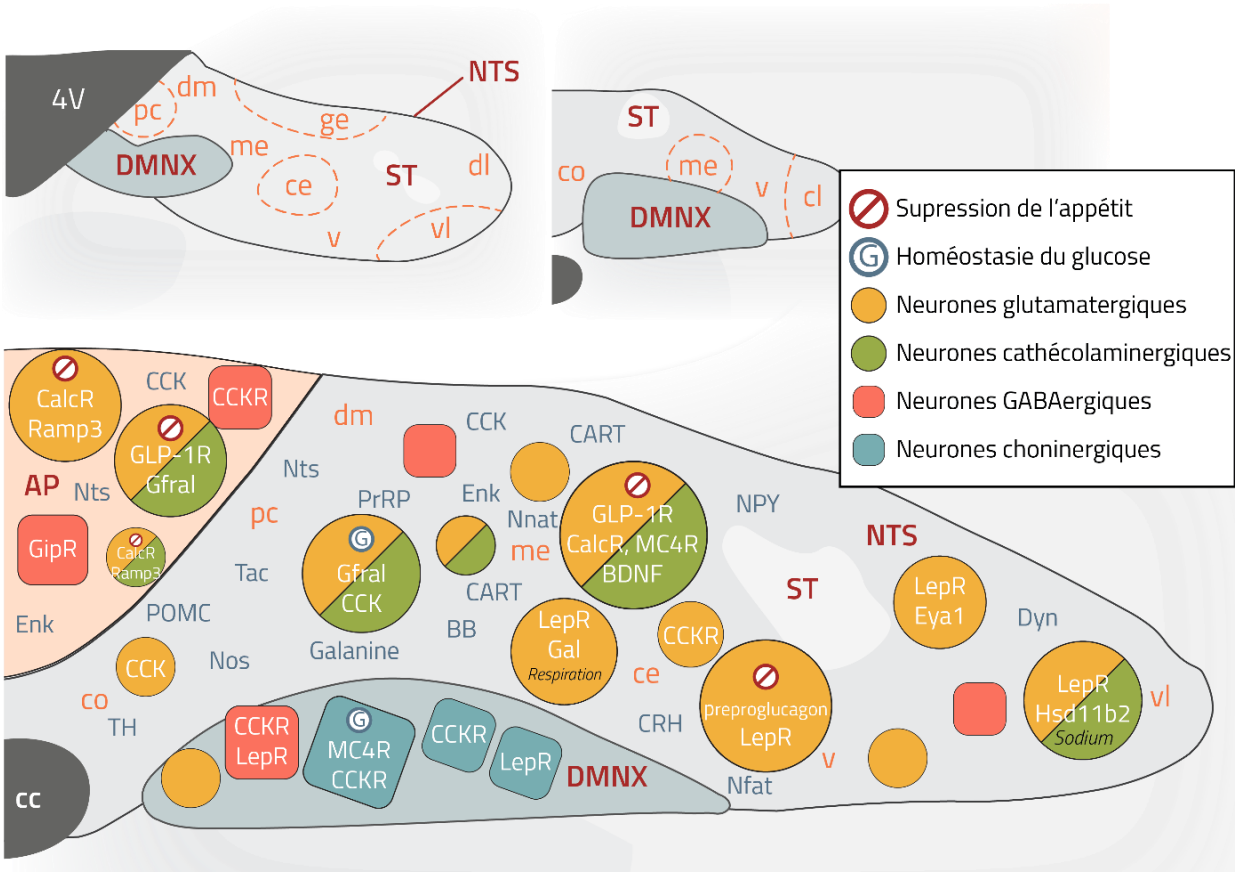


FIGURE 16 : POPULATIONS NEURONALES DU CVD

Figure basée sur Holt (2022); Ludwig, Cheng, et al (2021).

Les différents sous-noyaux du noyau du tractus solitaire (NTS) sont indiqués en orange, nommés selon leur densité neuronale et leur localisation par rapport au tractus solitaire (TS) dans le CVD rostral (panel en haut à gauche), le CVD caudal (panel en haut à droite) et le CVD postrémal (panel en bas). Dans le panel du bas, les formes géométriques colorées représentent les populations neuronales identifiées par Ludwig et ses collaborateurs. Les neurones sont classés en fonction des principaux neurotransmetteurs qu'ils expriment : le glutamate (rond jaune), les catécholamines (rond vert), le GABA (rectangle rose) et l'acétylcholine (rectangle bleu). Les principaux récepteurs des signaux métaboliques qu'ils expriment et les marqueurs de ces populations sont indiqués en blanc. La position des formes géométrique ne reflète pas la position des populations neuronales qui sont des populations chevauchantes réparties de manière moins organisée au sein des différents sous-noyaux. Les populations neuronales connues pour leur implication dans le contrôle du comportement alimentaire sont marquées par des symboles à l'intérieur des formes géométriques. Les neurotransmetteurs supplémentaires, non identifiés dans l'étude de Ludwig comme faisant partie d'une population neuronale spécifique, sont indiqués en bleu, basés sur la revue de Holt.

Abréviations : **4V** : quatrième ventricule ; **AP** : *area postrema* ; **BB** : peptides bombesin-like; **BDNF** : brain derived neurotrophic factor ; **CalcR** : récepteurs à la calcitonine ; **CART** : cocaine- and amphetamine-regulated transcript ; **cc** : canal central ; **CCK** : cholécystokinine-8 ; **CCKR** : récepteurs à la cholécystokinine ; **Ce** : noyau central du NTS ; **cl** : noyau caudolatéral du NTS ; **co** : noyau commissural du NTS ; **CRH** : Corticotropin-releasing hormone ; **dl** : noyau dorsolatéral du NTS ; **dm** : noyau dorsomédian du NTS ; **DMNX** : noyau moteur du nerf X ; **dyn** : dynorphine ; **Enk** : enképhaline ; **Eya1** : Eyes Absent Homolog 1 (un coactivateur de transcription qui possède une activité phosphatase); **gal** : galanine ; **ge** : noyau gélatineux du NTS ; **Gfral** : récepteurs au GDF15 ; **GipR** : récepteurs au GIP (gastric inhibitory polypeptide/peptide insulinotrope dépendant du glucose) ; **GLP-1R** : récepteurs au Glucagon-like peptide-1; **Hsd11b2** : Hydroxysteroid 11-Beta Dehydrogenase 2 (enzyme qui joue un rôle crucial dans le métabolisme des corticostéroïdes, rôle dans la régulation de la pression artérielle) ;

I.2.1.2.3 - Noyau moteur dorsal du nerf vague (DMNX)

Le DMNX est une paire de noyaux située ventralement et médialement par rapport au NTS. Il occupe tout l'axe rostro-caudal du CVD. Dans la partie la plus caudale du CVD, les deux noyaux sont placés de chaque côté du canal central de la moelle épinière (Barraco et al., 1992). Le DMNX contient la majorité des neurones efférents du nerf vague. Les efférences issues du DMNX sont responsables des signaux parasympathiques acheminés jusqu'au cœur, aux poumons, ainsi qu'aux muscles lisses et aux glandes du système gastro-intestinal pour réguler notamment la motilité gastrique et intestinale, ainsi que la sécrétion d'enzymes indispensables à la digestion (Berthoud & Neuhuber, 2000).

I.2.1.3 - Diversité neuronale au sein du CVD

Les fonctions vitales du CVD reposent sur la coexistence d'une grande diversité cellulaire au sein de cette structure. Ramón y Cajal (1909) a mis en évidence cette diversité en décrivant un assemblage dense de cellules dans le NTS, contrastant avec une faible densité neurale dans l'AP, mais une abondance de capillaires sanguins. Parmi ces cellules, ce sont les neurones qui ont fait l'objet des études les plus approfondies.

I.2.1.3.1 - Neurones du NTS

Le NTS se distingue par des neurones généralement plus petits et plus densément emballés par rapport à ceux des régions adjacentes de la moelle allongée et du SNC (Ganchrow et al., 2013). Dans cette région, on trouve relativement peu d'axones myélinisés comparé aux autres zones bulbaires (Whitehead, 1988). Après une coloration de Nissl (visualisation des corps cellulaires) ou de Golgi (morphologie complète), des groupes de neurones montrent des variations distinctes dans trois principales caractéristiques : la taille des somas, leur forme, la densité de neurones et l'intensité de la coloration (Ganchrow et al., 2013). Ces différences permettent de parcelliser le NTS en sous-noyaux distincts, comme l'a démontré la cartographie cytoarchitecturale du NTS chez la souris réalisée par Ganchrow et ses collaborateurs (2013). Ces sous-noyaux, définis par leur position relative au tractus solitaire qui traverse le NTS (**Figure 16**), ne sont pas des entités cloisonnées. En effet, les neurones du NTS ont une arborisation dendritique étendue et complexe et peuvent s'étendre pour entrer en contact avec des neurones non adjacents, localisés dans des sous-noyaux distincts (Barraco et al., 1992; Jean, 1991).

Les neurones du NTS présentent une hétérogénéité remarquable et expriment une multitude de neuropeptides, de neurotransmetteurs et une variété de récepteurs, distribués dans des populations distinctes ou chevauchantes. En utilisant le séquençage des acides ribonucléiques de noyaux isolés (snRNA seq) et en reclassant les clusters de neurones selon leurs similarités, Ludwig et al. (2021) ont identifié 15 populations de neurones distinctes au sein du NTS. Ces neurones utilisent principalement l'acide Gamma-Aminobutyrique (GABA) ou le glutamate comme neurotransmetteurs, certains neurones glutamatergiques exprimant également des catécholamines : la noradrénaline, l'adrénaline ou la dopamine. Ces neurones se distinguent en partie par les récepteurs qu'ils expriment, leur permettant de détecter de nombreux signaux, dont des signaux métaboliques. Par exemple, les neurones exprimant des récepteurs à la leptine (LepR) sont considérés comme distincts de ceux exprimant le récepteur à la calcitonine (CalcR). Cette hétérogénéité a été récemment décrite dans la revue récente de Holt (2022) et est illustrée à la **Figure 16**.

FIGURE 16 SUITE.

LepR : récepteurs à la leptine ; **MC4R** : récepteurs 4 aux mélanocortines ; **me** : noyau médian du NTS ; **Nfat** : Nesfatin-1; **Nos** : monoxyde d'azote synthase; **Nnat** : Neuronatin; **NPY** : neuropeptide Y ; **Nst** : neurotensine ; **NTS** : noyau du tractus solitaire ; **pc** : noyau parvocellulaire du NTS; **POMC** : proopiomélanocortine ; **PrRP** : Prolactin-releasing peptide; **TS**: tractus solitaire ; **Ramp3** : Receptor Activity-Modifying Protein 3 (impliquée dans la modulation de l'activité des récepteurs couplés aux protéines G dont le CalcR avec une contribution dans la vasodilatation); **Tac** : Tachykinin/substance P ; **TH** : tyrosine hydroxylase (neurones catécholaminergiques) ; **v** : noyau ventral du NTS ; **vl** : noyau ventrolatéral du NTS.

I.2.1.3.2 - Neurones de l'AP

Contrairement au NTS, l'AP contient une moindre diversité de neurones. Ces neurones sont principalement localisés dans la partie centrale de l'AP, ainsi que dans la partie dorsale appelée le manteau de l'AP (McKinley et al., 2003). Les régions ventrales et latérales de l'AP, au contraire, contiennent quasi exclusivement des cellules gliales (voir **section I.3.1.3**, p 109). Les neurones de l'AP semblent recevoir peu d'entrées synaptiques et ont un arbre dendritique localisé à proximité des vaisseaux sanguins et des quelques afférences vagales acheminées vers l'AP (Morita & Finger, 1987). Les études utilisant le snRNA seq disponibles récemment ont identifié 5 (Ludwig, Cheng et al., 2021) ou 7 (Zhang et al., 2021) populations neuronales distinctes dans l'AP. La majorité de ces neurones sont excitateurs, utilisant le glutamate comme principal neurotransmetteur. Parmi ces neurones, une ou deux de ces populations expriment la noradrénaline. Comme pour le NTS, ces populations neuronales expriment de nombreux récepteurs membranaires (**Figure 16**).

I.2.1.3.3 - Neurones du DMNX

Dans le DMNX, les populations neuronales sont en grande majorité cholinergiques (Armstrong et al., 1990). Il s'agit de neurones parasympathiques préganglionnaires, constituant les principales efférences du nerf vague (voir **section I.2.2.1**, p 68). Ils ont la particularité de générer des potentiels d'action à basse fréquence de manière régulière et autonome, sans nécessiter de stimulation externe, parfois qualifiée d'activité de type pacemaker (Travagli et al., 1991). En tant que composante du système nerveux autonome, ces neurones émergent du SNC pour se connecter aux neurones post-ganglionnaires du système nerveux entérique (Sanders et al., 2012). Ces populations sont particulièrement denses dans les parties intermédiaires et rostrales du DMNX. D'autres neurotransmetteurs, tels que les catécholamines (Guo et al., 2001; Kalia et al., 1984) et le monoxyde d'azote (NO ; Krowicki et al., 1997; Zheng et al., 1999), ont également été identifiés au sein des neurones préganglionnaires vagaux du DMNX et ils semblent moduler la transmission vagale cholinergique (Browning & Travagli, 2014). Le DMNX contient également des neurones non préganglionnaires associés aux réseaux du SNC. Ils sont glutamatergiques, GABAergiques et catécholaminergiques (probablement dopaminergiques ; Ludwig, Cheng, et al. 2021).

I.2.2 - Le CVD, un hub reliant les organes périphériques au SNC

Le CVD intègre un large éventail d'afférences provenant des systèmes gastro-intestinal, cardiothoracique et respiratoire, et possède la capacité de coordonner des réponses efférentes adaptées (Jean, 1991). La majorité des informations sensorielles traitées par le CVD transitent via le nerf vague et sont principalement dirigées vers le NTS. Le CVD intervient aussi dans la surveillance de nombreux paramètres humoraux à travers l'AP, qui constitue un point d'entrée privilégié pour les molécules véhiculées par le sang. En parallèle, le CVD, en particulier le NTS, établit de riches connexions avec d'autres régions du SNC, telles que la moelle épinière, le noyau parabrachial, l'HYP et l'Aire tegmentale ventrale. Cette connectivité bidirectionnelle signifie que les réponses du CVD sont non seulement influencées par ces zones cérébrales, mais qu'il agit également en tant que relais pour transmettre des informations vers d'autres régions du cerveau.

I.2.2.1 - Relation étroite avec le nerf vague

Le CVD porte ce nom du fait de son lien étroit avec le nerf vague. Le nerf vague, ou nerf crânien X, est l'un des nerfs les plus longs et les plus complexes du système nerveux autonome. C'est un nerf mixte qui contient à la fois des fibres sensorielles afférentes (70-80 %) et des fibres motrices efférentes (Undem & Weinreich, 2013). Cette mixité permet une communication bidirectionnelle entre le cerveau et les organes périphériques, facilitant un lien entre les informations sensorielles recueillies et les réponses compensatoires engagées par le CVD.

I.2.2.1.1 - Efférences (moelle allongée - nerf vague > organes périphériques)

Le nerf vague naît dans la moelle allongée, principalement dans le DMNX, à partir de la réunion d'axones efférents qui forment de petites branches, appelées radicelles. Les radicelles sortent du SNC pour se rejoindre et former le nerf X. Ces fibres, appelées fibres préganglionnaires font synapse dans les ganglions du nerf vague, localisés en dessous de la base du crâne. Au sein de ces ganglions, plus précisément des ganglions nodaux, elles se connectent à des neurones de second ordre, appelés post-ganglionnaires. Le nerf vague contenant les axones des neurones de second ordre se divise ensuite en plusieurs branches :

1) des branches crâniennes et cervicales qui innervent en partie le pharynx et le larynx, influençant la parole et la déglutition,

2) des branches abdominales qui participent à la régulation de diverses fonctions digestives : la sécrétion d'acides gastriques, l'absorption de nutriments ou encore la motilité gastro-intestinale. Pour plus de détails sur l'anatomie du nerf vague, voir Berthoud & Neuhuber (2000).

I.2.2.1.2 - Afférences (organes périphériques - nerf vague > moelle allongée)

Les fibres afférentes du nerf vague réceptionnent des informations sensorielles issues des différents organes innervés par le nerf vague. Ces informations sont de différentes natures selon l'éventail de récepteurs exprimés par ces neurones sensoriels. Elles peuvent être mécaniques, nociceptives, relatives à la présence de nutriments, au pH, à la pression osmotique, à des substances chimiques spécifiques ou à la pression artérielle des organes périphériques. Les corps cellulaires des afférences primaires sont localisés dans les ganglions vagaux, d'où partent les fibres qui cheminent ensuite vers la moelle allongée. Elles fusionnent avec des fibres afférentes du nerf trijumeau (Ve paire de nerf crâniens), facial (VIIe) et glossopharyngien (IXe) pour former le TS autour duquel s'organisent les noyaux du NTS (Contreras, Beckstead et al., 1982).

Les fibres sensorielles (afférentes) et motrices (efférentes) sont mélangées dans le nerf vague, mais leurs corps cellulaires résident dans des emplacements différents : les neurones sensoriels dans les ganglions nodaux et jugulaires et les neurones moteurs dans le DMNX (ainsi que dans le noyau ambigu). Ainsi, le CVD agit comme un hub, envoyant une partie des commandes motrices depuis le DMNX par le nerf vague vers les organes périphériques et intégrant une multitude d'informations sensorielles par le biais du nerf vague au sein du NTS. Ce circuit est le siège des réflexes vago-vagaux qui impliquent 1) des neurones sensoriels vagaux en lien étroit avec le système nerveux entérique et la paroi intestinale ; 2) des neurones intégrateurs (principalement dans le NTS, et dans une plus faible mesure, l'AP) ; et 3) des neurones efférents (principalement dans le DMNX lesquels contrôlent le système nerveux parasympathique) (**Figure 17**).

Les afférences du nerf vague ne sont pas les seules afférences nerveuses permettant une communication des organes viscéraux vers le SNC. Des informations sensorielles provenant de la corne dorsale de la moelle épinière sont également acheminées jusqu'au NTS par les nerfs spinaux (Menétrey & Basbaum, 1987). Les neurones sensoriels spinaux, dont les corps cellulaires sont localisés dans les ganglions des racines dorsales (DRG) de la moelle épinière, transmettent des signaux de douleur viscérale, de température, et d'autres stimuli sensoriels. Ces informations contribuent à la régulation des réflexes viscéraux et à la modulation des réponses autonomes par le NTS. Ils jouent un rôle complémentaire à celui des nerfs vagues en relayant des informations similaires, mais par une voie différente (Münzberg et al., 2023).

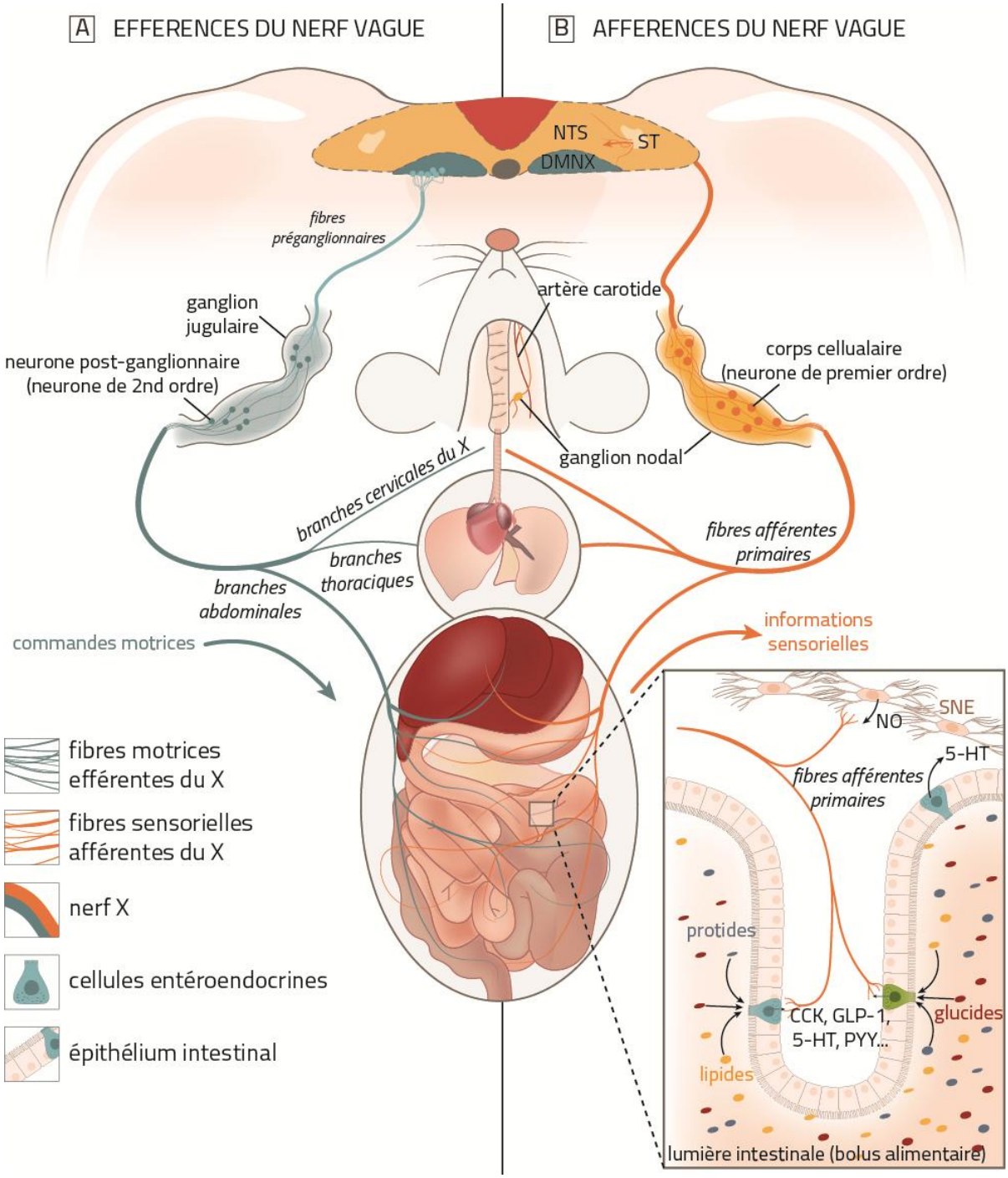


FIGURE 17 : SCHÉMA SIMPLIFIÉ DES RELATIONS ENTRE LE NERF VAGUE ET LE CVD

Adapté de Neuhuber & Berthoud (2021).

Le nerf vague est un nerf mixte divisé en branches crâniennes, cervicales, thoraciques et abdominales. À gauche de l'illustration sont représentées les efférences motrices du nerf vague, principalement issues du noyau moteur dorsal du nerf vague (DMNX). Ces efférences font synapse dans les ganglions jugulaires et nodaux avec des neurones moteurs de second ordre, qui empruntent ensuite les différentes branches du nerf vague. À droite, les informations sensorielles qui cheminent jusqu'au tractus solitaire (TS) sont schématisées. Les neurones sensoriels afférents de premier ordre ont leurs corps cellulaires localisés dans les ganglions jugulaires et nodaux, et contactent des neurones de second ordre localisés dans le noyau du tractus solitaire (NTS). L'encadré à droite représente l'interface entre les afférences vagales et la

FIGURE 17 SUITE.

paroi intestinale. Dans l'épithélium intestinal, on trouve des cellules entéroendocrines spécialisées, colorées en bleu ou vert. Ces cellules surveillent le contenu alimentaire et peuvent sécréter de nombreuses molécules en réponse à la présence de nutriments dans le tractus digestif. Ces molécules comprennent la cholécystokinine (CCK), le glucagon-like peptide-1 (GLP-1), la sérotonine et le peptide YY (PYY). Ces peptides stimulent les afférences vagales ou les cellules du système nerveux entérique (SNE), qui à leur tour peuvent stimuler le nerf vague par la libération de monoxyde d'azote (NO).
Abréviations : **5-**HT : sérotonine ; **CCK** : cholécystokinine-8 ; **DMNX** : noyau moteur du nerf vague ; **GLP-**1 : glucagon-like-peptide 1 ; **NO** : monoxyde d'azote ; **NTS**: noyau du tractus solitaire ; **PYY** : peptide YY ; **SNE** : Système Nerveux Entérique ; **ST**: tractus solitaire ; **X** : nerf vague (dixième paire de nerfs crâniens).

I.2.2.2 - Accès privilégié aux molécules issues du sang

Les échanges entre le tissu nerveux et les tissus avoisinants sont rigoureusement contrôlés par des barrières cellulaires. Elles protègent le SNC des pathogènes, des toxines et des fluctuations chimiques susceptibles de perturber les fonctions cérébrales, tout en garantissant l'approvisionnement des cellules neurales en nutriments essentiels. Ces barrières sont positionnées à des interfaces clés : entre les vaisseaux sanguins et le parenchyme cérébral, formant la barrière hémato-encéphalique (BHE, **Figure 18**, **C**), et entre le liquide cérébrospinal (LCS) et le parenchyme cérébral constituant la barrière sang-LCS-parenchyme. Elles sont le résultat de jonctions serrées qui restreignent le passage de molécules entre cellules avoisinantes, de systèmes de transport qui sélectionnent certaines molécules pour le transit (transports membranaires, transcytose *via* un système vésiculaire) et de barrières enzymatiques capables de transformer les molécules à ces interfaces. Pour plus d'informations sur ces barrières cérébrales, se référer aux revues d'Abbott et al. (2010) ; Bell & O'Shaughnessy (2022) ; Neuwelt et al. (2008) ; Sarikcioglu (2017) ; Segarra et al. (2021).

Des régions privilégiées du SNC, situées à proximité des ventricules cérébraux, permettent cependant des échanges moins restrictifs avec le compartiment sanguin et le LCS pour la surveillance et la régulation des équilibres homéostatiques de l'organisme. Ce sont les organes circumventriculaires (OCV, **Figure 18**, **B**) ou organes neurohémaux dont fait partie l'AP. Les OCV sont présents chez tous les vertébrés et facilitent le transfert direct de certaines substances entre le sang et le cerveau qui, en temps normal, ne peuvent pas traverser la BHE. Cette particularité a été mise en évidence dès le début du XXe siècle par des injections systémiques de colorants. Par exemple, les injections intraveineuses de bleu de trypan (Wislocki & Putnam 1924), coloraient l'AP et d'autres OCV, mais pas les zones avoisinantes telles que le NTS, indiquant que ces régions spécifiques, contrairement au reste du SNC, sont perméables aux molécules circulantes. Le bleu de trypan, d'un poids moléculaire de 873 g/mol, a par la suite été décrit comme une molécule imperméable à la BHE après sa liaison à l'albumine, une protéine abondante dans le sang (Clasen et al., 1970).

L'AP a été décrite comme un OCV sensoriel (Sisó et al., 2010). Sa riche vascularisation a été abondamment documentée (Duvernoy & Risold, 2007) ainsi que sa composition cellulaire, discutée dans les **sections I.2.1.3**, p 66 et **section I.3.1.3**, p 109. Comme les autres OCV sensoriels, l'AP contient des cellules neurales capables de transmettre les signaux issus du sang vers le parenchyme cérébral (Johnson & Gross, 1993). Ces cellules détectent un large éventail de molécules circulantes, incluant des molécules relatives à l'activité sympathique et au système cardiovasculaire, comme la vasopressine ou l'angiotensine II, ainsi que des signaux métaboliques comme le glucose, la ghréline, la leptine et l'amyline. De plus, l'AP peut détecter des neurotransmetteurs, des cytokines, des toxines et des facteurs inflammatoires (voir McKinley et al. (2003) et **Tableau 3**).

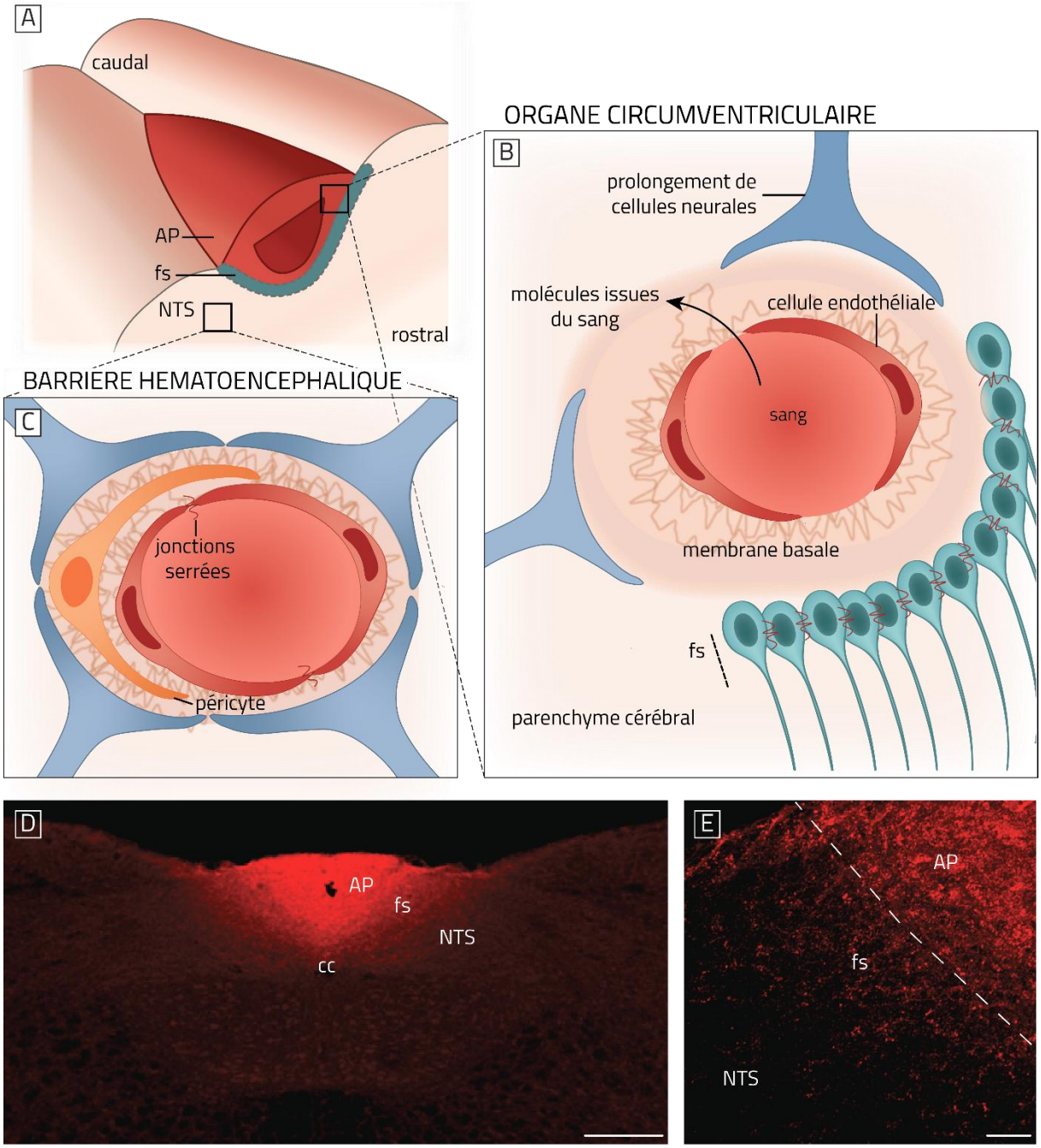


FIGURE 18 : BARRIÈRES SANG-PARENCHYME AU SEIN DU CVD

Schéma inspiré de Sisó et al. (2010); Verheggen et al. (2020).

A. Représentation schématique en trois dimensions de l'AP, du fs et du NTS.
B. Coupe transversale d'un vaisseau sanguin présent dans le NTS avec une barrière hémato-encéphalique. Les cellules endothéliales qui tapissent les vaisseaux sanguins sont reliées par des jonctions serrées qui empêchent le passage de la plupart des substances du sang vers le parenchyme cérébral. La perméabilité de la barrière hémato-encéphalique est maintenue par la présence de péricytes, de pieds astrocytaires et de membranes basales spécialisées.
C. Coupe transversale d'un vaisseau sanguin présent dans l'AP. Dans les OCV, des vaisseaux sanguins sont dépourvus de barrière hémato-encéphalique, permettant aux molécules un accès facilité au parenchyme cérébral. A l'interface entre l'AP et le NTS, le fs contient des cellules reliées par des jonctions serrées pour sélectionner les molécules transitant vers le NTS.

FIGURE 18 SUITE.

D. Photomicrographie à faible grossissement de la fluorescence FG observée sur des coupes coronales de tronc cérébral. Les animaux ont été euthanasiés 3 heures après l'injection i.p. de FG. Notez l'intense signal FG au sein de l'AP illustrant sa diffusion à partir des capillaires fenestrés. *Échelle* : 500 µm (micromètre).
E. Photomicrographie illustrant la diffusion du FG à partir des structures environnantes de l'AP. *Échelle* : 50 µm.
Abréviations : **AP** : *area postrema* ; **cc :** canal central de la moelle épinière ; **fs** : *funiculus separens* ; NTS : noyau du tractus solitaire.

L'interface privilégiée entre l'AP et le NTS est dynamique et capable de répondre aux changements périphériques et locaux. Cette dynamique se manifeste aussi bien dans des conditions physiologiques que pathologiques. Par exemple, Chrobok et ses collaborateurs ont observé une variation circadienne de la perméabilité du colorant bleu d'Evans injecté systémiquement (Chrobok et al., 2020). L'augmentation de la pénétration de ce colorant à l'interface AP/NTS et dans le NTS, en début de nuit, pourrait faciliter le transfert de molécules véhiculées par le sang à certains moments de la journée. De plus, ils ont noté que les réponses à des facteurs anorexigènes (la CCK) et orexigènes (la ghréline) étaient plus prononcées durant la nuit, période durant laquelle les rongeurs sont les plus actifs et consomment la majorité de leur nourriture. Dans un contexte pathologique, notre équipe s'est penchée sur les effets du déoxynivalénol (DON), une mycotoxine présente dans les céréales, représentant une préoccupation majeure pour l'industrie agroalimentaire en raison de ses effets potentiels sur la santé publique. Dans un article récent (Gaige et al., 2022), nous présentons des résultats qui suggèrent que le DON induit une perméabilité accrue à la frontière AP/NTS, en agissant sur les cellules microgliales qui semblent jouer un rôle crucial dans la limitation de la diffusion de molécules neurotoxiques du sang vers le parenchyme cérébral. Cette population cellulaire est abordée plus en détail dans la **section I.3.1.3**, p 109.

TABLEAU 3 : QUELQUES MOLECULES CIRCULANTES DETECTEES PAR L'AREA POSTREMA

Abréviations : **AP** : Area Postrema ; **AT1A** : Récepteur de l'angiotensine II type 1A ; **CCKA** : Récepteur A de la cholécystokinine ; **CT_ARAMP3** : Récepteur de l'amyline associé à la protéine modifiant l'activité du récepteur 3 ; **ETA** : Récepteur de l'endothéline de type A ; **Gfral** : Récepteur du GDF15 (Growth differentiation factor 15) ; **GHSR** : Récepteur de la ghréline (Growth Hormone Secretagogue Receptor) ; **GLP-1R** : Récepteur du Glucagon-Like Peptide 1 ; **GLUT1** : Transporteur de glucose de type 1 ; **GLUT2** : Transporteur de glucose de type 2 ; **IL-1R1** : Récepteur de l'interleukine-1β de type 1 ; **LepR** : Récepteur de la leptine ; **NTS** : Noyau du tractus solitaire ; **V1** : Récepteur V1 de la vasopressine ; **Y1** : Récepteur Y1 du neuropeptide Y et du peptide YY ; **Y2** : Récepteur Y2 du neuropeptide Y et du peptide YY ; **Y4** : Récepteur Y4 du neuropeptide Y et du peptide YY.

CATEGORIE	MOLECULE, RECEPTEUR	RECEPTEUR, TRANSPORTEUR	NOTES ET REFERENCES
Signaux métaboliques de la phase pré-ingestive issus du tractus gastro-intestinal	Ghréline	GHSR (Zigman et al., 2006)	La ghréline module l'activité électrophysiologique des neurones de l'AP (Fry & Ferguson, 2009) et semble affecter particulièrement les neurones inhibiteurs de l'AP (Cabral et al., 2017; Zhang et al., 2021). Une ablation de l'AP supprime l'expression de c-Fos (proto-oncogène dont l'expression est utilisée comme marqueur précoce de l'activité neuronale) (dans le DMNX et le NTS en réponse à la ghréline (Li et al., 2006). Elle semble participer au contrôle des sécrétions pancréatiques (Li et al., 2006) et à la vidange gastrique (Cabral et al., 2017). L'AP médie en grande partie les effets orexigènes de la ghréline (Gilg & Lutz, 2006).
Signaux métaboliques de la phase ingestive et post-ingestive	Cholécystokinine	CCKA (Hill et al., 1987; Mercer & Beart, 2004)	La CCK a principalement des actions excitatrices sur les neurones de l'AP (Funahashi & Adachi, 1993; Sugeta et al., 2015; Sun & Ferguson, 1997) et une administration systémique entraîne l'expression de c-Fos dans l'AP (Gulley et al., 2005). L'effet anorexigène de la CCK est réduit par une lésion de l'AP (van der Kooy et al., 1984).
	Leptine	LepR (Dallaporta et al., 2009; P. M. Smith et al., 2016)	La leptine influence l'excitabilité des neurones de l'AP (P. M. Smith et al., 2016). L'AP participe aux effets de la leptine sur la régulation de la balance énergétique (Hayes, Skibicka, et al., 2010).
	PYY	Y1 ; Y2 ; Y4 (Parker & Herzog, 1999)	Une administration systémique de PYY induit une immunoréactivité c-Fos dans l'AP(Bonaz et al., 1993). Il semble y avoir des effets différenciés entre le PYY_{1-36} (dépolarisant et excitateur) et le PYY_{3-36} (hyperpolarisant et inhibiteur) (Price et al., 2008). Une lésion de l'AP diminue les actions anorexigènes du PYY_{3-36} (Cox & Randich, 2004). L'action de PYY sur l'AP semble participer à la régulation de la sécrétion pancréatique (Deng et al., 2001) et à la nausée (Samms et al., 2022).
	GLP-1	GLP-1R (Cork et al., 2015)	Les récepteurs du GLP-1 semblent être exprimés exclusivement dans des neurones catécholaminergiques de l'AP (H. Yamamoto et al., 2003). Le GLP-1 a un effet excitateur sur ces neurones (Kawatani et al., 2018). La détection du GLP-1 dans l'AP participe à induire une anorexie et la nausée (Kawatani et al., 2018; C. Zhang et al., 2021)

CATEGORIE	MOLECULE, RECEPTEUR	RECEPTEUR, TRANSPORTEUR	NOTES ET REFERENCES
Signaux associés à l'homéostasie du glucose	Glucose	GLUT1, GLUT2	Des neurones glucodétecteurs ont été identifiés dans l'AP (Adachi et al., 1995) et participent au contrôle de l'homéostasie du glucose. La contribution de l'AP passe en partie par la régulation de la production de glucose hépatique (Li et al., 2023)
	Amyline	CT_ARAMP3	La détection de l'amyline dans l'AP implique l'excitation de neurones noradrénergiques et glutamatergiques. Cette détection participe à l'effet anorexigène de l'amyline (Lutz et al., 2001; Potes et al., 2010).
Facteurs inflammatoires	Cytokines proinflammatoires. Interleukine-1β (IL-1β) Interleukine-6 (IL-6)	IL-1R1 (Ericsson et al., 1995)	Les cytokines pro-inflammatoires jouent un rôle crucial dans la réponse immunitaire, notamment lors d'infections et de maladies inflammatoires. L'activation de l'AP par ces cytokines peut induire une réponse inflammatoire locale, entraînant la production de médiateurs inflammatoires supplémentaires, tels que d'autres cytokines et chimiokines (Goehler et al., 2006; Vargas-Caraveo et al., 2015). La détection ou la production de cytokines dans l'AP est associée à l'induction de la nausée et des vomissements (Miller & Leslie, 1994; Q. Sun et al., 2024). L'AP semble nécessaire pour induire une réponse médiée par IL-1β sur l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (H. Y. Lee et al., 1998).
	GDF15 (neurones excités par le glucose)	Gfral (Emmerson et al., 2017)	Les niveaux de GDF15 sont connus pour augmenter dans de nombreuses conditions pathologiques, dont le cancer, l'insuffisance rénale et cardiaque, et l'athérosclérose (Adela & Banerjee, 2015). Les cellules de l'AP exprimant Gfral ont été impliquées dans l'anorexie aversive et les comportements émétiques (Borner et al., 2020; C. Zhang et al., 2021)
Molécules associées au système cardiovasculaire (Hasser et al., 2000)	Vasopressine	V1 (Gerstberger & Fahrenholz, 1989)	La vasopressine détectée par l'AP joue un rôle dans la modulation du baroréflexe, un mécanisme clé de la régulation de la pression artérielle, ainsi que dans la régulation des réponses au stress et à l'exercice (Hasser et al., 2000; Lowes et al., 1995; X. Zhang et al., 1992).
	Angiotensine II	AT1A (J. Huang et al., 2003)	Près de la moitié des neurones de l'AP sont stimulés par l'angiotensine II (Ferguson & Bains, 1997). La détection de l'angiotensine II par l'AP est impliquée dans la régulation de la pression artérielle (Hasser et al., 2000), la modulation du baroréflexe (Bishop & Sanderford, 2000) et la régulation de la soif et de l'ingestion de sodium (Edwards & Ritter, 1982; Todini & Fantuz, 2023).
	Endothéline	ETA	L'endothéline est un puissant peptide vasoconstricteur produit principalement par les cellules endothéliales. L'ET-1, *via* ses récepteurs ETA exprimés par l'AP induit une vasoconstriction puissante qui peut contribuer à une augmentation de la pression artérielle (Abukar et al., 2016; Mosqueda-Garcia et al., 1993).

I.2.2.3 - Le CVD connecté aux autres régions du SNC

Le CVD ne se limite pas à agir comme un centre intégrateur des informations provenant des organes périphériques, véhiculées par le sang ou transmises par les afférences vagales. Il établit également de riches connexions internes entre ses trois structures constitutives et avec d'autres régions du SNC. La connectivité bidirectionnelle entre les réseaux locaux du CVD et des régions telles que la moelle épinière, le noyau parabrachial, l'HYP et l'aire tegmentale ventrale permet au CVD d'être influencé par ces régions cérébrales tout en servant de relais pour transmettre des informations vers d'autres parties du cerveau.

I.2.2.3.1 - Relations au sein du CVD – Micro-circuiterie

Les projections au sein du CVD sont nombreuses, formant à la fois des circuits locaux au sein des différentes structures du CVD et des connexions bidirectionnelles entre le NTS, le DMNX et l'AP. Les circuits neuraux locaux influencent les entrées et les sorties du CVD, faisant de ce dernier non seulement un relais pour la distribution des informations sensorielles, mais aussi un centre intégrateur complexe.

❒ **Réseaux locaux**

Dans le NTS, les réseaux locaux peuvent former des boucles excitatrices ou inhibitrices qui maintiennent et/ou modulent l'excitabilité neuronale (Champagnat et al., 1986; Kawai & Senba, 1996). Ils conditionnent la puissance d'entrée et de sortie du CVD. Les afférences primaires du nerf X influencent fortement ces réseaux locaux. En effet, environ 75 % des neurones du NTS postrémal sont des neurones de second ordre dont l'activité est largement influencée par les afférences vagales (Andresen & Paton, 2011; McDougall et al., 2009). Les afférences vagales stimulent les neurones du NTS *via* une transmission principalement glutamatergique impliquant des récepteurs ionotropiques et métabotropiques du glutamate. L'activité des récepteurs métabotropiques du glutamate modifie durablement la transmission synaptique des neurones de second ordre du NTS (Ady et al., 2014; Jin et al., 2004; Page et al., 2005). Par ailleurs, l'excitabilité de ces neurones est également influencée par les nombreux interneurones GABAergiques présents dans le NTS (Bailey et al., 2008). Ces interneurones établissent des synapses réciproques entre les sous-noyaux du NTS, permettant une intégration et une coordination efficaces des signaux sensoriels et viscéraux (Bailey et al., 2008). Les cellules gliales influencent également les réseaux locaux du NTS en modulant les terminaisons afférentes vagales présynaptiques et les neurones de second ordre du NTS (MacDonald et al., 2019; Troadec et al., 2022). La contribution des cellules gliales dans cette modulation de l'excitabilité du CVD est discutée au Chapitre 1.3. Ainsi, l'intégration et les réponses du NTS dépendent largement des réseaux neuraux locaux impliquant les afférences primaires, les neurones de second ordre, les interneurones et la glie (pour plus de détails voir Clyburn & Browning, 2021).

Des réseaux locaux impliquant des interneurones GABAergiques ont également été décrits dans le DMNX (Gao et al., 2009) et dans l'AP (Zhang et al., 2021) et ces derniers semblent principalement avoir pour fonction de moduler les connexions entre les différentes régions du CVD. Par exemple, les neurones GABAergiques du DMNX pourraient générer une rétroaction négative des entrées issues du NTS (Gao et al., 2009).

❒ **Réseaux du CVD**

En plus des réseaux locaux, les différentes structures du CVD sont fortement interconnectées, reflétant des relations fonctionnelles étroites entre elles. Parmi ces connexions, les projections du NTS vers les neurones préganglionnaires du DMNX ont déjà été évoquées pour jouer un rôle clé dans les réflexes vago-vagaux initiés par les afférences vagales acheminées via le tractus solitaire. Les connexions GABAergiques du NTS vers le DMNX dominent la régulation des sorties efférentes vagales, fournissant un tonus inhibiteur aux neurones pacemaker du DMNX. La levée ou la modulation de ce tonus impacte le flux parasympathique (Babic et al., 2011; Travagli & Anselmi, 2016). Des connexions excitatrices glutamatergiques et catécholaminergiques du NTS contactent

également les neurones cholinergiques du DMNX mais ne semblent pas aussi cruciales pour réguler l'activité tonique des motoneurones efférents (Rogers et al., 2003).

Plus largement, les trois structures, NTS, AP et DMNX sont toutes intimement liées par des projections réciproques. Par exemple, une grande partie des neurones excitateurs (glutamatergiques) de l'AP projettent dans le NTS, suggérant que l'AP peut moduler les informations sensorielles viscérales traitées dans le NTS (Cai et al., 1996). Parallèlement, les dendrites du NTS s'étendent dans l'AP, accédant ainsi à la BHE incomplète et à diverses hormones circulantes. Les neurones des parties caudales du NTS envoient également des projections vers l'AP (Shapiro & Miselis, 1985). La seule combinaison dans laquelle les projections ne sont pas réciproques concerne l'AP et le DMNX. Le DMNX reçoit peu de fibres de l'AP, et les projections du DMNX n'indiquent pas de connexion directe vers l'AP (Cunningham et al., 1994; Sisó et al., 2010). Néanmoins, les projections dendritiques des neurones du DMNX peuvent s'étendre dans l'AP et même pénétrer la couche épendymaire du 4V (Rinaman et al., 1989; Shapiro & Miselis, 1985).

I.2.2.3.2 - Relations au sein du SNC – Macroconnexions

Le CVD reçoit et envoie des projections à de multiples aires cérébrales. Ces connexions réciproques ont été cartographiées grâce à l'utilisation de traceurs synaptiques depuis les années 1970 (Lanciego & Wouterlood, 2020), bien qu'elles restent encore incomplètes (Holt, 2022). Les traceurs antérogrades injectés dans le CVD permettent de localiser les voies efférentes du CVD vers le SNC. Ces projections ascendantes relaient les signaux provenant du nerf vague et des capillaires fenestrés de l'AP, préalablement intégrés dans les circuits locaux, et modulent les réponses autonomes, les fonctions digestives, cardiaques, respiratoires et endocriniennes. Par opposition, les traceurs rétrogrades injectés dans le CVD ou les traceurs antérogrades injectés dans les régions source des afférences vers le CVD permettent de cartographier les connexions centrales qui projettent vers le CVD. Ces afférences correspondent à des fibres axonales exerçant un contrôle descendant sur le CVD. Elles représentent la diversité des stimuli modulant l'activité de cette région. Ce manuscrit ne détaillera que certaines projections pertinentes abordées dans les sections suivantes, impliquant les parties postrémale et caudale du CVD. Les projections afférentes et efférentes du CVD connues chez le rongeur ont été détaillées par plusieurs auteurs, dont Jean (1991), Ganchrow et al. (2013) et Barraco (1994), et plus récemment Gasparini et al. (2020), Holt (2022) et Holt, Pomeranz et al. (2019) qui ont détaillé les efférences et afférences impliquant le NTS, Roges et al. (1980), pour les projections afférentes vers le DMNX, et van der Kooy & Koda, (1983) ou Price et al., (2008) pour les projections de l'AP. Les projections majeures impliquant ces régions sont reprises en **Figure 19** et dans le **Tableau 4**.

Schématiquement, le NTS est la région du CVD la plus connectée au reste du SNC. Les informations intégrées par le NTS sont utilisées pour les contrôles moteurs et autonomes, impliquant le DMNX et d'autres réseaux du tronc cérébral (de la moelle allongée du pont et du mésencéphale). Elles sont également distribuées vers des centres supérieurs comme l'hypothalamus, le thalamus, les régions limbiques ou encore le cortex préfrontal. Les projections issues du CVD vers les régions rostrales du cerveau peuvent être directes ou polysynaptiques, en passant par un relais au niveau du PBN. Les mêmes régions cérébrales peuvent ainsi recevoir des informations par deux voies distinctes : une voie directe, transmettant des données spécifiques aux organes, et une voie indirecte, qui intègre des informations davantage traitées et modulées au niveau du PBN. Cette organisation en voies parallèles permet une intégration à la fois spécifique et globale des signaux sensoriels (Llewellyn-Smith et al., 2011). Le PBN est connu pour intégrer de multiples modalités fonctionnelles issue du tronc cérébral et en tant que composant de contrôle de la respiration, de la fonction cardiovasculaire, et de l'éveil (Benarroch, 2016; Davern, 2014; Palmiter, 2018; L. Sun et al., 2020). Réciproquement, le NTS reçoit des entrées des portions les plus rostrales du SNC, comme le cortex insulaire, des noyaux sous-corticaux comme l'amygdale étendue, du diencéphale incluant l'hypothalamus et le thalamus, de l'aire tegmentale ventrale (VTA), du pont et de la moelle épinière.

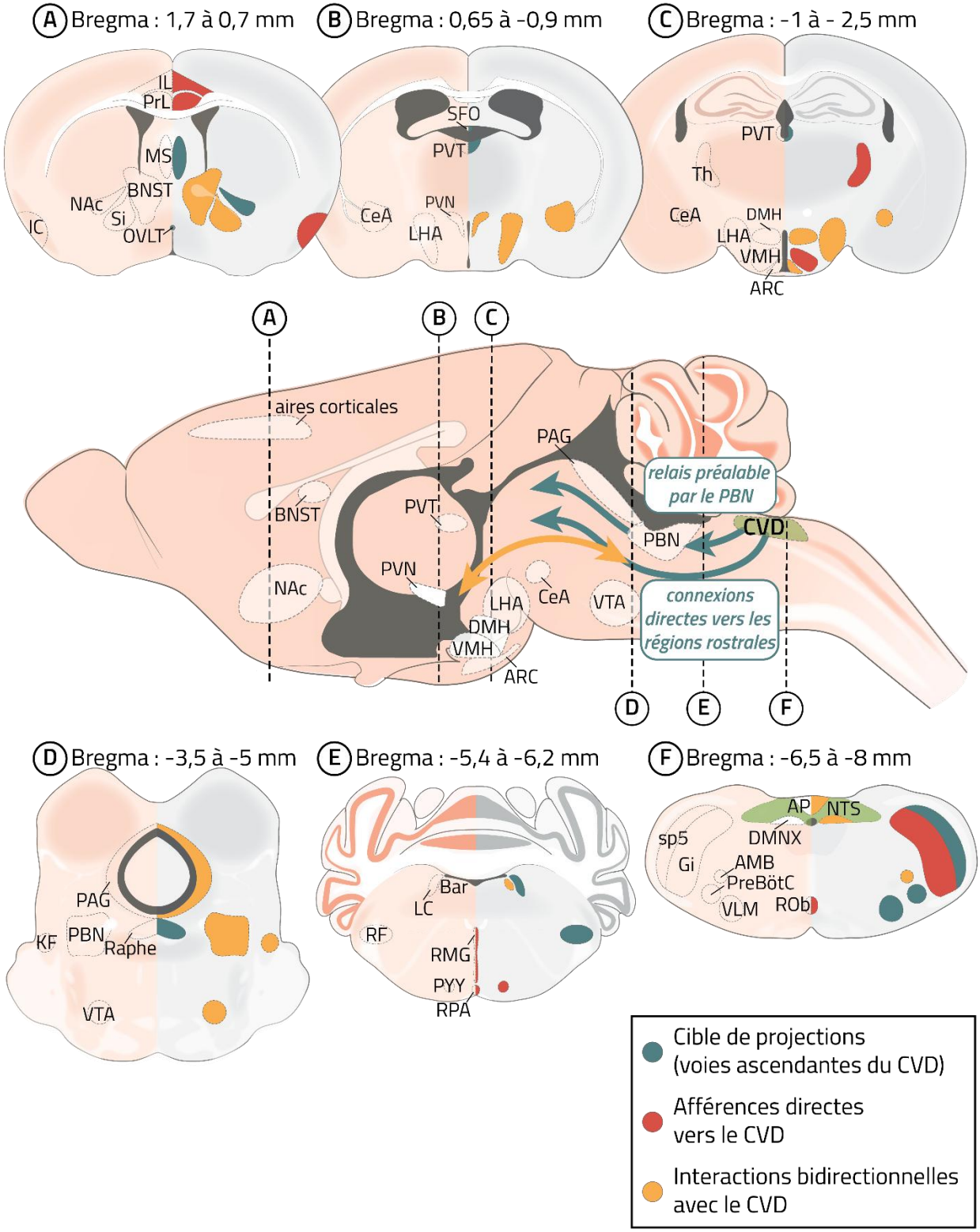


FIGURE 19 : VOIES ASCENDANTES ET DESCENDANTES DU NTS POSTRÉMAL ET CAUDAL

Schéma inspiré de Card & Sved, (2011) et Holt (2022).

Cette figure illustre les connexions entre le noyau du tractus solitaire (NTS) postrémal et caudal et diverses régions rostrales du système nerveux central (SNC). Les régions colorées en jaune, bleu, et rouge représentent les zones cérébrales recevant et/ou émettant des projections avec le NTS. Les régions en bleu et jaune sont reliées au NTS par des voies ascendantes, c'est-à-dire que ces régions reçoivent des informations du NTS. Les régions en rouge et jaune envoient des projections descendantes vers le NTS, influençant son activité.

FIGURE 19 SUITE.

Les régions en jaune entretiennent des connexions réciproques avec le NTS, recevant des projections de celui-ci et envoyant en retour des projections vers le NTS.
Au centre de l'illustration, une coupe sagittale médiane du cerveau de souris montre diverses structures connectées au SNC le long de l'axe rostro-caudal. La flèche jaune met en avant les connexions denses et réciproques entre l'hypothalamus et le CVD. Les flèches bleues indiquent les voies parallèles ascendantes du CVD vers le cerveau rostral, qui peuvent passer par un relais au niveau du noyau parabrachial (PBN) ou être des connexions directes du NTS. Les lignes verticales pointillées numérotées de **(A)** à **(E)**, correspondent à différents niveaux de coupes coronales illustrés dans le reste du schéma.
La ligne **(A)** représente le télencéphale, tandis que les lignes **(B)** et **(C)** illustrent des niveaux du diencéphale, comprenant les parties rostrales de l'hypothalamus **(B)** et l'hypothalamus médiobasal **(C)**. Le repère **(D)** représente le mésencéphale et les parties rostrales du pons. Le repère **(E)**, les parties rostrales de la moelle allongée, et le repère **(F)** indique la moelle allongée caudale. Les régions marquées sont approximatives. Les connexions du NTS avec les portions plus caudales du SNC ne sont pas représentées sur ce schéma.

Abréviations : **AMB** : noyau ambigu (fournit les fibres motrices pour les nerfs crâniens IX (glossopharyngien), X (vague) et XI (accessoire) qui innervent les muscles du pharynx et du larynx) ; **AP** : *area postrema* ; **ARC** : noyau arqué de l'hypothalamus ; **Bar** : noyau de Barrington (noyau pontique médial ; Régulation du cycle mictionnel) ; **BNST** : noyau du lit de la strie terminale (amygdale étendue - Bed Nucleus of the Stria Terminalis) ; **CeA** : noyau central de l'amygdale (amygdale étendue - Central Amygdala) ; **CVD** : CVD ; **DMH** : noyau dorsomédial de l'hypothalamus ; **DMNX** : noyau moteur du nerf vague ; **Gi** : noyau giganto-cellulaire (motricité, respiration, contrôle autonome cardiovasculaire); **IL** : cortex infralimbique (émotions, apprentissage); **KF** : noyau de Kölliker-Fuse (formation réticulaire pontique ; rythme respiratoire, déglutition, fonctions autonomes) ; **LHA** : aire latérale de l'hypothalamus ; **LC** : locus coeruleus (site de production de noradrénaline) ; **MS** : noyau médial du septum (compose le complexe septal ; régulation des émotions, de la mémoire et des fonctions autonomes) ; **NAc** : noyau accumbens (région du striatum ventral qui fait partie du circuit mésocorticolimbique) ; **NTS** : noyau du tractus solitaire ; **OVLT** : organe vasculaire de la lamina terminalis (un organe circumventriculaire du troisième ventricule) ; **PAG** : substance grise périaqueducale (modulation de la douleur, réponses comportementales à la menace, régulation de certaines fonctions autonomes) ; **PBN** : noyau parabrachial ; **PreBotC** : complexe pré-Bötzinger (principal générateur du rythme respiratoire) ; **PrL** : cortex prélimbique (prise de décision et contrôle exécutif, émotions, apprentissage) ; **PVN** : noyau paraventriculaire de l'hypothalamus ; **PVT** : noyau paraventriculaire du thalamus ; PYY : région parapyramidale (modulation des fonctions autonomes et motrices, associées aux pyramides bulbaires, des faisceaux de fibres nerveuses responsables de la transmission des signaux moteurs volontaires du cortex cérébral vers la moelle épinière) ; **Raphe** : noyaux du raphé (principales sources de sérotonine dans le système nerveux central) ; **RF** : formation réticulaire (réseau diffus de neurones interconnectés et relais pour de nombreuses voies neuronales, rôle dans la mastication); **RMG** : noyau magnus du raphé (Compose les noyaux du raphé, douleur, système opioïde) ; **RPA** : noyau raphé pallidus (Compose les noyaux du raphé, thermorégulation, contrôle de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle, respiration) ; **Rob** : noyau raphé obscurus (Compose les noyaux du raphé, respiration, fonctions cardiovasculaires, maintien de la posture et la coordination motrice) ; **SFO** : organe subfornical (un organe circumventriculaire de la paroi antérieure du troisième ventricule); **SI** : noyau substantia innominata (riche en neurones cholinergiques, attention, apprentissage, mémoire, éveil et vigilance, fonctions autonomes); **sp5** : noyau spinal du trijumeau (un des trois principaux noyaux sensoriels du nerf trijumeau (nerf crânien V), qui est responsable de la transmission des sensations faciales, y compris la douleur, la température, et le toucher) ; **Th** : plusieurs noyaux du thalamus (« porte d'entrée » du cortex cérébral en raison de son rôle crucial dans le relais et la modulation des informations sensorielles, motrices, et cognitives vers le cortex) ; **VMH** : noyau ventromédian de l'hypothalamus ; **VLM** : médulla ventrolatérale (réponse à une privation de glucose, tonus et la motilité des muscles lisses du tube digestif, régulation de la pression artérielle, la respiration, et le contrôle des réflexes cardiovasculaires). ; **VTA** : aire tegmentale ventrale (l'une des principales sources de neurones dopaminergiques dans le cerveau qui fait partie du circuit mésocorticolimbique).

CONNEXIONS	SOURCE	CIBLE	REFERENCES
CVD>ARC	NTS^{GABA}	ARC^{NPY}	Morentin et al. (2024)
	NTS^{NPY}	ARC	Chen et al., (2020)
	$NTS^{cathécholamine}$	ARC^{POMC}	Chen et al., (2020) Aklan et al. (2020),
	$NTS^{cathécholamine}$	ARC^{AgRP}	Chen et al., (2020) Aklan et al. (2020),
ARC>CVD	ARC^{POMC}	NTS	Uniquement chez rat (Zheng, Patterson, Phifer, et al., 2005)
	ARC^{POMC}> $PVN^{ocytocine}$	NTS	(Blevins et al., 2004)
	$ARC^{non\ POMC}$	NTS	(Wang et al., 2015)
CVD>PBN	NTS^{POMC}	PBN	(Wang et al., 2015)
	NTS^{TH}	PBN	(Wang et al., 2015)
	NTS^{GLP-1}	PBN	(Alhadeff et al., 2014; Richard et al., 2014)
	NTS^{CCK}	PBN^{CGRP}	(Roman et al., 2016)
	$NTS^{dopamine}$	PBN^{CGRP}	(Roman et al., 2016)
	NTS^{LepR}	PBN	(Yu et al., 2021)
	NTS^{CRH}	PBN (non CGRP)	(Cheng, Gonzalez, et al., 2020; Herbert & Saper, 1990)
	$NTS^{Galanine}$	PBN	(Herbert & Saper, 1990)
	NTS^{GABA}	PBN	(Shao et al., 2024)
	AP^{Gfral}	PBN	(Zhang et al., 2021)
	AP^{GLP-1R}	PBN	(Zhang et al., 2021)
	AP	PBN	(Stein & Loewy, 2010)
	NTS^{CCK}	PVN	(D'Agostino et al., 2016)
PBN > CVD	PBN (glutamatergiques dont Pdyn, non CGRP)	NTS^{TH}	(D. Huang et al., 2021).
	PBN	AP	(Zséli et al., 2016)
	PBN	DMNX	(Zséli et al., 2016)
CVD > PVN	$NTS^{Cathécholaminergiques}$	PVN^{CRH}	(Bienkowski & Rinaman, 2008; Gaillet et al., 1991)
	$NTS^{Cathécholaminergiques}$	PVN^{TRH}	(Füzesi et al., 2009)
	$NTS^{Cathécholaminergiques}$	$PVN^{Ocytocine}$	(Murphy et al., 2023)
	$NTS^{Glutamate}$	PVN	(Shao et al., 2024)
	$NTS^{GLP-1-R}$	PVN	(Llewellyn-Smith et al., 2011)
	NTS^{CCK}	PVN	(D'Agostino et al., 2016)
	NTS^{POMC}	PVN	(Wang et al., 2015)

CONNEXIONS	SOURCE	CIBLE	REFERENCES
	NTS^{GABA}	PVN	(Shi et al., 2021)
PVN>CVD	PVN^{CRH}	NTS dont NTS^{GABA}	(Shao et al., 2024) (Wang et al., 2019)
	$PVN^{Ocytocine}$	NTS	(Ruyle et al., 2018; Uchoa et al., 2013)
	PVN^{MC4R}	NTS	(Blevins et al., 2009)
	$PVN^{parvocellulaires}$	AP	(Gasparini et al., 2020; Shapiro & Miselis, 1985a)

TABLEAU 4 : PRINCIPALES CONNEXIONS ENTRE LE CVD ET LES PARTIES ROSTRALES DU SNC

Abréviations : **AP** : Area Postrema ; **AgRP** : Agouti-Related Peptide ; **ARC** : Noyau arqué de l'hypothalamus ; **CCK** : Cholécystokinine ; **CGRP** : Calcitonin Gene-Related Peptide ; **CRH** : Corticotropin-Releasing Hormone ; **CVD** : CVD ; **DMNX** : Noyau moteur dorsal du nerf vague ; **GABA** : Acide gamma-aminobutyrique ; **Gfral** : Récepteur du GDF15 ; **GLP-1** : Glucagon-Like Peptide 1 ; **GLP-1R** : Récepteur du Glucagon-Like Peptide 1 ; **LepR** : Récepteur de la leptine ; **MC4R** : Récepteur 4 aux mélanocortines ; **NPY** : Neuropeptide Y ; **NTS** : Noyau du tractus solitaire ; **PBN** : Noyau parabrachial ; **Pdyn** : Prodynorphine, précurseur des dynorphines (neuropeptides opioïdes) ; **POMC** : Proopiomélanocortine ; **PVN** : Noyau paraventriculaire de l'hypothalamus ; **TRH** : Thyrotropin-Releasing Hormone.

❒ Relations au sein du tronc cérébral

Les voies efférentes issues du NTS jouent un rôle crucial dans le contrôle des réseaux du tronc cérébral. Le NTS, et dans une moindre mesure l'AP, envoient des projections vers les noyaux médullaires contenant des neurones parasympathiques préganglionnaires (notamment le noyau ambigu), des neurones sympathiques prémoteurs (notamment la médulla ventrolatérale (VLM)) et des neurones respiratoires (groupe respiratoire ventral). Ces projections sont essentielles pour déclencher les réflexes gastro-intestinaux, cardiovasculaires et respiratoires (voir Jean, 1991). Le NTS projette également vers les parties plus rostrales du tronc cérébral, dont la formation réticulée qui est impliquée dans de nombreuses fonctions, dont des mouvements réflexes, le locus coeruleus ou les noyaux du raphé. Les voies efférentes du NTS vers la formation réticulée (Ganchrow et al., 2013; **Figure 19**, **E et F**) permettent la coordination des réflexes moteurs essentiels à la mastication et à la déglutition abordés à la section **section I.2.3.1**, p 83.

❒ Relations avec le PBN

Le PBN et le CVD entretiennent des relations bidirectionnelles (**Figure 19**, **D**). Comme indiqué précédemment, les projections ascendantes du NTS vers le PBN permettent le transfert d'informations modifiées ou relayées par le PBN aux centres supérieurs (Ganchrow et al., 2013). Ces projections mobilisent plusieurs populations neuronales du NTS, comme les neurones exprimant POMC (NTS^{POMC}, Wang et al., 2015), le GLP-1, la CCK (Roman et al., 2016), le CRH (Herbert & Saper, 1990) ainsi que des neurones à galanine (Herbert & Saper, 1990), et des neurones dopaminergiques (Roman et al., 2016) et noradrénergiques (voir **Tableau 4**). Ces neurones contactent principalement les portions latérales du PBN, notamment les neurones du PBN exprimant le peptide relié au gène de la calcitonine (*Calcitonin Gene-Related Protein*, CGRP, PBN^{CGRP}, Roman et al., 2016). Le PBN reçoit également des projections denses de l'AP (Stein & Loewy, 2010) et quelques projections du DMNX (Yuan & Silberstein, 2016). Réciproquement, le PBN projette de façon dense vers le NTS, l'AP et le DMNX (Herbert et al., 1990). Les entrées du NTS issues du PBN impliquent principalement des neurones glutamatergiques et n'incluent pas les PBN^{CGRP} (Huang et al., 2021).

❒ Relations avec l'hypothalamus

L'une des régions cérébrales les plus connectées au CVD est l'hypothalamus (HYP, **Figure 19**, **A à C**). Les projections descendantes de l'HYP vers le TCc jouent un rôle crucial dans le contrôle des fonctions du CVD, dont le contrôle du comportement alimentaire (Berthoud et al., 2006; Zheng, Patterson, & Berthoud, 2005). Les projections ascendantes denses du CVD vers l'HYP commencent aussi à être caractérisées et sont essentielles dans le contrôle du comportement alimentaire (Rinaman, 2007). Elles impliquent majoritairement des neurones catécholaminergiques du groupe A2/C2 du NTS, qui sont glutamatergiques (Sawchenko & Swanson, 1981, 1982). Plusieurs régions hypothalamiques sont interconnectées avec le CVD, en particulier le PVN mais également l'ARC, l'hypothalamus dorsomédial et l'hypothalamus latéral (Gasparini et al., 2020).

Les projections du CVD atteignent plusieurs populations neuronales du PVN. Les neurones catécholaminergiques du NTS projettent vers les neurones contenant l'hormone de libération de la corticotropine (PVN^{CRH}) impliqués dans l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA) et le stress (Bienkowski & Rinaman, 2008; Gaillet et al., 1991) ainsi que vers les neurones exprimant l'hormone de libération de la thyréotropine (PVN^{TRH} ; Füzesi et al., 2009) et des neurones ocytocinergiques ($PVN^{ocytocine}$;Murphy et al., 2023). Les projections vers le PVN impliquent également des populations GABAergiques (NTS^{GABA} ; Shi et al., 2021), POMC (NTS^{POMC} ; Wang et al., 2015), GLP-1 (NTS^{PPG} ; Llewellyn-Smith et al., 2011) du NTS. Les entrées extérieures au CVD les plus denses vers le NTS et l'AP proviennent également du PVN (Gasparini et al., 2020; Shapiro & Miselis, 1985). Parmi les neurones du PVN projetant vers le NTS, on retrouve principalement les PVN^{CRH} (Wang et al., 2019), ainsi que, dans une moindre mesure, des neurones $PVN^{ocytocine}$ (Ruyle et al., 2018; Uchoa et al., 2013) et des neurones exprimant le récepteur MC4R (Blevins et al., 2009).envoient également des projections directes vers le NTS chez le rat. Les populations neuronales contactant l'AP semblent distinctes et elles impliqueraient les neurones parvocellulaires du PVN.

Des projections bidirectionnelles s'établissent également entre l'ARC et le NTS. Ces projections ne sont pas totalement caractérisées et semblent légèrement varier chez les rats et les souris (Holt, 2022). Par exemple, les entrées descendantes de l'ARC proviennent en partie des neurones ARC^{POMC} chez les rats (Zheng, Patterson, Phifer, et al., 2005) mais pas chez les souris (Wang et al., 2015). Chez les souris, il semble que les neurones ARC^{POMC} établissent préalablement un relais au niveau des $PVN^{ocytocine}$ avant d'atteindre le NTS (Blevins et al., 2004). Alternativement, des populations de l'ARC n'exprimant pas POMC ou AgRP pourraient projeter vers le NTS des souris (Wang et al., 2015). Parallèlement, plusieurs études récentes ont décrit les projections ascendantes du NTS vers l'ARC, comme Morentin et al. (2024), qui ont identifié des projections inhibitrices provenant des neurones NTS^{GABA} vers les neurones ARC^{NPY}, Chen et al., (2020), impliquant une population du NTS exprimant du NPY et de l'adrénaline, et Aklan et al. (2020), qui ont rapporté des projections catécholaminergiques directes du NTS vers les neurones POMC et AgRP de l'ARC. Les populations décrites par Chen et al., (2020) et Aklan et al. (2020) pourraient être la même population cellulaire.

Les relations établies au sein du CVD et entre le CVD et le reste du SNC sont cruciales pour déterminer les fonctions de ce dernier, en particulier en ce qui concerne le comportement alimentaire, discuté dans la section suivante. La position stratégique du CVD, à l'interface entre les organes périphériques et le SNC, lui permet d'intégrer efficacement les signaux métaboliques reflétant l'état nutritionnel et physiologique de l'organisme. En tenant compte des multiples entrées centrales qu'il reçoit, le CVD est capable d'intégrer de nombreuses informations relatives à l'état physiologique et non-physiologique de l'organisme. Par ses actions directes sur le système gastro-intestinal et ses influences indirectes sur de nombreuses régions du SNC, le CVD joue un rôle essentiel dans le contrôle de la balance énergétique.

I.2.3 - Principales contributions du CVD au contrôle du comportement alimentaire

Les expériences de décérébration menées chez le chat dans les années 1920 (Bazett & Penfield, 1922; Miller & Sherrington, 1915) ont marqué un tournant majeur dans la compréhension du rôle du tronc cérébral dans le contrôle du comportement alimentaire. La décérébration, décrite initialement par Sherrington, implique une section réalisée à l'avant du tronc cérébral, le séparant ainsi des régions rostrales du cerveau (Sherrington, 1898). Bien qu'ils soient incapables d'approcher la nourriture (en raison d'une aphagie et d'une adipsie), les animaux décérébrés utilisés pouvaient mastiquer et déglutir lorsque la nourriture était placée directement en bouche. Bazett et Penfield ont également suggéré un certain degré de rassasiement chez ces chats, qui ronronnaient après avoir été nourris (Bazett & Penfield, 1922). Dans la continuité de ces travaux, à partir de la fin des années 1970, Grill et ses collaborateurs ont reproduit la décérébration au niveau du mésencéphale, chez le rat. Cette technique leur a permis de préciser le rôle du tronc cérébral dans les comportements d'ingestion en réponse à l'administration intra-orale de nourriture liquide. Leurs recherches ont mis en évidence, chez les animaux décérébrés, des comportements moteurs bucco-oraux rythmiques similaires à ceux des rats intacts (Kaplan & Grill, 1989) ainsi que la capacité de ces animaux à rejeter des substances nocives (Grill & Norgren, 1978b), à terminer un repas et à évaluer la densité énergétique des repas (Grill & Kaplan, 1992; Grill & Norgren, 1978a). Ils ont également exploré la sensibilité du tronc cérébral aux signaux gastro-intestinaux (Grill & Smith, 1988; Seeley et al., 1994) et sa réponse à la glucoprivation (DiRocco & Grill, 1979) et à l'hypoglycémie (Flynn & Grill, 1983). Ces travaux ont été résumés plus largement dans la revue de Berthoud (2004) ou des auteurs (Grill & Kaplan, 2002). Ils ont été complétés, pendant la même période, par des études de lésions du TCc, notamment de l'AP (Berger et al., 1973; Branca et al., 1972; Ritter & Edwards, 1984) et/ou du NTS (Contreras & Stetson, 1981; Hyde & Miselis, 1983) qui ont permis d'évaluer les conséquences de cette atteinte du tronc cérébral sur le comportement alimentaire et la régulation de la glycémie.

Les expériences de décérébration et de lésions ont permis d'établir que tous les signaux qui régulent l'apport alimentaire (dont ceux inclus dans le **Tableau 2**) convergent en fin de compte avec les circuits moteurs situés dans le tronc cérébral. Il est aujourd'hui établi que les neurones responsables des actions de la mâchoire, de la langue, de la déglutition et des sécrétions salivaires, ainsi que les circuits qui coordonnent ces neurones moteurs pour créer des mouvements rythmiques tels que mâcher, lécher et avaler, se trouvent dans les noyaux du tronc cérébral postérieur. Au-delà de ses fonctions motrices le CVD apparaît aujourd'hui comme un centre intégrateur nécessaire à la sélection, l'initiation et l'exécution du comportement alimentaire ainsi qu'à la mise en place du cycle de rassasiement et de satiété discuté dans cette section. Néanmoins, le contrôle de l'appétit et de la prise alimentaire nécessite des interactions plus complexes avec le reste du SNC et la contribution du CVD dans ces processus reste encore à caractériser.

I.2.3.1 - Le CVD et ses connexions périphériques : un rôle central dans la digestion et la régulation des réserves énergétiques

Grâce à ses connexions avec les organes périphériques, le CVD joue un rôle central dans le contrôle de la digestion, à toutes les étapes du comportement alimentaire.

Ce lien avec la périphérie implique principalement des réflexes vago-vagaux, dans lesquels le DMNX, en tant que principale voie efférente du nerf vague, est essentiel (Powley, 2000; Zafra et al., 2006, **Figure 17**). En modulant le tonus parasympathique au travers du nerf vague, le DMNX affecte les fonctions gastriques, intestinales, hépatiques et pancréatiques (**Figure 20**). Les réflexes vago-vagaux sont déclenchés par les informations sensorielles qui excitent les neurones afférents vagaux grâce aux mécanorécepteurs et chémorécepteurs, qu'ils expriment tout au long du tractus

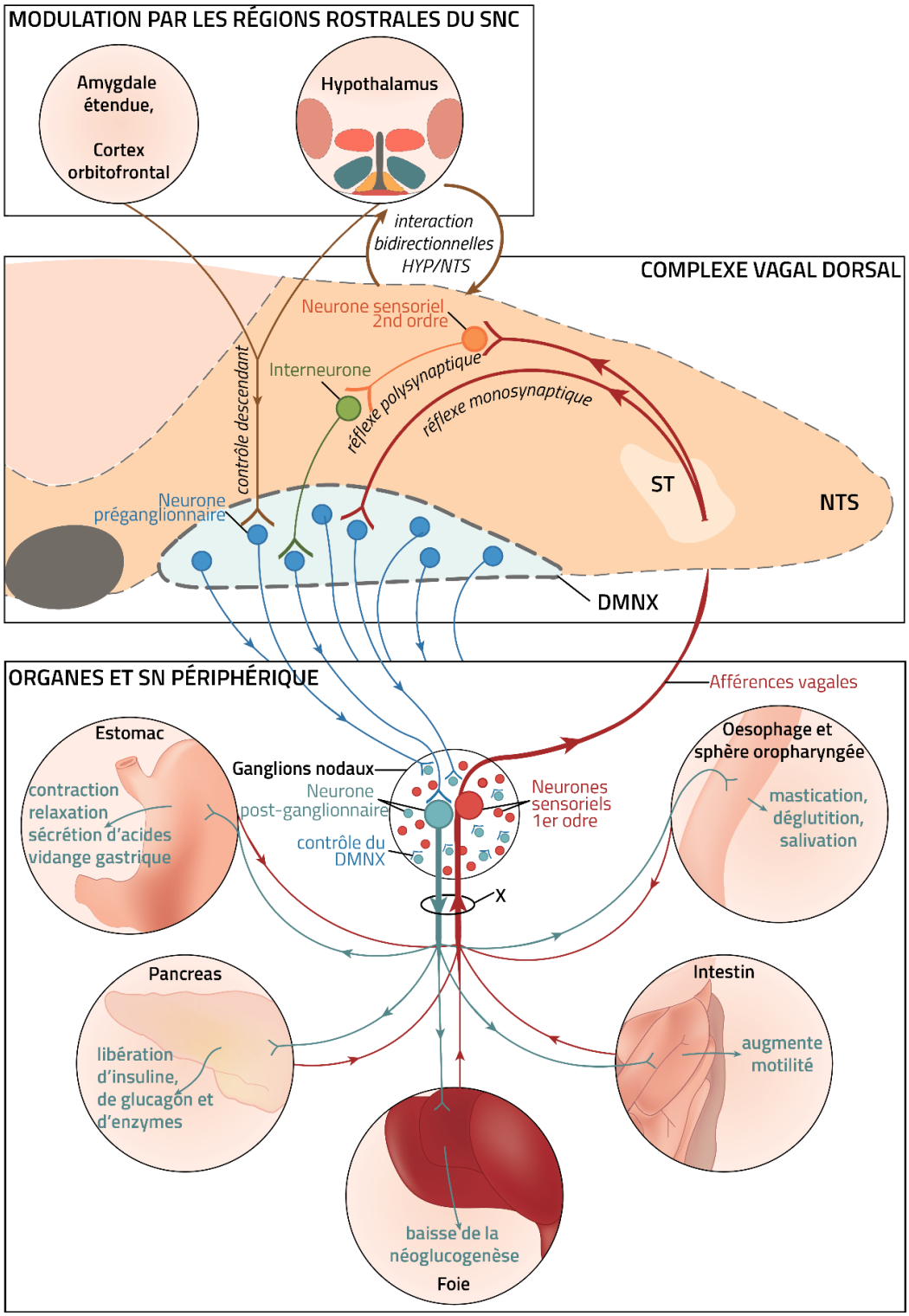


FIGURE 20 : SCHÉMATISATION DES CONTRIBUTIONS DU CVD DANS LE CONTRÔLE DES RÉPONSES DIGESTIVES ET SÉCRÉTOIRES

Le CVD intègre les signaux sensoriels provenant des afférences vagales, représentées ici par les lignes rouges issues des neurones sensoriels de premier ordre, dont les corps cellulaires sont localisés dans les ganglions nodaux. L'intégration de ces signaux déclenche des réflexes vago-vagaux monosynaptiques en agissant directement sur les neurones préganglionnaires du DMNX et/ou des réflexes vago-vagaux impliquant des neurones sensoriels de second ordre et des interneurones au sein du NTS. Ces boucles réflexes sont modulées par l'hypothalamus.

digestif, ainsi qu'aux capteurs associés à l'absorption des nutriments dans des organes tels que le foie et le pancréas. Le DMNX est capable d'intégrer les afférences vagales et de générer une réponse efférente correspondante, à l'origine des réflexes vago-vagaux monosynaptiques (Rogers et al., 1995). Les réponses aux afférences vagales peuvent aussi être initiées par des interneurones du NTS, le premier relais pour les informations viscérales (Powley, 2021). Par ailleurs, ces boucles réflexes sont influencées par des régions plus rostrales du SNC, notamment l'HYP. Avant le repas, le DMNX peut être activé directement par l'amygdale ou le cortex orbitofrontal, qui intègrent les stimuli olfactifs et visuels associés à la nourriture (voir Zafra et al., 2006). Ce contrôle descendant permet de générer des réponses de la phase céphalique, préparant l'organisme à absorber, digérer et métaboliser les aliments (Power & Schulkin, 2008, **Tableau 1**). Ces réponses incluent les sécrétions salivaires, et des sécrétions gastriques et pancréatiques qui précèdent le repas (Powley, 2000; Zafra et al., 2006).

I.2.3.1.1 - CVD et fonctions pancréatiques et hépatiques

Parmi les réponses céphaliques, l'une des plus notables est la sécrétion d'insuline. Contrairement à la sécrétion déclenchée par une élévation de la glycémie (Newgard & McGarry, 1995), cette libération d'insuline se produit de manière anticipée, avant l'absorption des aliments et indépendamment des niveaux de glucose sanguin. Cette sécrétion précoce améliore la tolérance au glucose postprandiale, facilitant ainsi un retour plus rapide à des niveaux glycémiques normaux (Teff, 2011). Déclenchée par des stimuli visuels, olfactifs, tactiles et gustatifs liés à la consommation alimentaire (Sjöström et al., 1980 ; Teff, 2011), cette sécrétion est en partie médiée par le CVD. En réponse aux signaux gustatifs intégrés par le NTS rostral, le CVD active les neurones du DMNX, qui stimulent les cellules β du pancréas via le nerf vague, entraînant ainsi la libération d'insuline (Jimenez-Gonzalez et al., 2022). Pour une revue complète sur la libération d'insuline en phase céphalique, voir Langhans et al. (2023) et Borgmann & Fenselau (2024).

Le rôle du CVD ne se limite pas à la sécrétion d'insuline en phase céphalique. Il est également impliqué dans la régulation des sécrétions pancréatiques tout au long du processus digestif (Babic et al., 2012 ; Chandra & Liddle, 2020 ; Faber et al., 2020), sous l'influence de projections descendantes de l'HYP (Berglund et al., 2014; Ren et al., 2015). L'insuline et d'autres sécrétions pancréatiques jouent un rôle crucial dans la gestion des réserves énergétiques, en régulant les niveaux de glucose circulant et en ajustant le stockage des glucides et des lipides. Par exemple, l'insuline stimule l'absorption du glucose par les adipocytes et favorise le stockage des triglycérides dans ces cellules, tout en inhibant la lipolyse (Frayn, 2002). Cette action réduit la libération d'acides gras dans le sang et favorise le stockage des graisses. L'insuline influence également les cellules intestinales, modulant l'absorption du glucose et des acides aminés, facilitant ainsi leur utilisation et leur stockage ultérieur (Saffran et al., 1997).

Les sécrétions pancréatiques agissent également sur le foie en inhibant la dégradation du glycogène en glucose (glycogénolyse) et la production de glucose à partir de substrats non glucidiques (néoglucogenèse ; Pilkis & Granner, 1992). Ce contrôle peut aussi être directement modulé par le CVD via le tonus parasympathique et pourrait être déclenché par la détection de glucose et d'acides gras par le CVD ainsi que la signalisation de l'insuline au sein du CVD (Filippi et al., 2012). Par son influence sur le foie, le CVD contribue à réguler la production de glucose et les niveaux de lipides circulants, ce qui impacte les réserves de glycogène et le stockage des graisses dans le tissu adipeux (Weickert & Pfeiffer, 2006).

FIGURE 20 SUITE.

Les efférences du DMNX, schématisées en bleu, vont contrôler différents organes périphériques et permettre la coordination des réponses digestives avant, pendant, et après l'ingestion alimentaire. Les contrôles moteurs et sécrétoires déclenchés par les neurones préganglionnaires du DMNX peuvent directement être déclenchés par des régions rostrales du SNC pendant la phase céphalique.

Abréviations : **DMNX** : Noyau Moteur Dorsal du Nerf Vague ; **HYP** : hypothalamus ; **NTS** : Noyau du Tractus solitaire ; **SNC** : système nerveux central ; TS : tractus solitaire ; **X** : nerf vague.

I.2.3.1.2 - CVD et fonctions de la sphère oropharyngée et œsophagienne

Le CVD, par l'intermédiaire du NTS rostral, du DMNX et des boucles réflexes vago-vagales, coordonne plusieurs fonctions clés de la sphère oropharyngée et œsophagienne (Proctor, 2016). Il influence la sécrétion de salive tout au long de la phase ingestive du comportement alimentaire et participe au contrôle rythmique des muscles impliqués dans la mastication (Falardeau et al., 2023) et la déglutition (Jean, 2001). En intégrant les signaux sensoriels issus de la bouche et du pharynx, le NTS joue un rôle central dans le déclenchement des réflexes de déglutition (Bieger & Neuhuber, 2006) et module la sensibilité des réflexes de mastication via des interactions avec d'autres noyaux moteurs (Lund, 2011). Le DMNX, quant à lui, contrôle les motoneurones parasympathiques innervant les muscles lisses de l'œsophage, régulant ainsi le péristaltisme œsophagien et jouant un rôle essentiel dans la phase terminale de la déglutition.

I.2.3.1.3 - CVD et tractus gastro-intestinal

Pendant toutes les étapes du comportement alimentaire, le CVD est impliqué dans des boucles réflexes vago-vagales en lien avec le système nerveux entérique (Furness, 2012 et **section I.2.2.1**, p 68) pour moduler la motilité du tractus gastro-intestinal supérieur (Travagli & Anselmi, 2016) et les sécrétions digestives (Travagli et al., 2006). Ce contrôle implique les portions intermédiaires et caudales du NTS et leurs actions principalement inhibitrices sur le DMNX (Travagli & Anselmi, 2016). Le NTS envoie des relais supplémentaires à des régions hypothalamiques, qui peuvent à leur tour moduler le tonus parasympathique.

En influençant la vidange gastrique ainsi que la distension et l'accommodation gastriques (Goyal et al., 2019), le CVD module le temps de transit du bol alimentaire, affectant l'exposition des cellules intestinales aux nutriments. Par cette action, il participe à déterminer le taux d'absorption des nutriments (Goyal et al., 2019; Marathe et al., 2013) et peut finalement entraîner des changements dans les niveaux d'hormones gastro-intestinales et pancréatiques impliquées dans la satiété et la faim (Berthoud, 2008 ; Travagli & Anselmi, 2016).

Ainsi, le contrôle moteur et sécrétoire de la digestion par le CVD joue un rôle clé dans la gestion des réserves énergétiques. Il va influencer le stockage et la mobilisation des substrats énergétiques en modulant l'absorption des nutriments et la vitesse de vidange gastrique, fonctions reposant en partie sur les boucles réflexes vago-vagales mentionnées précédemment. Dans une moindre mesure, il participe également à l'ajustement des DE, mais cette fonction ne sera pas traitée dans ce manuscrit. Le lecteur est invité à consulter les travaux de Madden et Morrison (Cao et al., 2010; Conceição et al., 2021; Madden & Morrison, 2016; Mota & Madden, 2023), qui impliquent le NTS et ses projections vers le PBN et l'HYP dans la thermogenèse liée à l'oxydation des acides gras dans le tissu adipeux brun. De plus, ces contributions du CVD dans les processus d'ingestion et de digestion ont fait l'objet de revues plus complètes dont celle de Kim et al. (2022), qui décrit également les liens entre le CVD et la formation réticulée ou d'autres régions du tronc cérébral pour coordonner les activités motrices impliquées dans l'alimentation.

I.2.3.2 - Le CVD contrôle l'apport énergétique par la prise alimentaire

La capacité des rats décérébrés à répondre aux signaux de satiété et à réguler la taille de leurs repas (Grill & Norgren, 1978), ainsi que les études de lésions et de manipulations génétiques montrant que l'activation, l'inhibition ou la destruction de certaines populations neurales du CVD, modulent l'appétit (Holt, 2022) placent aujourd'hui le CVD au centre du contrôle de la prise alimentaire (PA). La compréhension préalable des fonctions de l'hypothalamus médiobasal (HYPmb) dans le contrôle de l'appétit a grandement facilité la découverte des mécanismes sous-jacents au sein du CVD, qui présente de nombreuses similitudes avec l'HYPmb.

En particulier, comme c'est le cas de l'HYPmb, le CVD contient des réseaux neuronaux spécialisés dans le contrôle de l'appétit. Ils sont situés dans les parties postrémale et caudale du

NTS et dans l'AP, et se caractérisent par l'expression d'un large éventail de neurotransmetteurs, neuropeptides et récepteurs (voir **Figure 16** et Georgescu et al., 2020) qui sont impliqués dans le contrôle de la PA. Certains de ces neuropeptides sont également présents dans l'ARC de l'HYPmb, comme le NPY (neurone NTS^{NPY}), POMC (NPY^{POMC}) ou la somatostatine exprimée par des neurones GABAergiques (NTS^{SST}). D'autres, peptides tels que le GLP-1 libéré par les neurones préproglucagon (NTS^{PPG}, Larsen et al., 1997), la CCK (NTS^{CCK}, Ingram et al., 1989), ou la noradrénaline libérée par les neurones exprimant la tyrosine hydroxylase (TH, NTS^{TH}) sont plus spécifiques du CVD. La contribution de ces différentes populations neuronales a été abordée dans la revue de Holt (2022), et de Cheng et al., (2022) dont une partie est présentée dans ce chapitre.

I.2.3.2.1 - Signaux pertinents pour le contrôle de la prise alimentaire par le CVD

Comme discuté dans la **section I.2.2**, p 68, le CVD peut intégrer trois types d'entrées : nerveuses (via le nerf vague), humorales (par les capillaires fenestrés de l'AP) et centrales (issues des parties rostrales du SNC). Ces trois entrées influencent l'activité des cellules neurales du CVD.

❒ Afférences vagales

Les afférences vagales, en plus d'être incluses dans les réflexes vago-vagaux (**section I.2.3.1**, p 83), sont critiques dans la régulation de la PA. D'ailleurs, une désafférentation vagale induite chirurgicalement augmente drastiquement la taille des repas (Schwartz et al., 1999). À l'inverse, la stimulation du nerf vague, qu'elle soit aiguë (Gil et al., 2011) ou chronique (Krolczyk et al., 2001), réduit la PA. Les afférences vagales permettent au CVD d'intégrer de façon rapide et efficace les informations sensorielles gastro-intestinales et intéroceptives, y compris des signaux activant les réseaux neuraux impliqués dans le rassasiement, la satiété et l'inhibition de la prise alimentaire (Han et al., 2018; **Tableau 2**). L'un des peptides largement étudiés pour ses effets rassasiants est la CCK. La CCK est principalement libérée par le duodénum et le jéjunum en réponse à la présence de graisses et de protéines dans le bolus alimentaire (Liddle et al., 1985). Elle stimule les afférences vagales exprimant le récepteur CCK-A, qui projettent ensuite vers le NTS caudal. Cette activation des afférences vagales par la CCK recrute les circuits de rassasiement qui contribuent à l'arrêt du repas (Baptista et al., 2005; Gibbs et al., 1973). Dans le NTS, ces afférences établissent des connexions avec des neurones dits de second ordre, les afférences vagales se connectent aux neurones qualifiés de second ordre, impliqués dans le traitement des informations viscérales, notamment des NTS^{POMC} (Appleyard, 2005), des neurones NTS^{PPG} (Holt, Pomeranz, et al., 2019) et des NTS^{TH} (Appleyard et al., 2007). L'activation respective de ces trois populations neuronales entraîne une diminution de la PA (Aklan et al., 2020; Gaykema et al., 2017; Roman et al., 2016; Zhan et al., 2013). Les afférences vagales se connectent également à des neurones NTS^{GABA} (Bailey et al., 2008), dont les NTS^{SST} (Thek et al., 2019).

❒ Signaux métaboliques circulants

En plus de ces signaux nerveux, le CVD a un accès facilité à des signaux métaboliques acheminés par voie humorale, par l'intermédiaire des capillaires fenestrés de l'AP (voir **Tableau 3**). Ces signaux incluent des hormones libérées par les organes périphériques, qui indiquent l'état nutritionnel et les réserves énergétiques de l'organisme, les différentes étapes de la digestion, ainsi que les niveaux de nutriments circulants. Les cellules neurales de l'AP et du NTS sous-jacent répondent à cette variété de signaux pour contrôler le comportement alimentaire. Par exemple, des récepteurs à la leptine (LepR) sont retrouvés dans le NTS (NTS^{LepR}) et l'AP (AP^{LepR}) et l'activation des NTS^{LepR} réduit la PA (Cheng, Ndoka, et al., 2020). Une partie des neurones des NTS^{LepR} expriment le GLP-1 (NTS^{PPG}). Leur activation par chémogénétique réduit la PA et cause une perte de poids (Gaykema et al., 2017; Trapp & Richards,2013), tandis que leur destruction augmente la réponse hyperphagique induite par le jeûne (Holt, Richards, et al., 2019). Les NTS^{TH} exprimant POMC du NTS ont quant à eux été décrits pour répondre à la L-leucine, un acide aminé dont les niveaux circulants augmentent après l'absorption des protides issus de l'alimentation. La réponse à la L-leucine par cette population induit une réduction de la PA (fréquence des repas) et

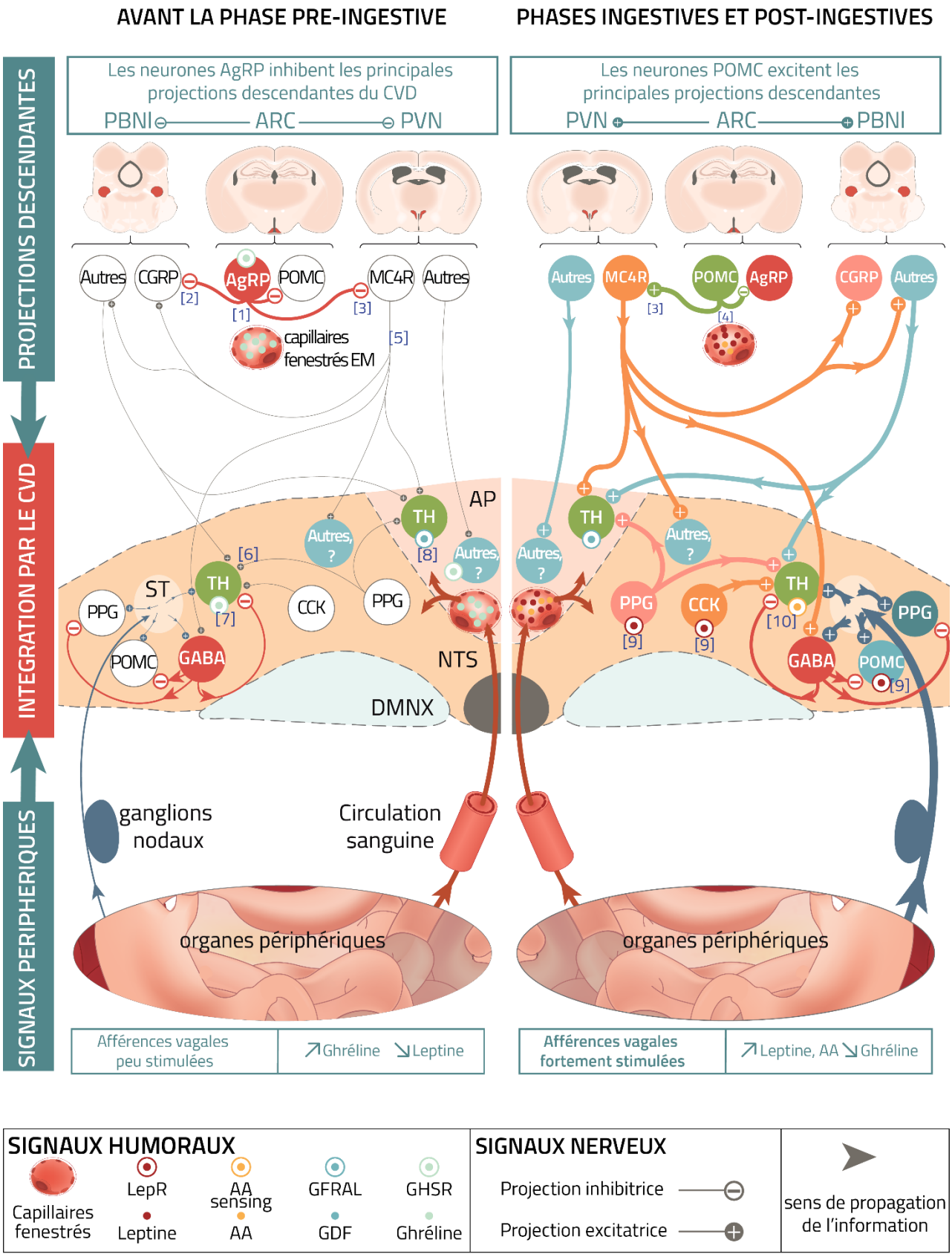


FIGURE 21 : SCHÉMA EN MIROIR DES PRINCIPAUX SIGNAUX HUMORAUX ET NERVEUX INTÉGRÉS PAR LE CVD PARTICIPANT AU CONTRÔLE DE LA PRISE ALIMENTAIRE

Le CVD intègre plusieurs types de signaux pour réguler la prise alimentaire. Ces signaux proviennent de trois sources principales :

une modification de la composition corporelle (Blouet & Schwartz, 2012). D'autres peptides exercent leurs effets satiétogènes en ciblant directement des populations neuronales résidant dans l'AP. C'est le cas de l'amyline, un peptide co-libéré avec l'insuline par les cellules β pancréatiques et dont la sécrétion augmente quelques minutes après le début du repas (Potes et al., 2010; Züger et al., 2013). L'amyline agit sur les cellules noradrénergiques et glutamatergiques de l'AP (AP^{TH}, Lutz et al., 2001; Potes et al., 2010). En plus de ces peptides et molécules associées au contrôle de l'appétit, l'AP intègre de nombreux stimuli associés à l'ingestion de substances nocives et potentiellement toxiques. Parmi les neurones de l'AP recrutés par ces stimuli aversifs, les neurones AP^{TH} exprimant les récepteurs GFRAL et GLP-1R semblent déterminants dans l'inhibition de la PA et l'induction de nausées. L'activation de ces neurones par des signaux émétiques est associée à une aversion conditionnée aux goûts (Sabatini et al., 2021).

FIGURE 21 SUITE.

1) des afférences vagales dont les corps cellulaires sont localisés dans les ganglions nodaux. Ces afférences transmettent les informations gastro-intestinales au CVD par le TS ;
2) du sang : les signaux métaboliques issus de la circulation sanguine, accèdent plus facilement au CVD grâce aux capillaires fenestrés présents dans l'AP et l'éminence médiane de l'hypothalamus. Les populations neuronales sensibles à ces signaux métaboliques sont indiquées par des cibles colorées, suivant la légende.
3) des parties rostrales du SNC, relation de haut en bas (« *top-down* »). Les projections descendantes du SNC, influençant directement les circuits du CVD impliqués dans la régulation de la prise alimentaire. Par souci de simplicité, seules les trois régions rostrales du SNC sont renseignées sur ce schéma. Il aurait également pu inclure l'amygdale centrale qui projette de façon dense vers les NTS^{POMC} et NTS^{PPG} (Holt, 2022). Les projections ou l'expression de marqueurs qui n'ont pas été renseignées dans le manuscrit sont indiquées par les références entre crochet. En dehors des repas et principalement lorsque l'organisme est en déficit énergétique, les afférences vagales sont peu stimulées, fournissant ainsi un apport limité au NTS. Simultanément, les niveaux de ghréline augmentent, activant les neurones de l'AP et les neurones ARC^{AgRP}. Les ARC^{AgRP} inhibent les principales projections descendantes vers le CVD, diminuant ainsi l'engagement des réseaux locaux du NTS dans le contrôle de la prise alimentaire. Pendant les phases d'ingestion et post-ingestive, les afférences vagales sont fortement stimulées, devenant ainsi la principale source d'information pour le CVD. Les nutriments et les hormones métaboliques circulantes, tels que la leptine, sont détectés par diverses populations neuronales du CVD. Au niveau hypothalamique, la leptine inhibe les neurones ARC^{AgRP} et active les neurones ARC^{POMC}, renforçant ainsi la voie des mélanocortines au sein du PVN. Le PVN recrute alors des projections vers les neurones PBN^{CGRP} (Neurones du Noyau Parabrachial exprimant le Calcitonin Gene-Related Peptide), ce qui réduit la prise alimentaire. En parallèle, les PVN^{MC4R} activent les circuits de la satiété au sein du NTS.

Abréviations : **AA** : Acides Aminés ; **AgRP** : *Agouti-related peptide* ; **AP** : Area Postrema ; **ARC** : Noyau arqué de l'hypothalamus ; **CGRP** : Calcitonin Gene-Related Peptide ; **CCK** : Cholécystokinine ; **DMNX** : Dorsal Motor Nucleus of the Vagus ; **GABA** : Acide γ-aminobutyrique ; **GDF** : Growth Differentiation Factor (Facteur de différenciation de croissance) ; **MC4R** : Melanocortin 4 Receptor ; **NTS** : Nucleus Tractus Solitarii (Noyau du tractus solitaire) ; **PBNl** : Noyau Parabrachial latéral ; **POMC** : Pro-opiomelanocortin ; **PPG** : Preproglucagon ; **PVN** : Noyau paraventriculaire de l'hypothalamus ; **TH** : Tyrosine Hydroxylase ; TS : Tractus solitaire.

Références additionnelles : **[1]** (Cowley et al., 2003) ; **[2]** (Wu et al., 2009) ; **[3]** (Bagnol et al., 1999) ; **[4]** (Cowley et al., 2001) ; **[5]** (Singh et al., 2021) ; **[6]** (Card et al., 2018) ; **[7]** (Cui et al., 2011) ; **[8]** (Hsu et al., 2017) ; **[9]** (Garfield et al., 2012).

❒ Projections centrales descendantes

Enfin, les projections descendantes des régions rostrales du SNC vers le CVD (détaillées dans la **section I.2.2.3**, p 76) jouent un rôle critique dans le contrôle de la PA par ce dernier. Parmi les régions influençant l'activité du CVD, on retrouve l'HYPmb (ARC, PVN et LHA), ainsi que le PBN, l'amygdale ou encore le cortex préfrontal. Elles informent le CVD sur l'environnement actuel, l'état métabolique, les effets des expériences alimentaires antérieures, l'humeur, les activités cérébrales en cours non directement liées à l'alimentation, etc. Les projections descendantes de l'HYP vers le TCc sont particulièrement importantes dans l'initiation et la terminaison de l'apport alimentaire. L'activité des populations neurales de l'HYP est fortement influencée par les signaux d'adiposité, la leptine et l'insuline (voir **Tableau 2**) et par une multitude de paramètres relatifs à l'état physiologique de l'organisme, tels que les rythmes circadiens, le cycle de reproduction, les stades de développement et le niveau de stress, qui peuvent affecter la disponibilité à court terme des nutriments et l'équilibre énergétique à long terme (voir **section I.1.3.2**, p 55). Plusieurs populations hypothalamiques, décrites dans le **Tableau 3**, projettent vers les neurones du NTS en réponse aux signaux métaboliques et modulent les réseaux du NTS responsables du contrôle de la PA.

Un des réseaux majeurs par lesquels le CVD influence le contrôle de la PA implique le système mélanocortinergique, caractérisé par des projections redondantes. Les mélanocortines sont une famille de peptides dérivés de la proopiomélanocortine (POMC), connus pour leurs effets anorexigènes et cataboliques. Parmi ces peptides, l' *α-melanocyte-stimulating hormone* (α-MSH), clivée à partir de POMC, se lie aux récepteurs MC3R et MC4R pour exercer ses effets anorexigènes. Le MC4R est fortement exprimé dans le NTS (Kishi et al., 2003), notamment au sein des NTS^{TH} exprimant le GLP-1R et le *brain derived neurotrophic factor* (BDNF ;**Figure 16**, Ludwig, Cheng, et al., 2021). POMC est produite non seulement par environ 10 % des neurones du NTS (Appleyard, 2005; Palkovits et al., 1987), mais également par une vaste population neuronale du ARC de l'HYPmb (ARC^{POMC}). Chez le rat, les ARC^{POMC} sont sensibles à de nombreux signaux métaboliques, notamment la leptine, et projettent directement vers le NTS pour activer les circuits impliqués dans le contrôle de l'alimentation (Zheng, Patterson, Phifer, et al., 2005). Cette voie des mélanocortines vers le NTS peut également passer par un relais au niveau du PVN, ce passage étant obligatoire chez la souris (Blevins et al., 2004; Wang et al., 2015). L'α-MSH libérée par les ARC^{POMC} active des neurones PVN^{TRH} (Fekete et al., 2000; Lechan & Fekete, 2004) et des PVN^{OXT} (Blevins et al., 2004), lesquels recrutent ensuite les circuits du NTS. Les récepteurs MC4R, impliqués dans le contrôle de la balance énergétique, sont antagonisés par l'AgRP, un peptide également exprimé par une sous-population de neurones de l'ARC (les neurones ARC^{AgRP}, voir **section I.1.3.2**, p 55). L'AgRP, souvent colibéré avec le GABA, inhibe l'activité des neurones PVN^{CRH} (Cansell et al., 2012). Ces PVN^{CRH} projettent également vers le NTS et ciblent notamment les neurones inhibiteurs du NTS (NTS^{GABA} ; Wang et al., 2019). Les ARC^{AgRP} sont principalement activés en conditions de déficit énergétique. Ainsi, lorsque les niveaux de leptine diminuent ou que les taux de ghréline augmentent, ils atténuent l'activité des neurones NTS^{GABA}, au sein des réseaux du CVD, induite par les PVN^{CRH}. Ce tonus inhibiteur dans le CVD module les neurones de second ordre du NTS ainsi que les efférences vagales du DMNX.

L'influence de ces signaux varie en fonction des différentes étapes du comportement alimentaire. Les entrées vers le CVD sont particulièrement importantes pendant les phases d'ingestion et post-ingestive, tandis qu'elles sont minimales en situation de déficit énergétique ou après l'absorption des nutriments (**Figure 21**). L'implication des projections descendantes du SNC au cours du comportement alimentaire a été discutée plus en détail par d'autres auteurs, notamment dans les revues par Asarian & Bächler (2014), Berthoud (2004), Blevins & Baskin (2010) et Schneeberger et al. (2014).

I.2.3.2.2 - Intégration de ces différents signaux et circuits neuronaux impliquant le CVD

La capacité du CVD à contrôler la prise alimentaire (PA) repose sur une intégration fine de signaux d'origines centrale et périphérique. Ce processus, encore mal élucidé, implique les réseaux locaux du NTS, leurs interactions avec le DMNX et l'AP, ainsi que diverses voies de signalisation intracellulaire au sein des neurones du CVD.

L'une des principales difficultés dans l'analyse de l'intégration des signaux par le CVD réside dans la multiplicité des voies d'action empruntées par un même signal d'origine gastro-intestinale. En effet, certains peptides ou hormones peuvent : 1) activer les afférences vagales, 2) agir par voie humorale, ou 3) être produits localement par des neurones du CVD. Dans la circulation sanguine, ces signaux peuvent cibler directement les réseaux neuronaux du CVD ou, indirectement, agir sur l'HYP et moduler les projections descendantes qui influencent à leur tour l'activité du CVD. Le GLP-1 illustre bien cette complexité d'action. Cette incrétine à courte demi-vie est sécrétée par les cellules L intestinales (et produite aussi par les neurones NTS^{PPG} du NTS). En plus de renforcer la libération d'insuline par les cellules β pancréatiques de manière dépendante du glucose, le GLP-1 remplit des fonctions non incrétines supplémentaires, telles que la répression de la sécrétion de glucagon, l'inhibition de la motilité gastrique et l'amélioration de la satiété (Pizarroso et al., 2021). Le GLP-1 agit par l'intermédiaire d'un unique récepteur couplé à une protéine G, le GLP-1R, largement exprimé dans plusieurs organes périphériques, les afférences vagales ainsi que dans le SNC (pour revue voir Knudsen & Lau, 2019). Le GLP-1 est particulièrement étudié car plusieurs agonistes à action prolongée du GLP-1R ont été approuvés pour le traitement du diabète de type 2. Parmi ces derniers, le liraglutide et le sémaglutide ont aussi été approuvé pour la gestion chronique du poids chez des patients souffrant d'obésité (Kakouri et al., 2021). La protéine GLP-1R est présente sur l'intégralité de l'axe rostrocaudal du cerveau des rongeurs, avec les niveaux les plus élevés d'expression dans les OCV, y compris l'AP et l'éminence médiane, ainsi que dans les noyaux adjacents, notamment l'ARC et le NTS (Farkas et al., 2021; Gabery et al., 2020; Jensen et al., 2018). Néanmoins, les études récentes indiquent que le CVD et non l'HYP est la principale aire cérébrale sensible au GLP-1 et directement contactée par des agonistes des GLP-1R administrés par voie périphérique pour engager des circuits anorexigènes en aval. Notamment, une étude de Gabery et al. (2020) a montré, grâce à une cartographie en trois dimensions en microscopie à feuille de lumière, que le sémaglutide fluorescent, après administration périphérique, atteint principalement le TCc et l'HYPmb. La cartographie de l'accessibilité au sémaglutide concordait avec celle de l'immunohistochimie (IHC) du GLP-1R, principalement localisée dans l'HYPmb et le TCc. Toutefois, le marquage c-Fos, utilisé comme traceur de l'activation neuronale induite par le sémaglutide, ne coïncidait pas toujours avec les zones de diffusion du sémaglutide, suggérant l'implication de relais neuronaux locaux. L'immunoréactivité de c-Fos était notamment observée dans des zones spécifiques comme l'AP, le NTS, et le DMNX, s'étendant à des structures supplémentaires telles que le PBN et ses projections. Ce décalage entre la distribution du marquage c-Fos et l'accessibilité au sémaglutide fluorescent suggère que certaines régions activées par le traitement au sémaglutide peuvent ne pas être directement accessibles au médicament, mais peuvent répondre *via* des circuits neuronaux interconnectés.

Une autre difficulté dans la compréhension de l'intégration par le CVD est que diverses voies de signalisation intracellulaires convergent au sein des neurones individuels. Plusieurs voies de signalisation, essentielles à la détection des nutriments, à la régulation des réserves énergétiques et au maintien de l'équilibre énergétique global, ont été identifiées dans le NTS. Parmi elles, on trouve la voie ERK/MAPK (*Extracellular signal-Regulated Kinase / Mitogen-Activated Protein Kinase* ; Berthoud et al., 2006; Filippi et al., 2014), la voie AMPK (*Protéine kinase AMP-dépendante ;* Mandal & Briski, 2019), ou encore la voie mTOR (*Mechanistic Target of Rapamycin* ; Zhang et al., 2013). Ces voies ne fonctionnent pas de manière indépendante, mais sont interconnectées et peuvent s'influencer mutuellement au sein des mêmes populations neuronales. Par exemple, la signalisation de la leptine *via* les récepteurs LepR dans le NTS pourrait potentialiser les effets satiétogènes de la CCK (Emond et al., 2001), tandis que la voie des mélanocortines pourrait

converger avec celle de la CCK dans les neurones du NTS (Berthoud et al., 2006). De plus, l'antagonisme des récepteurs MC4R dans le NTS a été rapporté comme médiateur des effets satiétogènes de la CCK (Fan et al., 2004) et de la signalisation leptinergique dans le CVD, et l'HYP (Skibicka & Grill, 2009; Zheng et al., 2010). La synergie ou l'antagonisme de plusieurs signaux agissant sur le CVD a été décrite comme jouant un rôle clé dans l'inhibition de la PA (Babic et al., 2009; Berthoud et al., 2006; Lutz, 2013). De plus, les entrées vers le CVD sont elles-mêmes modulées par l'intégration préalable de ces signaux. Par exemple, l'interaction des signaux métaboliques périphériques peut se produire au sein des ganglions nodaux, induisant une plasticité des afférences vagales (Heldsinger et al., 2011).

I.2.3.2.3 - Réponses du CVD pour inhiber la prise alimentaire

La convergence des signaux au niveau du CVD, et en particulier au niveau du NTS et de l'AP, permet de traiter de multiples informations relatives à la PA: nutriments ingérés, caractéristiques du bolus alimentaire, ainsi que les signaux visant à prévenir l'ingestion de substances nocives. L'intégration de ces signaux peut être reproduite expérimentalement grâce à des manipulations excitatrices des neurones du CVD, notamment *via* des approches de chémogénétique ou d'optogénétique. Comme mentionné précédemment, la plupart de ces manipulations entraînent une suppression de la PA, confirmant ainsi le rôle central du CVD dans le contrôle du rassasiement (Holt, 2022). Cependant, les circuits neuraux sous-jacents et les réponses nécessaires à la mise en place du rassasiement et de la satiété ne sont pas encore entièrement élucidés.

Smith (1996) a proposé que le comportement alimentaire est régulé par deux grands types de mécanismes : directs et indirects.

Les mécanismes directs sont associés au contrôle de la taille des repas et aux réponses à des situations d'urgence telles que l'ingestion de substances potentiellement toxiques ou l'hypoglycémie induite par l'insuline (Ritter et al., 2011). Ces fonctions sont conservées chez les animaux décérébrés et impliqueraient des circuits du TCc influencés par les projections descendantes, les actions directes des hormones de satiété sur les circuits du CVD (principalement le NTS et l'AP) et/ou les afférences vagales (**Figure 20**, **21**). Elles impliquent notamment des rétroactions négatives générées lors des repas par le tractus gastro-intestinal, qui inhibent l'alimentation et mettent fin au repas (Levin et al., 2011). Ainsi, une vagotomie, qui interrompt l'action du CVD *via* le nerf vague, ne modifie ni la PA globale ni le poids corporel, mais augmente la taille des repas (compensée par une diminution de leur fréquence ; Koren & Holmes, 2006; Schwartz et al., 1999).

Pour illustrer la spécificité de certaines populations neuronales du CVD, Zhan et ses collaborateurs (2013) ont comparé les fonctions des neurones POMC de l'ARC (ARC^{POMC}) et du NTS (NTS^{POMC}) en activant indépendamment ces deux populations neuronales par une approche DREADD (*Designer Receptor Exclusively Activated by Designer Drugs*, activation chémogénétique). Ils ont constaté que, contrairement aux neurones ARC^{POMC} qui induisent une anorexie prolongée lorsqu'ils font l'objet d'une activation chronique, les NTS^{POMC} réduisaient la PA de manière transitoire, dans les deux heures suivant le protocole d'activation, et en réponse à des signaux physiologiques distincts de ceux de l'ARC (voir aussi Wang et al., 2015). Les auteurs ont suggéré que ces neurones n'ont pas de fonction clé dans l'homéostasie énergétique puisque leur destruction n'altère ni le poids corporel ni le métabolisme du glucose mais qu'ils sont spécialisés dans un contrôle direct du rassasiement.

Par ailleurs, ces mécanismes directs font du CVD une région critique pour médier les réponses aux ingestions nocives et potentiellement toxiques. En effet, le CVD joue un rôle clé dans le contrôle des réflexes nauséeux et émétiques, notamment grâce à l'AP parfois qualifiée de zone gâchette chimioréceptrice.

Par opposition, les mécanismes indirects mobilisent des circuits neuronaux plus larges, dont ceux de l'hypothalamus (Cheng et al., 2022; Grill & Hayes, 2012) et participent à des ajustements plus fins de l'appétit et à la régulation de la PA sur le long terme, afin de contribuer aux sensations

de faim et de satiété. Ces mécanismes pourraient en partie être attribuables aux circuits neuronaux reliant le CVD au noyau parabrachial, à l'hypothalamus et à l'amygdale étendue Dans ce contexte, l'influence des projections ascendantes du CVD vers les régions rostrales du SNC commence à être mieux établie pour son rôle essentiel dans la régulation de l'appétit (**Figure 22**).

❒ Anorexie aversive et non aversive

La capacité du CVD à traiter les informations alimentaires et celles liées à l'ingestion de substances toxiques a parfois conduit à l'hypothèse que les circuits neuraux du CVD étaient impliqués à la fois dans la nausée et dans la réduction de la PA. Dans ce modèle, la nausée résulterait de l'hyperstimulation des circuits qui répondent aux nutriments et aux hormones de rassasiement pour supprimer la PA. Ainsi, le CVD inhiberait la PA *via* des circuits aversifs (Chaudhri et al., 2006). Cette hypothèse est cohérente avec l'observation que la suralimentation peut provoquer des nausées, un malaise, voire des vomissements (Deutsch & Gonzalez, 1978), mais elle reste difficile à tester chez des modèles rongeurs qui répondent différemment aux stimuli émétiques et qui ne peuvent pas vomir (Sanger et al., 2011). Le lien étroit entre l'anorexie et la nausée est aussi observable à travers les effets de certains agonistes des récepteurs GLP-1. Utilisés dans le traitement de l'obésité pour leurs effets hypophagiques, ils ont pour effet secondaire de provoquer des nausées (Trapp & Brierley, 2022). Les mécanismes sous-jacents de cet effet restent encore inconnus, mais ils pourraient impliquer la détection de ces agonistes par l'AP, bien connue pour générer des comportements émétiques lorsqu'elle détecte des substances toxiques ou nocives dans le sang (Wang & Borison, 1950; Zhang et al., 2021). L'AP initie des réflexes vago-vagaux par des projections vers le NTS, qui reçoit également des signaux émétiques *via* les afférences vagales et les capillaires fenestrés de l'AP (Zhong et al., 2021). En réponse, le NTS agit sur le DMNX pour contrôler les contractions du tractus digestif supérieur. Il a été proposé que les récepteurs GLP-1 présents dans l'AP ne sont activés que lorsque les niveaux circulants de GLP-1 atteignent des niveaux anormalement élevés, comme cela pourrait se produire après une suralimentation extrême, provoquant ainsi la sensation de nausée (Trapp & Brierley, 2022). Ces neurones de l'AP exprimant GLP-1R expriment également GFRAL (Ludwig, Cheng, et al., 2021), un récepteur activé par le GDF15, une cytokine produite dans divers tissus en réponse à l'inflammation, aux infections et à certains traitements chimiques comme la chimiothérapie. En plus de réduire l'appétit, l'activation du complexe GFRAL/GDF15 dans l'AP est également associée à l'apparition de nausées et, dans certains cas, de vomissements (Mullican et al., 2017; Tsai et al., 2013).

Cependant, à des doses plus physiologiques, y compris en post-prandial, le GLP-1 stimule principalement les afférences vagales, tandis que son action centrale dépend de la production de GLP-1 par les NTS^{PPG}, en raison de sa courte demi-vie et de sa faible pénétrance dans le SNC (Trapp & Brierley, 2022). Les NTS^{PPG} sont activés par des agents émétiques, tels que le chlorure de lithium (LiCl ; Rinaman, 1999) ou le lipopolysaccharide (LPS ; Rinaman, 1999b), mais leur activation chémo/optogénétique chez la souris n'est pas associée à de l'aversion (Brierley et al., 2021; Gaykema et al., 2017). Kinzig et al. (2003) ont montré qu'une injection de GLP-1 dans l'amygdale centrale, mais pas dans le PVN, provoquait une aversion gustative conditionnée. Ainsi, les projections des NTS^{PPG} vers l'amygdale centrale, mais pas vers le PVN, pourraient être responsables de la diminution aversive de la PA (**Figure 22**). D'autres projections du CVD ont été rapportées pour avoir une fonction similaire, en particulier les projections ascendantes du CVD vers le noyau parabrachial latéral (lPBN, **Figure 22**). Le lPBN est impliqué à la fois dans le comportement alimentaire et les réponses aversives. Son rôle dans les réponses aversives semble principalement impliquer ses populations neuronales exprimant le peptide lié au gène de la calcitonine (PBN^{CGRP}; Campos et al., 2016; Carter et al., 2015; Smith et al., 2023). Plusieurs populations de neurones du NTS envoient des projections au PBN^{CGRP}, notamment la majorité des NTS^{TH} (Roman et al., 2016) et des neurones NTS^{CCK} récemment associés à la suppression aversive de la PA par leur action sur les PBN^{CGRP} (Cheng, Gonzalez, et al., 2020).

Plus récemment, plusieurs populations neuronales du CVD ont été associées à une réduction de la PA sans induire d'aversion (**Figure 22**), à l'image des projections des NTS^{PPG} vers les

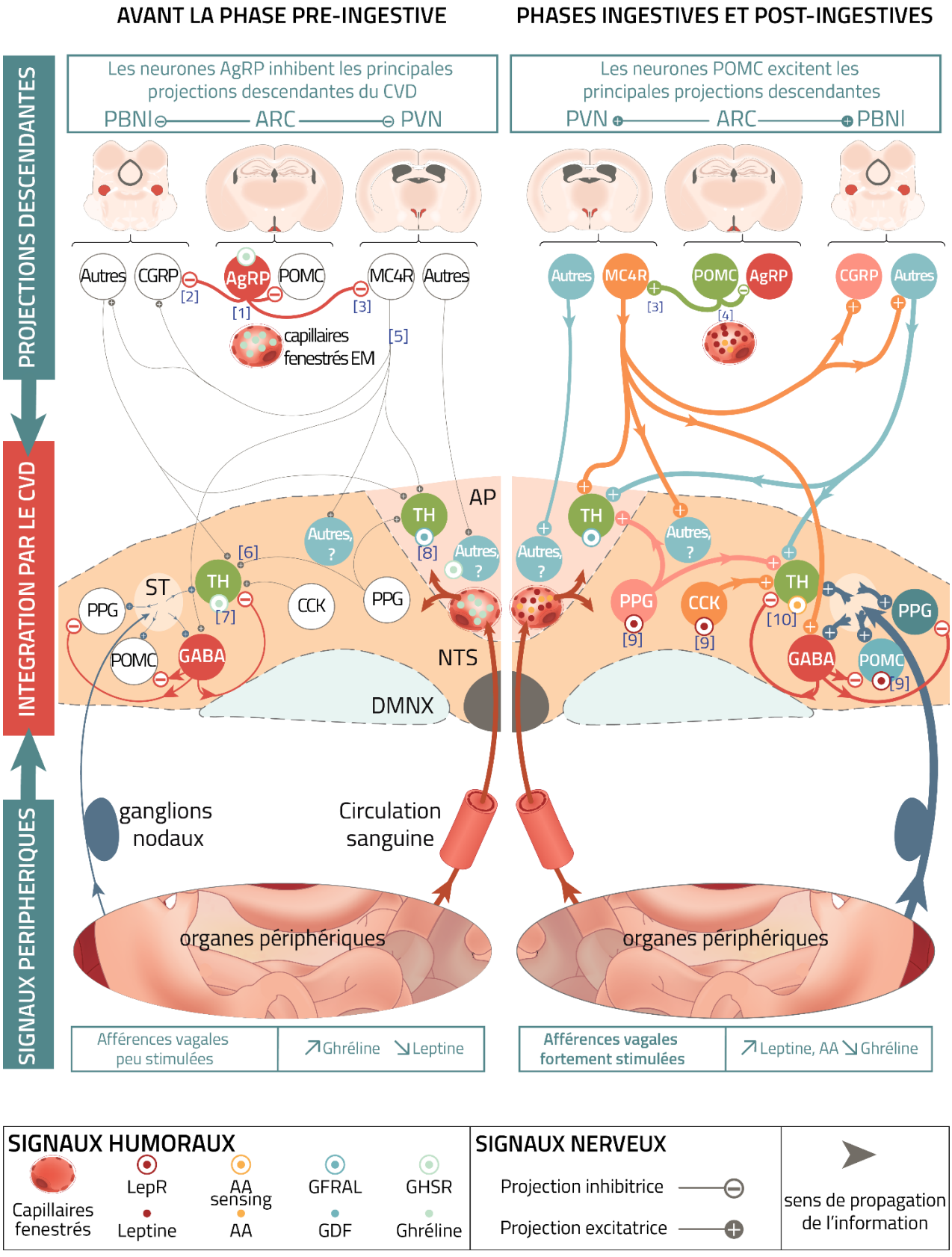


FIGURE 22 : PROJECTIONS ASCENDANTES DU CVD PARTICIPANT AU CONTRÔLE DE LA PRISE ALIMENTAIRE

Après l'intégration des signaux nécessaires au contrôle du comportement alimentaire, notamment les informations liées aux nutriments ingérés, à la composition du bol alimentaire, ainsi qu'aux signaux préventifs contre l'ingestion de substances nocives (schématisés dans la

populations de neurones PVN^{CRH} (Liu et al., 2017) ou d'autres populations du PVN (Acuna-Goycolea & van den Pol, 2004; Cork et al., 2015). Parmi ces populations, les neurones excitateurs AP^{CalcR} influencent la PA via des projections vers le NTS et le PBN (Zhang et al., 2021), les neurones NTS^{CCK} agissent via des projections vers des neurones du PVN exprimant les récepteurs MC4R (D'Agostino et al., 2016), et les neurones NTS^{CalcR} exercent leur action sur des populations du PBN n'exprimant pas le CGRP (Cheng, Gonzalez, et al., 2020). Cela suggère que des circuits distincts du CVD sont impliqués dans l'hypophagie aversive et dans l'hypophagie non aversive. En parallèle, deux populations neuronales du NTS (qui pourraient n'en être qu'une) ont récemment été identifiées pour leurs fonctions orexigènes, impliquant des projections ascendantes vers l'ARC : l'une exprimant le NPY et l'adrénaline (Chen et al., 2020), et l'autre étant TH^{+} et projetant vers les ARC^{AgRP} pour augmenter la PA (Aklan et al., 2020).

FIGURE 22 SUITE.

Figure 21), les circuits neuronaux locaux du NTS et de l'AP sont activés. Les différentes populations neuronales du CVD sont représentées par des cercles colorés dans le schéma, et sont identifiées en fonction des principaux récepteurs et neurotransmetteurs qu'elles expriment. Ces populations modulent le comportement alimentaire de deux façons distinctes : 1) en influençant directement l'activité des neurones cholinergiques du DMNX (ChAT, rose), ce qui module les efférences vagales, un contrôle « *top-down* », et 2) *via* des projections ascendantes vers les régions rostrales, un contrôle « *bottom-up* ». Les lignes pleines illustrent les connexions neuronales au sein du CVD ainsi que les projections ascendantes du CVD vers les structures centrales, ces connexions étant soit excitatrices (+), soit inhibitrices (-). Dans la partie supérieure du schéma, les principales cibles des projections du CVD sont représentées, notamment le noyau parabrachial latéral (PBN), le noyau arqué de l'hypothalamus (ARC), l'amygdale centrale (CeA) et le noyau paraventriculaire (PVN), ainsi que les interconnexions majeures entre ces régions durant les phases digestives et post-digestives.
Les circuits du NTS et de l'AP peuvent déclencher deux types de réponses distinctes.
Une anorexie aversive (panel de gauche) : les circuits anorexigènes aversifs, en partie associés à l'activation des neurones exprimant les récepteurs du GLP-1 présents dans l'AP et le NTS, induisent une stimulation des neurones cholinergiques du DMNX (ChAT), activant ainsi les efférences vagales qui contrôlent les contractions du tractus digestif supérieur. La production centrale de GLP-1 est assurée par les neurones PPG du NTS (NTS$^{PPG)}$, et ces neurones, ainsi que ceux exprimant les récepteurs GLP-1 dans le NTS et l'AP (NTS$^{GLP\text{-}1R}$ et AP$^{GLP\text{-}1R}$), et les neurones NTS^{CCK} envoient des projections ascendantes vers l'amygdale centrale (CeA) et les neurones du PBN exprimant le peptide relié au gène de la calcitonine (PBN^{CGRP}), impliquées dans la médiation des réponses aversives.
Une (a)norexie non aversive (panel de droite) : Certains neurones impliqués dans l'anorexie aversive, comme les NTS^{PPG}, participent également à des circuits non aversifs. Ces circuits recrutent des populations supplémentaires de neurones du NTS et de l'AP, notamment ceux exprimant CalcR. Les circuits non aversifs impliquent des projections ascendantes vers des cibles distinctes, telles que les populations non-CGRP du PBN latéral (PBN$^{non\text{-}CGRP}$), le PVN (PVN), et l'ARC et permettent ainsi de réguler la prise alimentaire sur des périodes prolongées sans déclencher de réponses aversives.
Abréviations :**AgRP** : Neurones exprimant *l'Agouti-related peptide*, et le NPY ; **AP** : Area postrema ; **ARC** : Noyau arqué de l'hypothalamus ; **CalcR** : Récepteur de la calcitonine ; **CCK** : Cholécystokinine ; **CeA** : Amygdale centrale ; **CGRP** : neurones du PBN exprimant le Calcitonin gene-related peptide (aversif); **ChAT** : Choline acetyltransferase (neurones cholinergiques) ; **CVD** : CVD ; **DMNX** : Noyau moteur dorsal du nerf vague ; **GABA** : Acide gamma-aminobutyrique ; **GFRAL** : GDNF family receptor alpha-like ; **GLP-1** : Glucagon-like peptide-1 ; **LepR** : Récepteur de la leptine ; **NPY** : Neuropeptide Y ; **NTS** : Noyau du tractus solitaire ; **PBNnon-CGRP** : populations non aversives du PBN latéral (n'exprimant pas le Calcitonin gene-related peptide); **PPG** : Preproglucagon ; **PVN** : Noyau paraventriculaire ; **TH** : Tyrosine hydroxylase (neurones catécholaminergiques).

Ces découvertes récentes montrent que, en plus de participer au rassasiement et au contrôle de la PA à l'échelle d'un repas, le CVD joue également un rôle dans la régulation de la PA sur de plus longues périodes. Les travaux de Cheng et al. (2020,2021) ont marqué un tournant dans la compréhension du rôle du CVD dans ces régulations à long terme. Leurs résultats suggèrent que les neurones du NTS exprimant la prolactin releasing hormone (Prlh) et CalcR (NTS^{CalcR}) jouent un rôle protecteur contre l'obésité en régulant la PA et le poids corporel sur de longues périodes. La suppression de ces neurones entraîne une prise de poids rapide chez des souris soumises à un régime riche en graisses, effet qui est atténué lorsque Prlh est réintroduit dans le NTS. Dans une revue récente (Cheng et al., 2022), les auteurs suggèrent que ce sont les populations impliquées dans la modulation non aversive de l'alimentation qui pourraient médier des effets à plus long terme sur le comportement alimentaire. Ils opposent ces « nouvelles populations du NTS » à celles projetant vers les PBN^{CGRP}, dont la suppression augmente la taille des repas sans affecter les paramètres à long terme de l'équilibre énergétique (Campos et al., 2016). L'identification des projections inhibitrices du NTS^{GABA} vers les ARC^{NPY} qui réduisent la PA conforte cette hypothèse (Morentin et al., 2024)

I.2.3.3 - CVD et homéostasie du glucose

Au-delà de la fonction vitale du maintien de niveaux de glucose adéquats, le glucose informe également sur l'état des réserves énergétiques de l'organisme, contribuant ainsi à l'ajustement de la balance énergétique, comme le suggère l'hypothèse glucostatique de Jean Mayer (1953). L'hyperglycémie entraîne une diminution de la consommation alimentaire et une augmentation de la sécrétion d'insuline pour réguler la glycémie à la baisse. En revanche, l'hypoglycémie (ou glucopénie : faible taux de glucose sanguin pouvant être induit par une injection d'insuline) et la glucoprivation (manque de glucose au niveau cellulaire, même si les niveaux sanguins de glucose sont normaux) déclenchent une série de réponses contre-régulatrices visant à augmenter le glucose sanguin et à garantir un apport énergétique adéquat pour l'ensemble des cellules du corps (Cryer, 1997). La glucoprivation est souvent utilisée dans des contextes expérimentaux pour étudier les réponses physiologiques et comportementales au manque de glucose. Elle peut être induite par l'injection d'analogues glucidiques, tels que le 5-thioglucose ou le 2-deoxy-D-glucose (2DG), qui bloquent le métabolisme du glucose. Les contre-régulations (**Figure 23**) impliquent une augmentation de la PA, de la motilité gastrique mais aussi la sécrétion de glucagon et la réduction de la sécrétion d'insuline pancréatique, favorisant la mobilisation des réserves de glycogène des muscles et du foie (Rizza et al., 1979) et la sécrétion de corticostérone. En parallèle, l'activation du système nerveux autonome, en particulier du système nerveux sympathique, stimule les glandes surrénales pour libérer de l'adrénaline (Rizza et al., 1979). À leur tour, l'adrénaline et la corticostérone inhibent la sécrétion d'insuline et favorisent la glycogénolyse et la lipolyse, assurant un apport énergétique suffisant tout en conservant un apport suffisant de glucose pour le SNC (Sprague & Arbeláez, 2011).

Ces réponses d'urgence aux challenges glycémiques, et le maintien d'une glycémie stable en dehors de ces grandes fluctuations, sont permises par la présence de cellules capables de détecter des variations des niveaux de glucose appelées glucodétecteurs. Ces cellules ajustent leur activité en réponse aux variations du métabolisme glucidique ou à des changements dans les niveaux de nucléotides adényliques (adénosine, AMP, ATP ; López-Gambero et al., (2019) pour revue). Les glucodétecteurs se trouvent en périphérie dans le système vasculaire, notamment dans le système porte hépatique et les afférences vagales, ainsi que dans le SNC, notamment dans l'HYPmb et le TCc, y compris le CVD (Frizzell et al., 1993; Hevener et al., 2000; Oomura & Yoshimatsu, 1984). Au sein du SNC, certains neurones glucodétecteurs ont une activité proportionnelle à la concentration extracellulaire en glucose, appelés « glucose-excited neurons » (GE), tandis que d'autres ont une activité inversement proportionnelle à cette concentration et sont qualifiés de « glucose-inhibited neurons » (GI) (Dallaporta et al., 2010; López-Gambero et al., 2019). Seuls certains de ces glucodétecteurs participent aux rétroactions associées à de fortes variations de la concentration en glucose ou de la glycémie (Levin, 2002; S. Ritter, 2017).

L'hypothalamus est la région la plus étudiée dans le contrôle de l'homéostasie du glucose. Plusieurs noyaux hypothalamiques contiennent des glucodétecteurs qui modulent les niveaux

systémiques de glucose et sa mise en réserve (Lam et al., 2005; López-Gambero et al., 2019), sous l'influence de nombreux signaux métaboliques dont l'insuline (Obici et al., 2002), la leptine (Morton & Schwartz, 2011), le GLP-1 (Sandoval et al., 2008), la ghréline (Stark et al., 2015) et des nutriments circulants (Yoon & Diano, 2021).

Le CVD joue également un rôle crucial dans l'homéostasie du glucose et en particulier lors des challenges glycémiques, dont la glucopénie et la glucoprivation. Des cellules sensibles à une variation de la glycémie ou au glucose sont retrouvées dans le NTS (Mizuno & Oomura, 1984), dans le DMNX (Mussa & Verberne, 2013) et dans l'AP (Funahashi & Adachi, 1993). Grâce à leur proximité avec le 4V et les capillaires fenestrés de l'AP, ces glucodétecteurs du CVD peuvent détecter précocement des variations de la glycémie avant même une modification des taux de glucose dans le liquide interstitiel (Dunn-Meynell et al., 2009). L'activation ciblée de plusieurs populations au sein du NTS a été rapportée pour modifier l'homéostasie du glucose, c'est le cas des neurones GLP-1, dont l'activation chémogénétique réduit la production de glucose et favorise la tolérance au glucose (Shi et al., 2017) et des neurones ocytocinergiques (Llewellyn-Smith et al., 2011). Par ailleurs, les neurones GABAergiques et catécholaminergiques du CVD semblent être centraux dans le contrôle de l'homéostasie du glucose.

I.2.3.3.1 - Réponse à l'hypoglycémie

Comme mentionné en **section I.2.3.1**, p 83, le DMNX intervient dans la réponse à l'hypoglycémie *via* ses fonctions modulatrices des sécrétions pancréatiques et hépatiques. Jimenez-Gonzalez et al. (2022) ont d'ailleurs montré que l'ablation sélective des neurones cholinergiques innervant le pancréas perturbait la réponse à la glucopénie induite par le 2DG. Cette ablation n'avait pas de conséquence sur les niveaux basaux de glucose. Cela suggère que les efférences vagales activant les neurones parasympathiques postganglionnaires du pancréas (principalement issues du DMNX) jouent un rôle dans les rétroactions mises en œuvre lors d'un déficit en glucose. Par ailleurs, le DMNX semble également impliqué, via des réflexes vago-vagaux, dans l'augmentation de la motilité gastrique observée en situation de carence glucidique, favorisant ainsi l'absorption de nutriments lors du repas suivant (Rogers et al., 1995).

Le NTS et l'AP sont eux aussi impliqués dans la réponse aux défis glycémiques puisque des lésions ciblées dans ces régions altèrent, voire abolissent, l'augmentation de la PA induite par la glucoprivation (Bird et al., 1983 ; Contreras, Fox, et al., 1982 ; Ritter & Taylor, 1990). De plus, ces structures présentent une induction de l'expression de c-Fos après l'administration systémique de 2DG (Briski & Marshall, 2000 ; Ritter et al., 1998), témoignant d'une activation neuronale. Des études récentes commencent à clarifier le rôle de l'AP dans ces réponses, encore mal connu à ce jour (Li et al., 2023; Sjøberg et al., 2023; Zhang et al., 2023), mais ce point ne sera pas développé ici. Dans ce paragraphe, ainsi que dans la **Figure 23**, l'accent est mis sur certaines populations neuronales majeures du NTS dont les fonctions dans le contrôle de l'homéostasie glucidique sont actuellement les mieux documentées.

Le NTS contient une sous-population de neurones GABAergiques inhibés par le glucose (neurones GI) qui projettent vers le DMNX. Ces projections, susceptibles d'augmenter la glycémie, pourraient contribuer aux réponses contre-régulatrices face à l'hypoglycémie(Boychuk, Gyarmati, et al., 2015 ; Boychuk et al., 2019 ; Lamy et al., 2014). Par ailleurs, plusieurs populations neuronales du CVD appartiennent à un réseau catécholaminergique impliqué de manière essentielle dans les réponses à la glucoprivation (Ritter et al., 2019). Ce circuit, centré sur la médulla ventromédiale et le NTS, stimule la PA, la motilité gastrique ainsi que la production de corticostérone et d'adrénaline (Buller et al., 2001; Hermann et al., 2014; Rogers et al., 2003; Yettefti et al., 1995). Au sein du NTS, les populations neuronales adrénergiques (population C2 exprimant la PNMT) et noradrénergiques (population A2, marquée par la tyrosine hydroxylase ou la Dopamine β-hydroxylase (DbH)) ont été particulièrement étudiées pour leur implication dans la réponse à un déficit en glucose. Toutefois, leur activation semble indirecte, probablement médiée par les astrocytes voisins (voir **section I.3.2.4**, p 121) ou par les afférences vagales (Roberts et al., 2017).

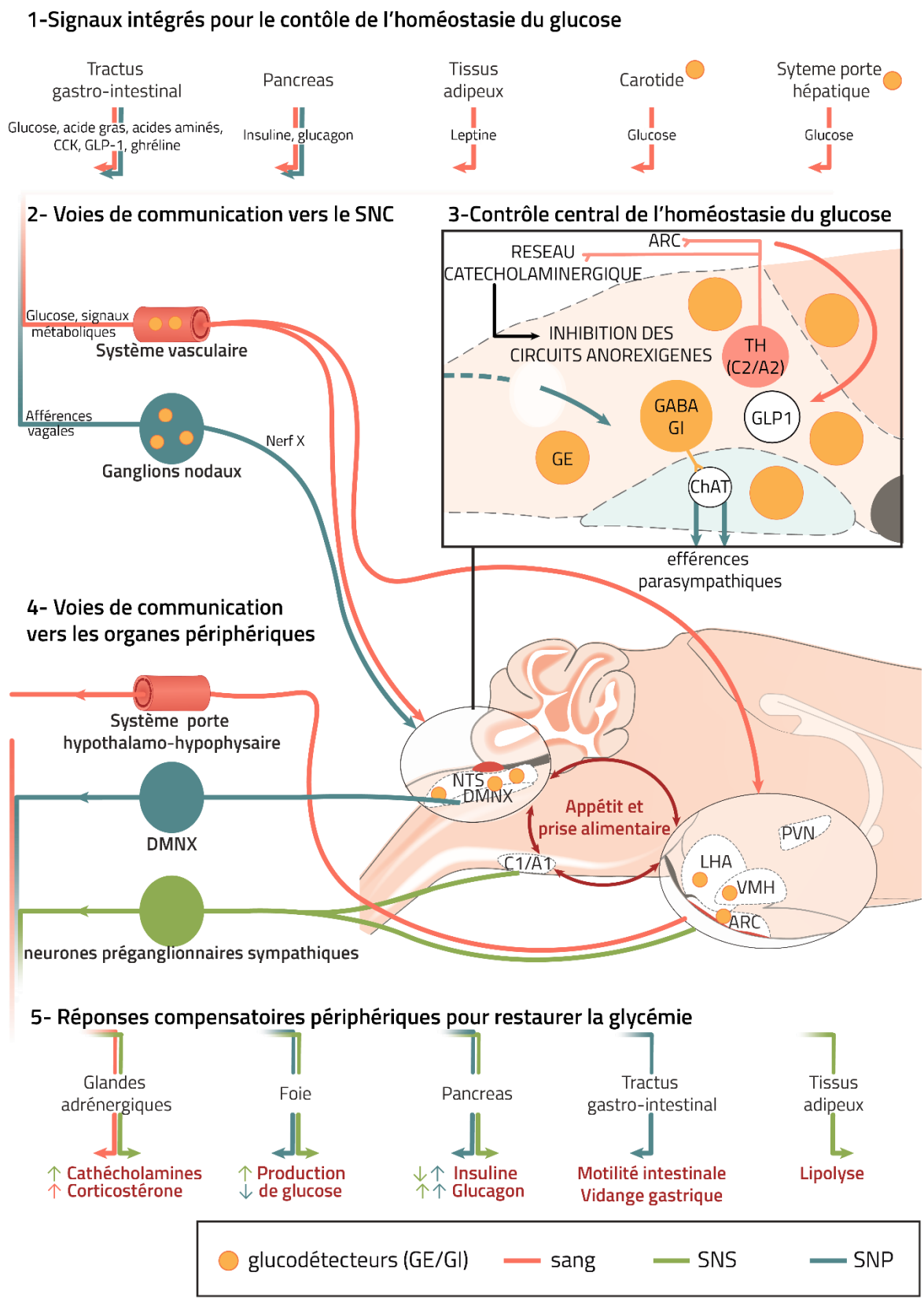


FIGURE 23 : SCHÉMATISATION DES CONTRIBUTIONS DU CVD DANS LE CONTRÔLE DE L'HOMÉOSTASIE DU GLUCOSE

Les niveaux de glucose sont détectés par des glucodétecteurs (schématisés par les cercles jaunes) situés dans le système vasculaire, les afférences vagales et le SNC, notamment au niveau de l'hypothalamus et du CVD. Le glucose est également détecté indirectement par des

Les travaux de l'équipe de Ritter, centrés sur les mécanismes glucorégulateurs impliquant les neurones catécholaminergiques de la moelle allongée, suggèrent que le NTS et la médulla ventromédiale pourraient avoir des rôles complémentaires dans la réponse à la glucoprivation. Ils proposent que la privation de glucose inhibe l'activité des neurones du NTS, réduisant ainsi les signaux de satiété ou d'aversion et favorisant une hyperphagie compensatoire destinée à restaurer la glycémie (Ritter, 2017 ; voir aussi **section I.2.3.2**, p 86). Cependant, des données plus récentes présentées par Aklan et al., (2020), indiquent que les neurones TH⁺ du NTS peuvent aussi agir directement sur l'ARC pour induire la faim hypoglycémique, via un circuit indépendant de celui de la satiété. Cette faim hypoglycémique est absente chez les animaux décérébrés, qui ne présentent pas de réponse appétitive en cas de privation de glucose (Flynn & Grill, 1983). Par ailleurs, la destruction des projections rostrales des neurones catécholaminergiques du NTS altère les réponses glucorégulatrices (Ritter et al., 2001). Bien que ces projections vers le PVN soient bien connues pour leur implication dans le contrôle de la PA (**section I.2.3.2.3**, p 92 ; Murphy et al., 2023; Sato et al., 2021), leur rôle précis dans la régulation de l'homéostasie glucidique reste encore à élucider.

FIGURE 22 SUITE.

signaux métaboliques provenant de divers organes périphériques comme le tractus gastro-intestinal, le pancréas et les tissus adipeux. Les signaux métaboliques incluent le glucose, les acides gras, les AA, la CCK, le GLP-1 et la ghréline, l'insuline et le glucagon, et la leptine. Ces informations sont acheminées vers le SNC par plusieurs voies, soit par la circulation sanguine, soit par les afférences vagales qui transportent des signaux depuis le tractus gastro-intestinal vers le nerf vague, avec passage par les ganglions nodaux.
Le contrôle central de l'homéostasie du glucose est assuré par une intégration complexe des informations reçues et la modulation de plusieurs réseaux neuronaux. Au sein du CVD, plusieurs types de neurones jouent un rôle important dans cette régulation, notamment les neurones GABAergiques inhibés par le glucose (GABA GI), les neurones produisant le GLP-1 et les neurones catécholaminergiques des groupes A2/C2 (TH). Ces derniers recrutent à la fois les réseaux catécholaminergiques responsables du contrôle de la glycémie, impliquant notamment les populations catécholaminergiques A1/C1 de la medulla ventromédiale et envoient des projections vers les neurones AgRP de l'hypothalamus pour induire une faim hypoglycémique. Des interactions bidirectionnelles entre le CVD et les régions rostrales du SNC, y compris l'hypothalamus, permettent d'inhiber les réseaux neuronaux responsables de la satiété, comme décrits dans la **Figure 21**, **22**, **14**

Pour réguler l'homéostasie du glucose, le SNC contrôle à la hausse ou à la baisse le comportement alimentaire et communique avec les organes périphériques en utilisant le système nerveux autonome (sympathique et parasympathique) ainsi que l'axe hypothalamo-hypophysaire. Le système porte hypothalamo-hypophysaire est impliqué dans la modulation des réponses hormonales par l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien. Le DMNX coordonne les réponses parasympathiques. Cette communication avec les organes périphériques permet de mobiliser ou de protéger les réserves endogènes de glucose et de maintenir une glycémie stable.
Abréviations : **AgRP** : *Agouti-related peptide* ; **AP** : Area Postrema ; **ARC** : Noyau arqué de l'hypothalamus ; **A2/C2** : Populations de neurones catécholaminergiques du CVD ; **A1/C1** : Populations de neurones catécholaminergiques dans la région ventrolatérale du bulbe ; **CCK** : Cholécystokinine ; **ChAT** : Choline Acetyltransferase (neurones cholinergiques) ; **DMNX** : Noyau moteur dorsal du vague ; **GABA** : Acide γ-aminobutyrique ; **GE** : Glucodétecteur (Glucose Excited) ; **GI** : Glucose Inhibited ; **GLP-1** : Glucagon-like Peptide-1 ; **LHA** : Aire hypothalamique latérale ; **NTS** : Noyau du tractus solitaire ; **PVN** : Noyau paraventriculaire de l'hypothalamus ; **SNS** : Système nerveux sympathique ; **SNP** : Système nerveux parasympathique ; **TH** : Tyrosine Hydroxylase (neurones catécholaminergiques) ; **VMH** : Noyau ventromédial de l'hypothalamus.

I.2.3.3.2 - Réponse à l'hyperglycémie

Les contributions du CVD au contrôle de l'homéostasie du glucose ne se limitent pas aux contre-régulations induites par une privation de glucose. Le CVD répond également à l'hyperglycémie, une réponse altérée lors du diabète et du syndrome métabolique (Sherling et al., 2017). Une augmentation aiguë des niveaux de glucose est détectée par l'AP (Li et al., 2023) et le NTS (Li et al., 2021),.ce qui diminue la production hépatique de glucose. De plus, l'hyperglycémie chronique induit des changements neuroplastiques dans les circuits neuronaux du CVD, ce qui pourrait soit contribuer à l'hyperglycémie diabétique, soit en atténuer les conséquences.

L'équipe de Smith a particulièrement contribué à la compréhension de la plasticité du CVD en cas d'hyperglycémie (Bach et al., 2015; Blake & Smith, 2014; Boychuk, Halmos, et al., 2015; Boychuk & Smith, 2016; Halmos et al., 2015; Wean & Smith, 2021; Zsombok et al., 2011). Par exemple, la population de neurones glucodétecteurs NTS^{GABA} qui projette vers le DMNX, et qui pourrait participer aux contre-régulations induites par une privation de glucose, pourrait également contribuer à l'hyperglycémie diabétique (Boychuk et al., 2019; Boychuk, Gyarmati, et al., 2015). Les auteurs suggèrent qu'une signalisation GABAergique accrue dans le CVD pourrait maintenir l'hyperglycémie diabétique (Boychuk et al., 2017, 2019; Boychuk, Halmos, et al., 2015). L'activation chémogénétique de ces neurones augmente la glycémie systémique et une augmentation de l'activité de ces neurones pourrait également se produire en cas de diabète, qui s'accompagne d'une augmentation de la signalisation GABAergique centrale.

Tout comme celles de l'hypothalamus, les réponses du CVD aux augmentations de la glycémie pourraient impliquer l'intégration de signaux de satiété, principalement l'insuline (Filippi et al., 2012, 2017), ainsi que des signaux métaboliques périphériques tels que la CCK (Roberts et al., 2017), le glucagon (LaPierre et al., 2015) et le GLP-1 (Hayes et al., 2008, 2009), ainsi que la détection des nutriments (Li et al., 2021, 2023).

Le CVD pourrait également être influencé par les afférences vagales pour moduler l'homéostasie du glucose (Browning, 2015; Wan & Browning, 2008). Enfin, la contribution du CVD pourrait se produire en aval de l'hypothalamus, le CVD agissant comme un relais pour réduire la production hépatique de glucose et la sécrétion de Lipoprotéines de Très Basse Densité et de triglycérides (Blouet et al., 2009; Lam et al., 2011; Yue et al., 2015).

Conclusion du Chapitre 2

Le CVD joue un rôle central et multifacette dans le contrôle de la balance énergétique, couvrant l'ensemble de ses composantes majeures : la prise alimentaire, la digestion, la régulation des réserves énergétiques et l'homéostasie du glucose. En tant que carrefour intégrant les signaux périphériques et centraux, le CVD est essentiel non seulement pour initier et exécuter le comportement alimentaire, mais aussi pour déclencher le rassasiement et mettre fin aux repas. De plus, il peut initier des réponses alimentaires immédiates et réactives en cas de situations d'urgence, notamment lors d'une pénurie de glucose. Grâce à ses connexions avec les organes périphériques *via* le nerf vague, le CVD influence directement les processus digestifs en modulant la motilité gastro-intestinale, les sécrétions pancréatiques et hépatiques, ainsi que l'absorption des nutriments. Par ailleurs, il intègre des signaux humoraux à travers l'AP et reçoit des projections descendantes de régions plus rostrales du SNC, dont l'hypothalamus. Cette intégration complexe permet au CVD de participer à des ajustements fins et anticipés de la prise alimentaire, modulant la prise alimentaire en fonction de l'état énergétique de l'organisme et de ses expériences antérieures, notamment *via* des mécanismes aversifs ou non-aversifs.

Les réseaux neuronaux du CVD impliqués dans le contrôle du comportement alimentaire se chevauchent avec ceux nécessaires au maintien de l'homéostasie glucidique, créant une synergie qui permet d'ajuster le comportement alimentaire en réponse aux variations des réserves énergétiques. Ce lien étroit entre homéostasie énergétique et glucidique a été discuté dans plusieurs revues récentes qui placent notamment les neurones AgRP de l'ARC au cœur de ces processus (Brüning & Fenselau, 2023; Myers et al., 2021). Les connexions récemment établies entre le NTS et cette population hypothalamique renforcent sa position de hub dans les neurocircuits contrôlant l'homéostasie énergétique systémique (Aklan et al., 2020; J. Chen et al., 2020; Morentin et al., 2024).

Cependant, les réseaux neuronaux du CVD ne sont pas encore entièrement caractérisés, en partie à cause du manque de connaissances sur les différentes populations neuronales résidant au sein du CVD. Ces dernières années, les études de séquençage ont contribué à combler cette lacune en identifiant des populations neuronales distinctes ou chevauchantes participant à des circuits clés (Cheng et al., 2022; Dowsett et al., 2021; Ludwig, Cheng, et al., 2021; Zhang et al., 2021). Par exemple, les neurones catécholaminergiques du NTS ont été mieux caractérisés en sous-populations. Certaines sont impliquées dans des circuits aversifs connectés aux neurones CGRP du PBN, tandis que d'autres participent à des circuits impliqués dans le maintien de l'homéostasie glucidique ou à des circuits anorexigènes non aversifs.

Malgré ces avancées et la mise en évidence de réseaux spécifiques, beaucoup reste à comprendre sur la capacité du CVD à intégrer les signaux métaboliques. Cette complexité est en partie due au fait que les peptides impliqués dans la régulation de l'appétit sont exprimés à la fois par des cellules intestinales ou d'autres organes périphériques, par des neurones sensoriels du nerf vague, ainsi qu'au sein du CVD lui-même. Déterminer l'origine exacte de chaque signal est donc un défi, même si le travail de cartographie et de caractérisation des afférences vagales et de leurs connexions avec le CVD réduit progressivement cet écart (Bassi et al., 2022; Kupari et al., 2019; Ran et al., 2022). Il en va de même pour les neuropeptides libérés au sein du SNC, et l'intégration des afférences centrales convergeant vers le NTS qui commencent à être mieux caractérisées, permettant des manipulations chémogénétiques ou optogénétiques de populations cellulaires ciblées (Gasparini et al., 2020; Holt, 2022; Shi et al., 2021).

Dans le domaine de l'intégration des signaux métaboliques, les cellules gliales émergent également comme des acteurs centraux. Il est désormais reconnu que ces cellules participent non seulement au maintien de l'homéostasie du SNC, mais aussi au contrôle systémique de la balance énergétique (Douglass et al., 2017; García-Cáceres et al., 2019; Nampoothiri et al., 2022). La recherche s'est principalement concentrée sur l'hypothalamus, où les cellules gliales détectent des signaux métaboliques et nutritionnels, modulent leur transport aux interfaces périphérie/SNC et libèrent des molécules impactant le comportement alimentaire. Récemment, la diversité des

cellules gliales au sein du CVD et leurs interactions étroites avec les réseaux neuronaux ont été mises en évidence, permettant de formuler de nouvelles hypothèses pour mieux comprendre les capacités d'intégration et la modulation des réseaux neuronaux en fonction du statut nutritionnel de l'organisme.

I.3 - Cellules gliales du CVD et balance énergétique

I.3.1 - Généralité sur les cellules gliales et diversité gliale du CVD

I.3.1.1 - Aperçu historique de l'Étude des cellules gliales et fonctions générales

Depuis le XIXe siècle, la compréhension des cellules gliales a considérablement évolué (Fan & Agid, 2018; Kettenmann & Verkhratsky, 2008; Somjen, 1988). Initialement décrites comme des éléments inertes du tissu conjonctif du SNC et nommées *neuroglie* par Rudolf Virchow en 1856, elles ont ensuite été morphologiquement caractérisées par des histologistes illustres tels que Golgi (Saceleanu et al., 2022) et Ramón y Cajal (García-Marín et al., 2007). Cette description détaillée repose en grande partie sur le développement de la méthode de coloration dite de « Golgi », mise au point en 1872, qui a révolutionné la visualisation des cellules neurales en révélant leur diversité morphologique et la complexité de leurs formes (Golgi, 1873). Dans les années 1910, l'évolution des techniques de coloration a permis de décrire les trois principales familles de cellules gliales du SNC : les astrocytes, les oligodendrocytes et les cellules microgliales, ainsi que leurs changements morphologiques lors de pathologies nerveuses (del Río-Hortega Bereciartu, 2020). À cette époque, l'étude physiologique des neurones était déjà bien avancée et le terme de synapse avait été introduit (Sotelo, 2020). Cependant, pendant des décennies, les cellules gliales ont été considérées comme passives dans la transmission de l'information. Leur activité n'était pas mise en évidence par les premières techniques d'enregistrements électrophysiologiques, qui favorisaient l'étude des neurones en raison de leur activité électrique manifeste.

Ce n'est que depuis les années 1950 que la physiologie des cellules gliales a commencé à être étudiée, soit plus de 100 ans après celle des neurones (Kettenmann & Verkhratsky, 2008). Cette avancée a été facilitée en partie par les enregistrements intracellulaires qui ont révélé le potentiel de repos des cellules gliales et leur capacité à se dépolariser (Hild et al., 1958), ainsi qu'avec le développement du microscope électronique, qui a permis d'observer que les membranes des astrocytes entouraient les synapses, suggérant ainsi leur implication dans la neurotransmission (Peters & Palay, 1965). Depuis les années 1980, la recherche sur les cellules gliales a connu une croissance exponentielle, notamment grâce au développement des sondes calciques fluorescentes, telles que Fura-2 (Grynkiewicz et al., 1985) et Fluo-3 (Minta et al., 1989) et de l'imagerie calcique (Bindocci et al., 2017) qui ont permis de mesurer, avec une grande précision spatio-temporelle, les variations de la concentration intracellulaire en calcium ($[Ca^{2+}]_i$). Ces approches ont révélé que les cellules gliales, en particulier les astrocytes, répondent activement à la libération de neurotransmetteurs en augmentant leur $[Ca^{2+}]$i et ont mis en évidence la capacité des astrocytes à communiquer entre eux *via* des ondes calciques propagées à travers les jonctions communicantes (JC), un phénomène désormais considéré comme essentiel pour la coordination des réseaux gliaux (Scemes & Giaume, 2006, **Figure 33**).

Ainsi, de nombreuses fonctions de ces cellules ont été mises en évidence, que ce soit dans des conditions physiologiques ou pathologiques (Allen & Barres, 2009; Barres, 2008; Bilal et al., 2023).

I.3.1.2 - Grandes fonctions des cellules gliales du SNC

Depuis les dessins originaux de Ramón y Cajal (1897), les progrès des techniques d'imagerie ont permis de visualiser plus précisément la morphologie et l'organisation des cellules gliales, en particulier des astrocytes. L'expression de la GFP (*Green Fluorescent Protein*) spécifiquement dans les astrocytes GFAP$^+$ a révélé l'étendue de leur arborisation et leur organisation en domaines spatiaux (Bushong et al., 2002; Halassa et al., 2007; Oberheim et al., 2008; Ogata & Kosaka, 2002). Dans cette organisation bien définie, chaque astrocyte occupe un territoire distinct, avec un chevauchement minimal de ses prolongements avec ceux de ses voisins, lui permettant d'interagir avec un ensemble spécifique de synapses. Le groupe de Haydon a estimé qu'un seul astrocyte cortical enveloppe entre 4 et 8 somas et contacte 300 à 600 dendrites neuronales (Halassa et al., 2007). Ainsi, des îlots de synapses sont sous l'influence unique d'un domaine astrocytaire. La perte de l'organisation des domaines spatiaux astrocytaires a été associée à la gliose, à l'excitation récurrente dans des modèles murins épileptiques et au vieillissement (Parpura et al., 2012; Verkhratsky et al., 2019). Cette organisation anatomique des astrocytes en domaines spatiaux a conduit à définir des domaines fonctionnels. Le premier domaine fonctionnel est constitué des multiples prolongements qui enveloppent les terminaisons neuronales présynaptiques et postsynaptiques (Araque et al., 1999). Un autre domaine fonctionnel est l'unité neuro-vasculaire, où des prolongements astrocytaires spécialisés, appelés pieds astrocytaires, contactent les capillaires sanguins. Ces pieds astrocytaires contribuent au maintien de la barrière hémato-encéphalique et fournissent aux neurones les nutriments essentiels circulant dans le sang (Abbott et al., 2010).

Depuis plusieurs décennies, les propriétés fonctionnelles des cellules gliales ont été largement étudiées en raison de leur association étroite avec les neurones et les synapses. Ces cellules jouent un rôle essentiel dans la formation et le développement du SNC, notamment à travers la formation des synapses et la connectivité des réseaux neuronaux (Allen & Lyons, 2018; Frost & Schafer, 2016; Ullian et al., 2001). Dans le cerveau adulte, les cellules gliales contribuent au maintien de l'homéostasie cérébrale et à la signalisation nerveuse par le biais de la capture des neurotransmetteurs et la modulation de la transmission synaptique (Oliveira & Araque, 2022; Sancho et al., 2021; Verkhratsky et al., 2019, **Figure 24**). Leur grande adaptabilité leur permet également de participer activement à la plasticité cérébrale (Ben Achour & Pascual, 2010; Perez-Alvarez et al., 2014; Philips & Rothstein, 2017; Tomassy et al., 2014). Par ailleurs, dans des conditions pathologiques, les astrocytes et les microglies peuvent subir des remodelages morphologiques et fonctionnels pour soutenir la réparation des tissus, limiter les dommages et protéger le SNC contre les agents pathogènes (Barres, 2008; Milligan & Watkins, 2009; Sheeler et al., 2020).

I.3.1.2.1 - Homéostasie ionique et clairance des neurotransmetteurs

L'une des premières propriétés des astrocytes étudiées par Orkand et al. (1966) est la clairance du K^+ par les astrocytes et leur couplage *via* les JC. La régulation des concentrations extracellulaires de K^+ ($[K^+]e$) est critique pour le maintien du potentiel membranaire de repos des neurones et des astrocytes, et est normalement maintenue autour de 3 mM (millimolaire). L'activité neuronale provoque des augmentations locales de la $[K^+]e$, pouvant atteindre 10 à 12 mM lors d'une activité intense. La clairance du K^+ de l'espace extracellulaire est donc essentielle pour maintenir l'homéostasie cérébrale et limiter l'hyperexcitabilité neuronale. Dans son travail pionnier, Hertz (1965) a suggéré que cette recapture du K^+ est réalisée par la Na^+ /K^+-ATPase, une enzyme transmembranaire agissant comme une pompe électrogène qui transporte trois ions Na^+ en échange de deux ions K^+. Cette enzyme est essentielle pour maintenir les gradients de Na^+ et de K^+ à travers les membranes neuronales et astrocytaires (Crambert & Geering, 2003). La redistribution du K^+ au sein du SNC est ensuite assurée par la présence de réseaux cellulaires où des échanges directs d'ions, de seconds messagers et de petits métabolites sont possibles entre cellules adjacentes (Brightman & Reese, 1969). C'est une caractéristique notable des astrocytes qui sont connectés par les JC et forment ainsi un syncytium (Giaume et al., 2010). Bien que des JC existent également entre les astrocytes et les oligodendrocytes, cette communication est moins étendue (Nagy & Rash, 2000; Wasseff & Scherer, 2011). En revanche, les cellules microgliales ne

semblent pas connectées entre elles par des JC, mais peuvent en former avec d'autres types cellulaires (Caruso et al., 2023; Talaverón et al., 2015). L'importance de ces JC et des hémicanaux formés de connexines sera détaillée dans le **chapitre I.3.3.2**, p135. Les JC astrocytaires jouent un rôle crucial dans le transfert et la redistribution des ions K^+, minimisant la dépolarisation du potentiel membranaire suite aux augmentations de $[K^+]e$ et maintenant la force motrice pour le pompage du K^+ (Ma et al., 2016).

Les astrocytes jouent un rôle essentiel dans la clairance et le recyclage des neurotransmetteurs (Andersen et al., 2023; Mahmoud et al., 2019). En régulant les concentrations extracellulaires d'ions (notamment le K^+) et de neurotransmetteurs, dont le glutamate après une activité neuronale intense, ils préviennent l'excitotoxicité et assurent un fonctionnement neuronal optimal (Kofuji & Newman, 2004; Simard & Nedergaard, 2004; Wallraff et al., 2006, **Figure 32**). Cette capacité de clairance des neurotransmetteurs est en partie rendue possible grâce à l'expression de transporteurs spécifiques par les astrocytes. Ils expriment notamment deux types majeurs de transporteurs d'acides aminés excitateurs (*Excitatory Amino Acid Transporter*, EAAT ; voir Beart & O'Shea, 2007; Berger & Hediger, 2000; Šerý et al., 2015). Le premier, EAAT1, également appelé transporteur glutamate-aspartate (*Glutamate–Aspartate Transporter*, GLAST), est particulièrement exprimé dans les organes circumventriculaires (OCV) et spécifique de certaines régions du SNC, comme le cervelet. Le second, EAAT2, aussi connu sous le nom de transporteur de glutamate 1 (*Glutamate Transporter 1*, GLT-1), est le transporteur le plus abondamment exprimé dans les astrocytes du parenchyme cérébral. Une fois le glutamate capté par les astrocytes, il est rapidement transformé en glutamine par la glutamine synthétase astrocytaire. Cette glutamine est ensuite transportée vers les neurones, où elle est à nouveau métabolisée en glutamate. Ce cycle de clairance et de recyclage est appelé la navette glutamate-glutamine (Erecińska & Silver, 1990). La capacité des astrocytes à éliminer et recycler les neurotransmetteurs est fortement influencée par l'activité neuronale et s'intensifie pendant et après des périodes de forte activité. Cela contribue à maintenir l'homéostasie synaptique et à soutenir une transmission neuronale efficace.

I.3.1.2.2 - Métabolisme énergétique du SNC.

Les astrocytes jouent un rôle crucial dans la régulation du métabolisme énergétique du cerveau, indispensable au maintien des fonctions cérébrales. Les besoins énergétiques du cerveau sont extrêmement élevés, représentant en permanence 20 à 25 % de la consommation énergétique totale de l'organisme. Pour soutenir les exigences énergétiques élevées des neurones, les astrocytes adaptent leur métabolisme afin de leur fournir les substrats énergétiques nécessaires (Pellerin & Magistretti, 1994).

L'approvisionnement énergétique du cerveau est étroitement lié à l'activité neuronale, et les astrocytes occupent une position centrale dans ce couplage neuroénergétique. L'absorption du glutamate par les astrocytes, puis l'entrée de glucose *via* les transporteurs de glucose (*Glucose Transporter*, GLUT) exprimés sur leurs pieds astrocytaires en contact avec les vaisseaux sanguins, déclenche la glycolyse aérobie astrocytaire. Ce processus conduit à la production de lactate, qui est ensuite libéré par les astrocytes. Ce mécanisme, connu sous le nom de navette lactate astrocyte-neurone (*astrocyte-neuron lactate shuttle*, ANLS ; voir Pellerin & Magistretti (1994)), permet aux neurones d'utiliser le lactate comme substrat énergétique rapide. Dans les neurones, le lactate est converti en pyruvate, servant ainsi de substrat énergétique rapidement utilisable. De plus, le lactate agit comme un signal modulateur de l'excitabilité neuronale, de l'homéostasie et de l'expression des gènes liés à la survie et à la plasticité synaptique (Magistretti & Allaman, 2018; Pellerin & Magistretti, 1994). Cependant, ce modèle, selon lequel les astrocytes fournissent les substrats énergétiques essentiels à la physiologie neuronale, demeure sujet à controverse (Bak & Walls, 2018).

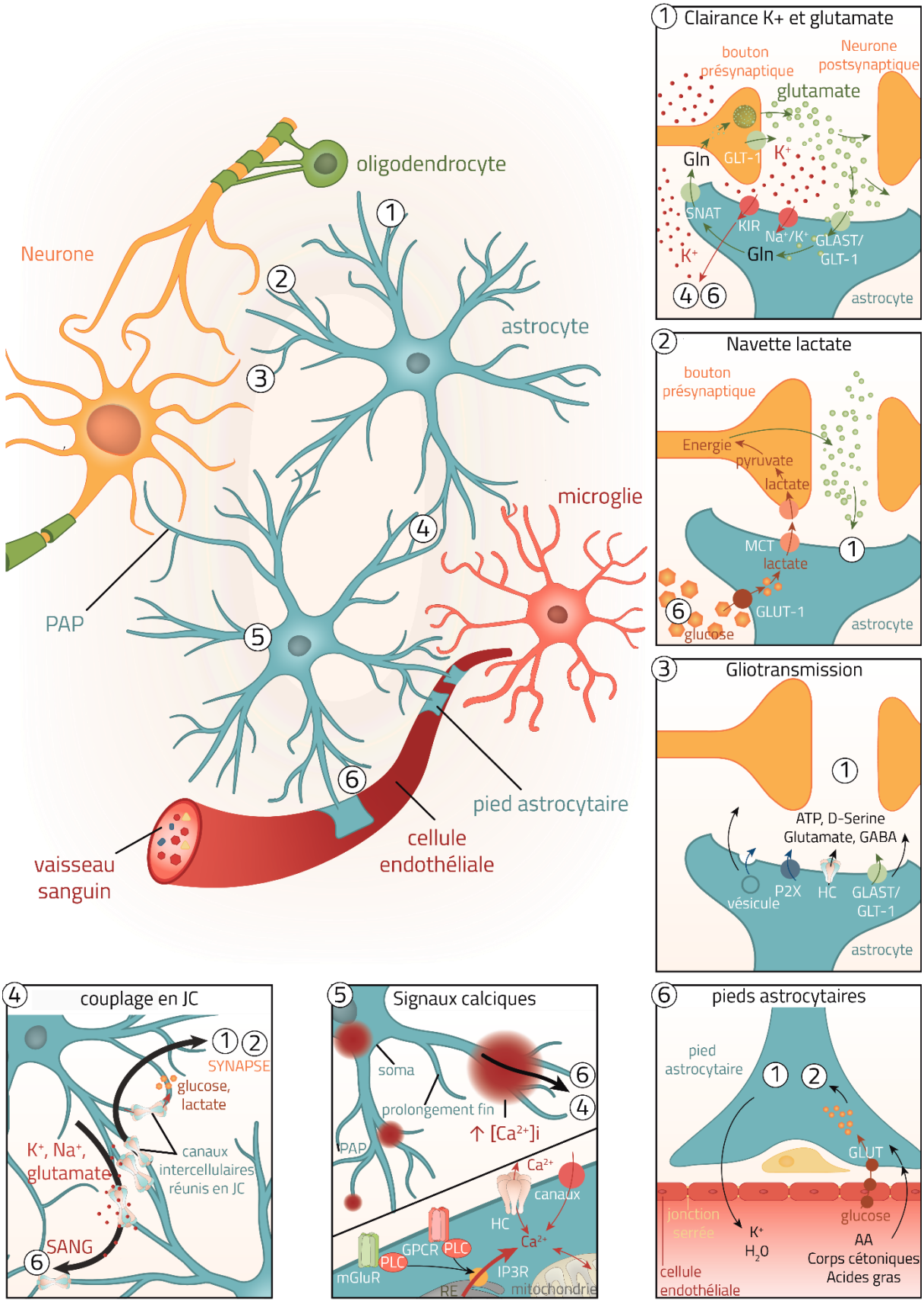


FIGURE 24 : RÉSUMÉ DES GRANDES FONCTIONS DES CELLULES GLIALES

Illustration modifiée de Linnerbauer & Rothhammer, (2020) de l'interaction entre les cellules gliales et neuronales au sein du SNC et des principales fonctions des astrocytes, les cellules gliales les plus abondantes.

FIGURE 24 SUITE.

① Les astrocytes jouent un rôle crucial dans la régulation de l'excitabilité neuronale par la capture du glutamate et des ions K^+ après l'activité synaptique. Le glutamate est transporté dans les astrocytes *via* les transporteurs GLT-1 et GLAST, tandis que les ions K^+ sont éliminés par des canaux spécifiques (KIR). Dans les astrocytes, le glutamate est transformé en glutamine par la glutamine synthétase (GS), puis restitué aux neurones *via* les transporteurs d'acides aminés neutres couplés au sodium (SNAT) pour la synthèse de neurotransmetteurs.
② Les astrocytes, et dans une moindre mesure les oligodendrocytes, métabolisent le glucose provenant des vaisseaux sanguins en lactate, qui est ensuite fourni aux neurones comme source d'énergie. Ce processus repose sur les transporteurs GLUT1 pour l'entrée du glucose et les transporteurs de monocarboxylates (MCT) pour la diffusion du lactate vers les neurones.
③ Les astrocytes répondent à une multitude de signaux, dont la signalisation neuronale, en augmentant leur concentration intracellulaire de calcium. Cette réponse astrocytaire est déclenchée en partie en aval de récepteurs métabotropiques (mGluR) ou de récepteurs couplés à des protéines G associés à la phospholipase C (PLC), entraînant la libération de calcium à partir du réticulum endoplasmique (RE). Ces signaux calciques varient en amplitude et en durée, et peuvent se propager dans les prolongements fins des astrocytes, au sein des réseaux pangliaux et jusqu'aux pieds astrocytaires.
④ Les astrocytes sont interconnectés *via* des jonctions communicantes, formant un réseau fonctionnel qui permet le passage des ions (K^+, Na^+) et de petites molécules comme le glucose et le lactate. Ce couplage astrocytaire est essentiel pour la régulation homéostatique du milieu extracellulaire et pour le soutien métabolique des neurones.
⑤ Les astrocytes entourent les vaisseaux sanguins avec leurs pieds astrocytaires, régulant ainsi les échanges entre le sang et le SNC. Ils maintiennent la barrière hémato-encéphalique et contrôlent le transport des nutriments (notamment le glucose, les acides aminés, les corps cétoniques) et l'élimination des déchets, tout en modulant les concentrations de K^+ et d'eau dans l'environnement cérébral.
⑥ Les astrocytes libèrent des neurotransmetteurs comme l'ATP, le glutamate, le GABA et la D-sérine, modulant ainsi la transmission synaptique et l'activité des réseaux pangliaux. Cette libération implique plusieurs mécanismes, notamment une libération vésiculaire, l'activation de récepteurs aux purines (P2X), des transporteurs de glutamate ou des hémicanaux permettant le passage de petites molécules. Ces mécanismes font des astrocytes des partenaires actifs dans la communication neuronale et cérébrale.
Abréviations : **AA** : Acides Aminés ; **ATP** : Adénosine Triphosphate ; **Ca^{2+}** : Calcium ;**↑ $[Ca^{2+}]i$** : augmentation de la concentration intracellulaire en calcium ; **GLAST** : Glutamate Aspartate Transporter (transporteur de glutamate et d'aspartate) aussi appelé EAAT1 : Excitatory Amino Acid Transporter 1 (transporteur des AA) ; **GLT-1** : Glutamate Transporter-1 (transporteur de glutamate, spécifique aux astrocytes) aussi appelé EAAT2 : Excitatory Amino Acid Transporter 2 (transporteur des AA) ; **Gln** : Glutamine (précurseur du glutamate) ; **GLUT** : Glucose Transporter (transporteur de glucose) ; **GLUT1** : Glucose Transporter 1 (transporteur de glucose appartenant à la famille des GLUTs (SLC2A)) ; **GPCR** : G Protein-Coupled Receptor (récepteur couplé aux protéines G) ; **HC** : Hémicanal (ou connexons) ; **IP3R** : Inositol 1,4,5-trisphosphate Receptor (récepteur à l'inositol triphosphate, impliqué dans la libération de calcium) ; **JC** : jonctions communicantes, assemblage de connexons formant une structure spécialisée dans la communication intercellulaires ; **K^+** : Potassium ; **KIR** : Potassium Inward Rectifier (canaux rectifiants d'entrée de potassium) ; **MCT** : Monocarboxylate Transporter (transporteur de monocarboxylates, comme le lactate) ; **Na^+** : Sodium (ion essentiel dans la transmission synaptique et la dépolarisation membranaire) ; **mGluR** : récepteurs métabotropiques au glutamate ; **Na^+/K^+** : Na^+/K^+-ATPase ou pompe sodium-potassium ; **P2X** : Récepteur purinergique ionotropique activé par l'ATP ; **PAP** : Prolongements Astrocytaires Périsynaptiques (Perisynaptic Astrocytic Processes) ; **PLC** : Phospholipase C ; **RE** : Réticulum Endoplasmique ; **SNAT** : Sodium-coupled Neutral Amino Acid Transporter (transporteur d'AA neutres couplé au sodium).

I.3.1.2.3 - Excitabilité astrocytaire et production de "vagues calciques"

Au cours des dernières décennies, de nombreuses études ont montré que les astrocytes sont plus que de simples spectateurs dans le dialogue que les neurones entretiennent au niveau de la synapse. En effet, ils se comportent comme des cibles supplémentaires de signaux neuronaux et répondent à la libération synaptique de neurotransmetteurs avec des élévations de la $[Ca^{2+}]_i$ (Pasti et al., 1997; Porter & McCarthy, 1996).

Il est désormais bien établi que les astrocytes sont sensibles à la libération synaptique de divers neurotransmetteurs, tels que le glutamate, le GABA, la noradrénaline et l'acétylcholine, grâce à l'expression de nombreux récepteurs, principalement métabotropiques (Eulenburg & Gomeza, 2010; Gallo & Ghiani, 2000; Verkhratsky & Steinhäuser, 2000). Dans certains cas, la sensibilité astrocytaire met en jeu des transporteurs de neurotransmetteurs ou des récepteurs pour des signaux hormonaux et humoraux (Garcia-Segura et al., 1996; MacDonald et al., 2019; Nampoothiri et al., 2022). En réponse à l'activation de ces récepteurs, les astrocytes présentent des élévations transitoires et souvent répétitives de la $[Ca^{2+}]_i$. Ces élévations sont principalement dues à l'activation des récepteurs des neurotransmetteurs métabotropiques liés à la phospholipase C, à la production d'inositol 1,4,5-trisphosphate (IP3), à l'activation des récepteurs IP3 et à la libération de Ca^{2+} à partir de réserves intracellulaires.

Il est important de noter que l'intensité de l'activité synaptique induit des réponses calciques variées dans les astrocytes. En effet, en réponse à une faible activité synaptique les astrocytes présentent des réponses de faible amplitude qui restent limitées aux prolongements les plus périphériques des astrocytes (Fellin & Carmignoto, 2004). À l'inverse, des épisodes d'activité synaptique élevée induisent des réponses calciques de grande amplitude. Ces signaux calciques, souvent initiés dans les prolongements distaux, généralement en plusieurs sites, se propagent ensuite sous forme d'ondes calcique régénérative vers le soma et les autres prolongements (Fellin & Carmignoto, 2004). De plus, cette onde calcique peut se propager aux astrocytes métaboliquement connectés *via* des JC pour prendre la forme d'une vague calcique (**Figure 33**). Ces vagues permettent aux cellules gliales d'intégrer et de synchroniser une myriade d'informations nerveuses et humorales (Bazargani & Attwell, 2016; Scemes & Giaume, 2006). Les vagues calciques sont la signature des réponses des astrocytes (Bazargani & Attwell, 2016).

Ces variations des niveaux de $[Ca^{2+}]_i$ sont également observées dans les tanycytes (Orellana et al., 2012), les cellules microgliales (Hoffmann et al., 2003; Pan & Garaschuk, 2023), les oligodendrocytes (Butt, 2006) et les polydendrocytes (cellules NG2, les précurseurs des oligodendrocytes, parfois considérées comme une quatrième famille de cellules gliales, Paez & Lyons, 2020).

I.3.1.2.4 - Libération de messagers chimiques

Un tournant majeur dans la recherche sur les cellules gliales a été la découverte que les élévations de la $[Ca^{2+}]_i$ dans les astrocytes contrôlent la libération de messagers chimiques (Gundersen et al., 2015). Ces messagers peuvent conduire à une transmission volumétrique (*volume transmission*) ou câblée (*wiring transmission*). La transmission volumétrique fait référence à la communication par diffusion dans le milieu extracellulaire et le liquide cérébrospinal, contrairement à la transmission câblée qui implique des JC ou la fente synaptique entre deux structures physiquement délimitées (Agnati et al., 2010; Syková & Chvátal, 2000).

Les messagers chimiques libérés par les cellules gliales incluent des neurotransmetteurs classiques comme le glutamate (Barger et al., 2007; Parpura & Haydon, 2000) et le GABA (Yoon & Lee, 2014), des purines (Butt, 2011; Lecca et al., 2012), des facteurs neurotrophiques (Palasz et al., 2023) tels que le *Brain Derived Neurotrophic Factor* (Sasi et al., 2017), des facteurs de couplage métabolique comme le lactate (Magistretti & Allaman, 2018; Philips & Rothstein, 2017) et des cytokines (Hanisch, 2002). Ces molécules peuvent influencer les réseaux gliaux ou moduler la neurotransmission. Le transfert d'information des cellules gliales aux neurones est appelé gliotransmission (Araque et al., 1999; Savtchouk & Volterra, 2018).

Au regard de ces propriétés fonctionnelles (dont certaines sont schématisées en **Figure 24**), les données montrant l'implication des cellules gliales dans des fonctions cognitives et comportementales ne cessent de croître (Dallérac & Rouach, 2016; Pannasch & Rouach, 2013; Santello et al., 2019). Parmi celles-ci on retrouve des fonctions aussi diverses que la mémoire (Bains & Oliet, 2007; Henneberger et al., 2010; Panatier et al., 2006), le cycle veille-sommeil (Bellesi et al., 2015; Frank, 2019), ainsi que leur implication dans divers troubles neurologiques (Giaume et al., 2007; Pekny et al., 2016) et psychiatriques (Almeida et al., 2020; Dietz et al., 2020; O'Leary & Mechawar, 2021). Dans le cadre de ce manuscrit, je limiterai mon propos à la contribution des cellules gliales à la régulation de la balance énergétique, en me concentrant particulièrement sur leur rôle au niveau du CVD.

I.3.1.3 - Diversité des cellules gliales du CVD adulte

L'intérêt pour les cellules gliales du CVD et leurs interactions avec les neurones du TCc est relativement récent. Ce regain d'intérêt s'explique probablement par les avancées dans la compréhension des fonctions gliales dans la régulation du comportement alimentaire, longtemps étudiées dans l'hypothalamus. La suite présente un aperçu de la diversité des cellules gliales identifiées dans le CVD des rongeurs, ainsi que de leur organisation structurale spécifique (voir **Figure 26**).

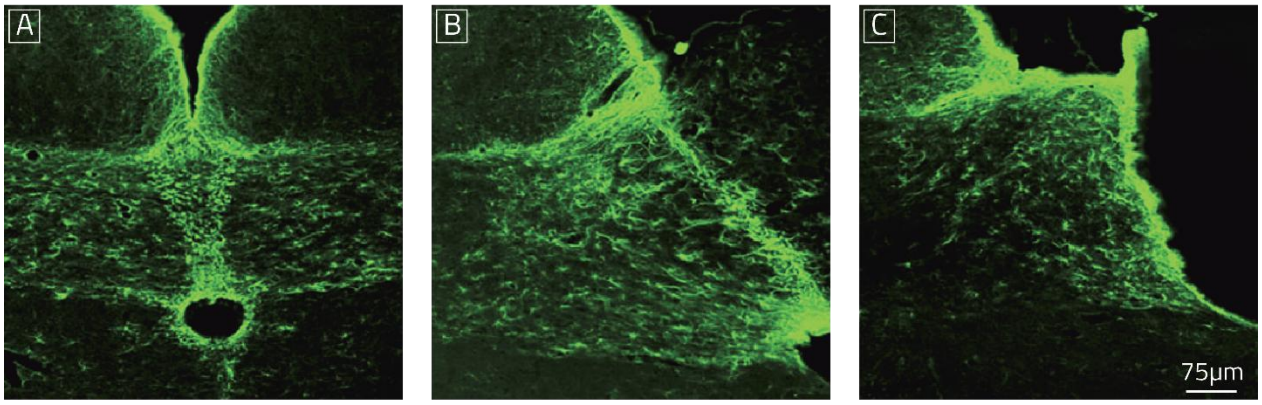
I.3.1.3.1 - Astrocytes

Dans l'étude des interactions neurogliales, les astrocytes occupent une place centrale en raison de leur capacité à répondre à une variété de neurotransmetteurs et à libérer des molécules actives (Durkee & Araque, 2019). Les astrocytes sont en partie caractérisés par la présence de filaments intermédiaires appelés gliofilaments, constitués principalement de la protéine acide fibrillaire gliale (*glial fibrillary acidic protein*, GFAP). La GFAP, presque exclusivement exprimée par les astrocytes, est le marqueur le plus couramment utilisé pour visualiser les astrocytes matures (Bignami et al., 1972). Elle joue un rôle crucial dans le maintien de la structure et de la forme des astrocytes, contribuant à la formation de prolongements cellulaires complexes et ramifiés. Elle est également impliquée dans des fonctions telles que la prolifération, la migration, la myélinisation, la croissance nerveuse et la perméabilité de la BHE (Middeldorp & Hol, 2011). Cependant, la GFAP met en évidence les parties plus épaisses et structurées des astrocytes, sans révéler le volume complet et la complexité morphologique des astrocytes, car elle est absente dans les prolongements les plus fins. Néanmoins, elle permet d'identifier et de comparer la taille des cellules, la longueur et le nombre de prolongements principaux, ainsi que leur distribution dans différentes régions du cerveau, facilitant des analyses comparatives des principales propriétés morphométriques des astrocytes (Tykhomyrov et al., 2016; Zhang et al., 2019)

Le CVD est caractérisé par une forte expression de GFAP particulièrement dans le NTS et le DMNX, en comparaison avec les noyaux environnants du tronc cérébral (Pecchi et al., 2007 et **Figure 25**). En revanche, les cellules exprimant le marqueur GFAP sont clairsemées dans l'AP (Pecchi et al., 2007). La distribution des astrocytes $GFAP^+$ est néanmoins variable au sein du NTS, avec les régions intermédiaires du CVD exprimant plus densément GFAP. Les astrocytes du NTS et du DMNX présentent une morphologie étoilée typique des astrocytes protoplasmiques de la matière grise (Chounlamountry & Kessler, 2011) mais semblent se distinguer des astrocytes protoplasmiques présents dans d'autres régions cérébrales. Dans la matière grise, le marquage GFAP est généralement faible ou absent dans les astrocytes protoplasmiques, ne permettant pas de marquer l'intégralité de la population astrocytaire (Kimelberg, 2004; Walz & Lang, 1998). Dans ces régions, d'autres marqueurs tels que S100 β, une protéine chélatrice des ions Ca^{2+}, permettent de marquer plus largement les astrocytes de la matière grise (Ogata & Kosaka, 2002; Zhang et al., 2019). Au contraire, dans le CVD McDougal et al. (2011) ont montré une co-localisation de 98 % entre les marqueurs S100 β et GFAP, soulignant ainsi leur complémentarité dans cette région.

Comme dans d'autres régions du cerveau, les prolongements astrocytaires sont localisés à proximité des synapses, mais leur organisation présente ici certaines particularités. Chounlamountry & Kessler (2011) ont cherché à mesurer le degré de couverture des synapses

Pecchi et al. (2007)



SheikhBahaei et al. (2018)

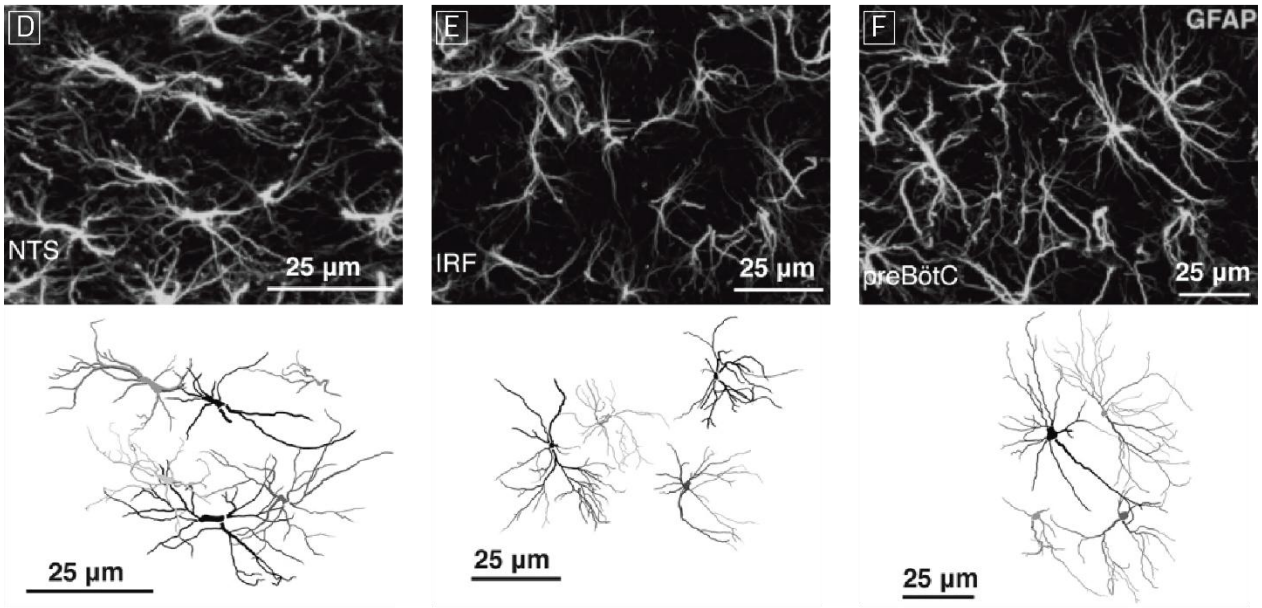


FIGURE 25 : ASTROCYTES GFAP⁺ DANS LE CVD

Les images sont issues de Pecchi et al. (2007) et SheikhBahaei et al. (2018).

Panel du haut : Images confocale montrant le marquage de la GFAP chez le rat adulte dans les différentes subdivisions du CVD : le CVD caudal (A), la région postrémale (B) et la région rostrale (C).

Panel du bas : Images confocales d'astrocytes marqués par la GFAP et reconstruction complète de l'arborisation des prolongements astrocytaires dans plusieurs régions du tronc cérébral caudal : le noyau du tractus solitaire (NTS) (D), la formation réticulaire intermédiaire (IRF) (E), et le complexe préBötzinger (préBötC) (F). Contrairement aux astrocytes des régions adjacentes, ceux du NTS semblent occuper des domaines spatiaux qui se chevauchent.

par les cellules gliales en utilisant l'immunomarquage des membranes astrocytaires (GLT-1) et des analyses en microscopie optique et électronique (voir **Figure 25**). Ils ont observé que la majorité des synapses du NTS étaient recouvertes à moins de 50 % de leur périmètre par les prolongements astrocytaires. Les prolongements périsynaptiques astrocytaires étaient principalement localisés à proximité des synapses simples et moins présents dans les synapses complexes, contrairement à ce qui est observé dans d'autres régions cérébrales (Jellinger, 2003). Néanmoins, la densité des membranes gliales du NTS est environ deux fois plus élevée que celle de l'hippocampe (Lehre & Danbolt, 1998), et les auteurs ont estimé un ratio élevé de 28 μm^2 de membrane astrocytaire par synapse. Ils suggèrent donc que même si la couverture gliale est incomplète dans cette région, la densité astrogliale environnante est largement suffisante pour l'isolement fonctionnel de chaque synapse et le maintien de l'homéostasie ionique et de la clairance des neurotransmetteurs.

Une autre étude de Tashiro & Kawai (2007) utilisant des marqueurs membranaires des astrocytes tels que GLT-1 ou GLAST a été réalisée à plusieurs stades de développement postnatal du rat. Les auteurs ont observé que les prolongements astrocytaires se trouvent à proximité de petits corps cellulaires pouvant appartenir aux neurones, suggérant que les astrocytes pourraient être capables de moduler la transmission synaptique axo-somatique au sein du NTS.

Peu de données précises existent sur les caractéristiques morphologiques de ces astrocytes présents dans le NTS ou le DMNX, notamment en raison de leur densité élevée. Des différences inter-espèces ont été observées, les astrocytes protoplasmiques du NTS et du DMNX étant plus densément empaquetés chez les rats que chez les souris (Pecchi et al., 2007). SheikhBahaei et al. (2018) ont réalisé une première étude sur les propriétés structurelles des astrocytes de différentes régions du TCc chez le rat adulte, en utilisant l'immunomarquage GFAP et une analyse morphométrique comparative. Bien que cette étude n'était pas centrée sur le NTS et que les auteurs aient sélectionné des cellules exprimant la GFAP en dehors des « paquets » très denses d'astrocytes, ils ont révélé que, contrairement aux astrocytes décrits dans d'autres régions du cerveau, les astrocytes du NTS semblent avoir des domaines chevauchants. L'étendue du chevauchement spatial des processus astrocytaires peut avoir des implications sur la fonction de ces cellules et sur la formation des réseaux pan-gliaux.

I.3.1.3.2 - Vagliocytes

Une population supplémentaire d'astrocytes atypiques, appelés vagliocytes, est présente dans le CVD, spécifiquement localisée à l'interface entre le NTS et l'AP (Pecchi et al., 2007). Elle représente un tiers de toutes les cellules de l'AP (Zhang et al., 2021). Leurs corps cellulaires cuboïdes, organisés en monocouche continue, se trouvent dans l'épendyme du quatrième ventricule (4V), formant une crête appelée le *funiculus separens*. Ces cellules possèdent de longs prolongements fins (Pecchi et al., 2007) et de courts prolongements ramifiés (Guillebaud et al., 2017a). Le terme "vagliocytes" a été proposé par notre équipe (Dallaporta et al., 2010), mais elles sont aussi appelées cellules épendymogliales ou tanycyte-like cells en raison de leur ressemblance avec les tanycytes du troisième ventricule (3V) de l'hypothalamus médiobasal (HYPmb). Elles sont caractérisées par une forte expression de la GFAP (**Figure 27**) et expriment des marqueurs communs avec les tanycytes, tels que Wilms tumour 1 (Wt1) (Ludwig, Cheng, et al., 2021), la vimentine, la nestine et DARP32 (Maolood & Meister, 2009). Bien que leur morphologie et certains marqueurs aient été décrits par des analyses histologiques et quelques études transcriptomiques (Dallaporta et al., 2009; Guillebaud et al., 2017a; Ludwig, Cheng, et al., 2021; Zhang et al., 2023), ces cellules restent largement à caractériser, notamment pour déterminer leurs similarités fonctionnelles avec les tanycytes hypothalamiques impliqués dans le comportement alimentaire.

Ces cellules jouent un rôle de barrière de diffusion à la frontière entre l'AP et le NTS. Willis et al. (2007) ont observé la diffusion de fluorescéine sodique (0,3 kDa) et de dextrans fluorescents de différentes tailles, injectés par voie intraveineuse, à travers l'endothélium vasculaire et leur distribution dans l'AP et le NTS. Ils ont observé que les molécules de taille allant jusqu'à 10 kDa peuvent traverser les capillaires fenestrés et être absorbées par les cellules de l'AP. Les molécules plus grandes, comme le dextran de 70 kDa, ne diffusaient pas dans le parenchyme.

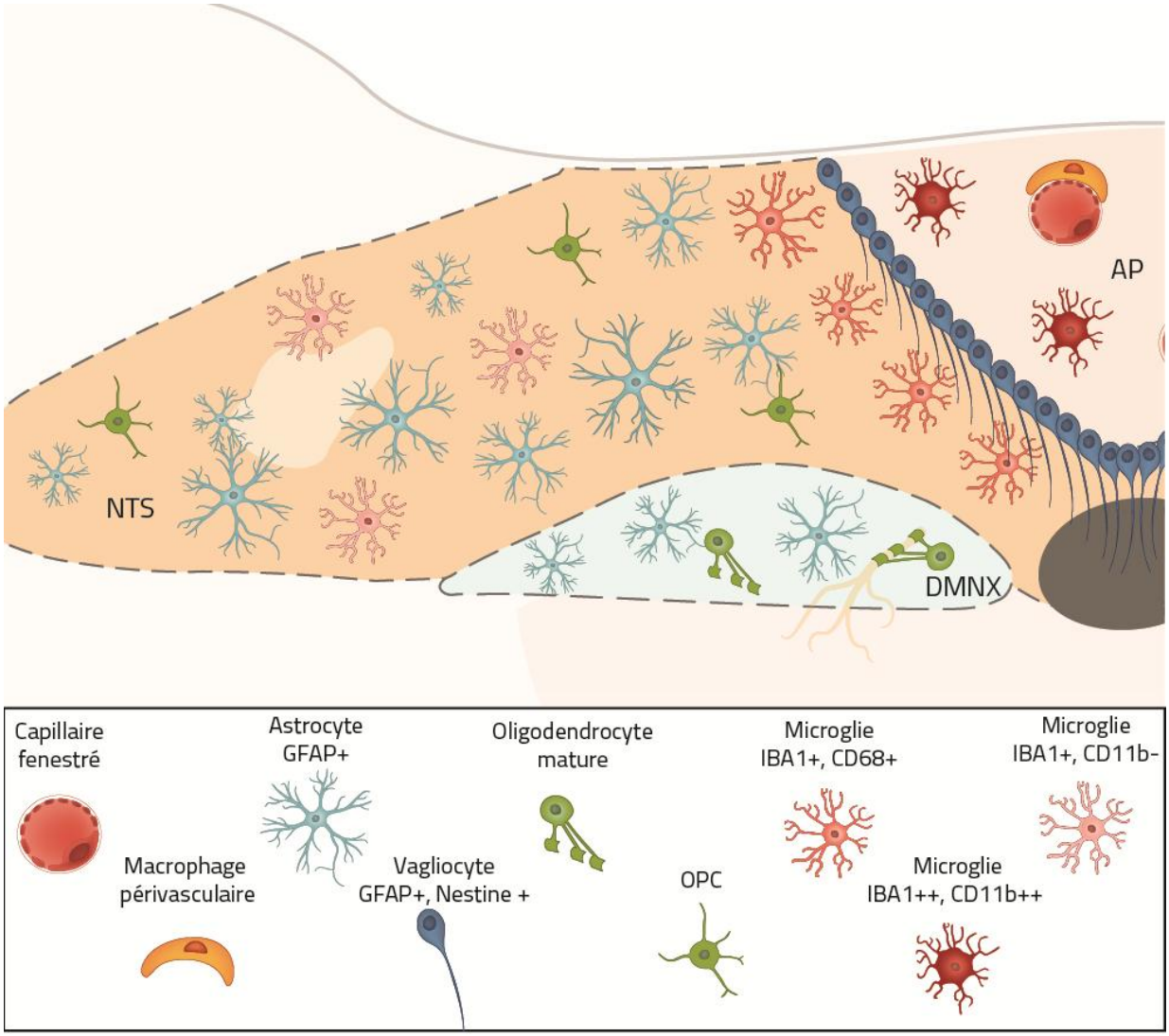


FIGURE 26 : REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DE LA DIVERSITÉ DES POPULATIONS GLIALES PRÉSENTES DANS LE CVD

Les astrocytes GFAP$^+$ sont particulièrement abondants dans le NTS et le DMNX, par rapport aux autres noyaux du tronc cérébral. En revanche, l'AP est pratiquement dépourvue d'astrocytes GFAP$^+$. Une population de cellules aux longs prolongements, GFAP$^+$/nestine$^+$, appelées vagliocytes, est présente au niveau du *funiculus separens*, à l'interface entre l'AP et le NTS. Des cellules microgliales exprimant Iba1 sont localisées tout au long de l'axe rostrocaudal du CVD. Elles présentent néanmoins une population hétérogène, avec une population CD11b$^+$/CD68$^+$ restreinte à l'AP et une population CD11b$^+$/CD68$^+$ enrichie dans la zone de transition entre l'AP et le NTS. Les OPC sont nombreuses dans le NTS, alors que la proportion d'oligodendrocytes matures y est faible. Ces derniers sont plus nombreux dans le DMNX, où ils sont associés à des axones fortement myélinisés.

Abréviations **: GFAP** : Glial Fibrillary Acidic Protein (protéine fibrillaire acide gliale, marqueur des astrocytes et des vagliocytes) ; **Iba1**: Ionized Calcium Binding Adaptor Molecule 1 (protéine exprimée par les microglies et utilisée comme marqueur de leur activation) ; **CD11b** : Cluster of Differentiation 11b (protéine transmembranaire, marqueur des microglies réactives et des macrophages) ; **CD68** : Glycoprotéine lysosomale associée à l'activité phagocytaire des cellules microgliales ; **OPC** : Oligodendrocyte Precursor Cell (cellule précurseur des oligodendrocytes, exprimant NG2).

Néanmoins, les auteurs n'ont observé une diffusion au-delà de l'AP que pour la fluorescéine sodique de 0,3 kDa. Ainsi, le « tamis » des capillaires fenestrés de l'AP est complété au niveau du *funiculus separens*, ce

qui a également été rapporté par d'autres auteurs (Dallaporta et al., 2009; S. Morita et al., 2016; Pecchi et al., 2007; Wang et al., 2008; Willis et al., 2007). Les vagliocytes de cette région expriment justement des protéines des jonctions serrées, comme la claudine et la Zonula Occludens-1 (ZO1; Kálmán et al., 2023; Langlet, Mullier, et al., 2013; Miyata, 2015; Morita et al., 2016; Wang et al., 2008). Ces protéines s'assemblent en complexes au niveau de la membrane plasmique des cellules adjacentes, formant une barrière étanche qui limite le passage paracellulaire de l'eau et des solutés (Anderson & Van Itallie, 2009).

I.3.1.3.3 - Oligodendrocytes, polydendrocytes et précurseurs d'oligodendrocytes (OPC)

Les oligodendrocytes sont traditionnellement associés à la myélinisation des axones dans le SNC et dérivent des cellules précurseurs des oligodendrocytes (*Oligodendrocyte Precursor Cell*, OPC ; Bradl & Lassmann, 2010). Ces OPC, abondants dans le SNC, y compris à l'âge adulte, ne sont pas des cellules myélinisantes. Elles expriment le protéoglycane sulfate de chondroïtine (*Neuron-Glial antigen 2*, NG2) et leurs fonctions vont bien au-delà de leur différenciation en oligodendrocytes. Parfois appelées polydendrocytes, elles sont considérées comme la quatrième famille de cellules gliales, aux côtés des microglies, des astrocytes et des oligodendrocytes (Nishiyama et al., 2009). À ma connaissance, les seules études ciblant spécifiquement les oligodendrocytes du CVD sont associées à l'étude du « syndrome de l'area postrema », une condition neurologique se manifestant par des vomissements inexpliqués, des nausées chroniques et des épisodes de syncope. Ce syndrome est parfois associé à la sclérose en plaques, qui affecte la myéline, ou à la neuromyélite optique (*neuromyelitis optica spectrum disorder*, NMOSD), une maladie auto-immune caractérisée par la production d'anticorps dirigés contre la glycoprotéine oligodendrocytaire de la myéline (*Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein*, MOG ; Camara-Lemarroy & Burton, 2019; Ranjan et al., 2022).

Les quelques études immunohistochimiques utilisant des marqueurs des oligodendrocytes matures ont décrit une très faible présence de ces cellules dans l'AP et le NTS de plusieurs espèces (Oliveira et al., 2018; Shimizu & Ishii, 1964; Wang et al., 2008). Ces structures, en particulier le NTS, sont connues pour contenir des axones peu myélinisés, mais le marquage semble plus intense dans les portions commissurales du NTS. En revanche, elles ont décrit une population plus dense d'oligodendrocytes matures dans le DMNX, en lien également avec les axones plus fortement myélinisés. Les polydendrocytes, au contraire, semblent être nombreux dans le CVD. Levine et al. (1998) ont rapporté une densité légèrement plus élevée de cellules et de processus immunopositifs pour NG2 dans le CVD par rapport aux régions adjacentes immédiates du TCc. De plus, ils ont démontré la capacité de ces OPC à réagir aux insultes neuropathologiques en réponse à une infection virale du tronc cérébral. Plus récemment, deux études utilisant le séquençage de snRNA sur des cellules de l'AP et du NTS ont confirmé la présence simultanée d'oligodendrocytes matures et de polydendrocytes dans le CVD (Dowsett et al., 2021; Ludwig, Cheng, et al., 2021) et ont mis en évidence une certaine plasticité de ces cellules lors de défis nutritionnels.

I.3.1.3.4 - Microglies

Les cellules microgliales représentent 5 à 20 % de la population totale de cellules gliales dans le parenchyme du SNC (Lawson et al., 1990; Perry, 1998). Considérées comme les "cellules immunitaires du cerveau", les microglies possèdent une capacité de phagocytose, jouent un rôle dans la réparation des lésions, et répondent rapidement aux blessures, aux changements de concentration des composants du milieu extracellulaire et à l'entrée de pathogènes. Ces réponses se traduisent par des modifications des propriétés cellulaires et morphologiques des cellules gliales, les rendant « réactives » (Paolicelli et al., 2022). En plus de leur rôle dans la défense du SNC, les microglies régulent le développement en modulant la neurogenèse et le remodelage synaptique, et maintiennent l'homéostasie cérébrale, notamment en régulant la perméabilité de

la BHE (Borst et al., 2021; Kettenmann et al., 2011). Les microglies se caractérisent par l'expression d'Iba1 (*ionized calcium-binding adaptor molecule* 1), une protéine essentielle dans l'homéostasie calcique et dont l'expression augmente dans les cellules microgliales réactives. Iba1 a révolutionné le marquage des cellules microgliales, facilitant ainsi leur étude et leur caractérisation (Imai et al., 1996).

À ce jour, les caractéristiques structurales et fonctionnelles des microglies du CVD demeurent encore peu documentées. Maolood & Meister (2009) ont été les premiers à rapporter une couverture microgliale riche dans l'AP, le NTS et le DMNX, avec une association préférentielle aux vaisseaux sanguins. Pour marquer les cellules microgliales, les auteurs ont utilisé des anticorps dirigés contre *Cluster of Differentiation* 11b (CD11b), une protéine transmembranaire souvent utilisée pour étudier les microglies réactives (Korzhevskii & Kirik, 2016). Takagi et al. (2019) ont également décrit des cellules microgliales de l'AP présentant des caractéristiques associées aux cellules microgliales réactives. Ces cellules ont une forme amiboïde, c'est-à-dire plus arrondie et compacte avec des prolongements courts ou rétractés, contrairement aux cellules microgliales classiquement décrites avec leurs ramifications longues et fines. Elles expriment également des marqueurs associés à la microglie réactive tels que CD16/32 et CD86 (plutôt associés à un phénotype pro-inflammatoire) et CD206 et Ym1 (phénotype plutôt anti-inflammatoire). Ces cellules étaient également observées dans d'autres OCV, et les auteurs ont suggéré qu'elles pourraient servir à protéger le parenchyme des molécules toxiques dérivées du sang et participer au contrôle de la perméabilité et/ou de la dynamique des capillaires fenestrés.

Récemment, les travaux de notre équipe ont confirmé la présence de ces populations microgliales et ont mieux caractérisé ces populations microgliales constitutivement « réactives » au sein du CVD (Gaige et al., 2022 et **Figure 26**). Nous avons utilisé plusieurs marqueurs des cellules microgliales tels que Iba1, *Transmembrane Protein 119* (TMEM119), CD11b et CD68, un marqueur d'activité lysosomale exprimé dans les microglies activées et avons montré que leur expression variait selon les différentes régions du CVD. Iba1 est connu pour avoir une expression augmentée dans les cellules microgliales réactives, alors que TMEM119 est exprimé de manière stable et spécifique dans les microglies, et peut être utilisé pour distinguer les microglies des macrophages résidents et infiltrants (Ruan & Elyaman, 2022). L'expression d'Iba1 était plus forte dans l'AP que dans le NTS. Dans l'AP, ces cellules exprimaient également CD11b. Ces observations suggèrent qu'elles pourraient correspondre aux cellules décrites par Takagi et al. (2019). Par ailleurs, les cellules microgliales localisées dans le *funiculus separens* et débordant dans le parenchyme du NTS exprimaient des marqueurs différents, avec une expression plus faible de CD11b mais une forte expression de CD68. Ces deux types cellulaires présentaient des caractéristiques de microglies réactives et étaient distinctes de celles localisées dans les portions plus profondes et latérales du NTS postrémal à la morphologie plus "classique".

Nous proposons que ces populations microgliales $CD68^+$ et $CD11b^+$, localisées dans l'AP et à la frontière NTS/AP, fonctionnent comme des cellules sentinelles. Elles pourraient détecter des molécules neurotoxiques endogènes et/ou exogènes dérivées du sang et limiter leur diffusion dans les structures adjacentes aux OCV dont le NTS et le DMNX. Cette hypothèse est appuyée par notre observation de la diffusion de *fluorogold,* après une injection systémique, était confinée à l'AP et à la bordure microgliale exprimant CD68. À l'échelle tissulaire, le *fluorogold* colocalisait avec les cellules $CD68^+$, suggérant la capacité de ces cellules à internaliser cette molécule. De plus, nous avons démontré que les cellules microgliales du *funiculus separens* positives pour CD68 étaient capables de phagocytose ou d'endocytose*, in situ* sur des tranches de TCc traitées avec des billes de latex fluorescentes.

I.3.2 - Les cellules gliales du CVD participent au contrôle de la balance énergétique

L'étude du rôle des cellules gliales dans le contrôle du comportement alimentaire a pris son essor principalement à la fin des années 2000, alors que la compréhension des circuits neuronaux de l'HYP avait déjà considérablement progressé (Schwartz et al., 2000; Woods et al., 2000). Cette compréhension offrait des perspectives de traitements pour les formes monogéniques spécifiques de l'obésité, en particulier celles associées à des dysfonctionnements de la leptine ou de ses voies de signalisation (Farooqi et al., 1999). Néanmoins, la résistance à la leptine dans la plupart des cas d'obésité limitait l'exploitation thérapeutique des circuits neuronaux identifiés, freinant ainsi le développement de traitements plus ciblés pour l'obésité, notamment pour les formes polygéniques et multifactorielles (Considine et al., 1996; Heymsfield et al., 1999). Avec une meilleure caractérisation de la physiologie des cellules gliales et la mise en évidence de l'inflammation de bas grade dans l'obésité, il est devenu évident qu'ignorer ces éléments pourrait ralentir la lutte contre l'obésité et le diabète (García-Cáceres et al., 2012; Yi et al., 2011). Par exemple, l'inflammation de bas grade, souvent observée dans l'obésité, a été associée à des altérations du transport de la leptine au travers des interfaces sang/cerveau (Banks et al., 1999; El-Haschimi et al., 2000). Ces transports sont soutenus par les cellules gliales (Prat et al., 2001; Thaler et al., 2013) et l'inflammation induit un changement morphologique de ces dernières (Thaler et al., 2010, 2012, 2013).

Il est maintenant reconnu que les cellules gliales participent non seulement au maintien de l'homéostasie du SNC, mais aussi au contrôle systémique de la balance énergétique (Argente-Arizón et al., 2015; Douglass et al., 2017; Freire-Regatillo et al., 2017; García-Cáceres et al., 2019; Nampoothiri et al., 2022). En effet, les cellules gliales détectent des signaux métaboliques et nutritionnels, modulent leur accès aux interfaces périphérie/SNC, et libèrent des molécules pouvant impacter le comportement alimentaire.

Cependant, les connaissances actuelles sont dominées par l'étude des cellules gliales hypothalamiques. Les recherches récentes sur les cellules gliales du CVD et les interactions neurogliales dans cette région suggèrent néanmoins qu'elles participent aussi au contrôle de la balance énergétique. Cette section met en lumière les principales preuves de l'implication des cellules gliales du CVD dans la modulation de l'équilibre énergétique dans des conditions physiologiques et pathologiques. Elle rejoint certaines revues de la littérature publiées ces dernières années, notamment une publiée par notre équipe (MacDonald et al., 2020; Martinez & Kline, 2021; Troadec et al., 2022). Un accent particulier est porté aux astrocytes du CVD, qui ont constitué le principal objet de mon projet de thèse.

I.3.2.1 - Vagliocytes et contrôle de la balance énergétique

I.3.2.1.1 - Barrière à l'interface sang-LCS-parenchyme

L'accès au parenchyme cérébral des nutriments et des signaux métaboliques est essentiel pour une régulation adéquate de la balance énergétique. Le CVD est d'ailleurs situé à proximité de l'AP pour accéder à une multitude de signaux informant sur l'état nutritionnel de l'organisme (voir **section I.2.2.2 -**, p 71). Cet accès est néanmoins restreint par les vagliocytes qui expriment des complexes de jonctions serrées (voir **section I.3.3.2**, p 111). Selon Willis et al., (2007), seules les molécules < 0,3 kDa pourraient traverser la frontière AP/NTS, soit principalement des nutriments (**Tableau 5**).

Chrobok et al. (2020) ont récemment observé que l'expression de jonctions serrées du funiculus separens variait au cours du cycle circadien, avec des niveaux de transcrits plus bas au début de la nuit. Cette diminution de l'expression était associée à une pénétration accrue du colorant bleu Evans dans le parenchyme du CVD. Le début de la nuit, correspondant à la phase active des rongeurs, est également la période où la consommation alimentaire est la plus élevée.

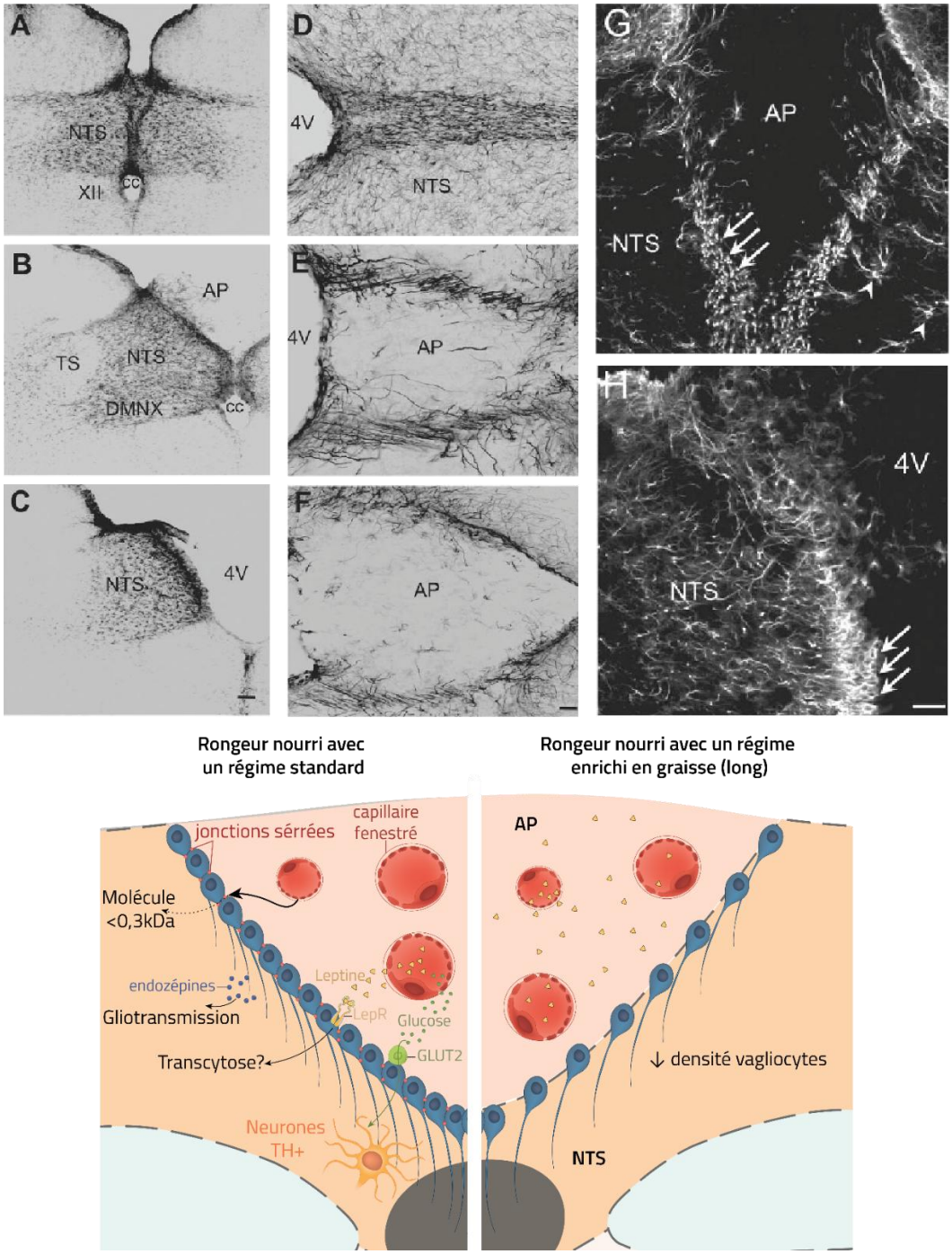


FIGURE 27 : VAGLIOCYTES ET RÉSUMÉ DE LEURS FONCTIONS PRÉSUMÉES DANS LE CONTRÔLE DE LA BALANCE ÉNERGÉTIQUE

Les images et la légende associées sont issues et traduites de Pecchi et al.(2007).

Panel du haut (Pecchi et al.) : Immunoréactivité pour la GFAP sur des coupes coronales de rat aux niveaux caudal (**A**), postrémal (**B**) et rostral (**C**) du CVD et sur des coupes horizontales aux niveaux caudal (**D**), postrémal (**E**) et rostral (**F**) du CVD. L'immunohistochimie pour la GFAP sur des coupes horizontales met en évidence des prolongements positifs à la GFAP dans le NTS et à l'interface entre l'AP et le NTS. **G-H.** Observations à fort grossissement du marquage GFAP sur des coupes coronales du NTS postrémal (**G**) et du NTS rostral (**H**). Notez la présence d'astrocytes stellaires typiques dans le NTS (pointes de flèches), la forme ponctiforme de l'immunoréactivité pour la GFAP entre l'AP et le NTS (flèches en G) et les corps cellulaires cubiques positifs à la GFAP situés dans la partie rostrale du NTS bordant le quatrième ventricule (flèches dans **H**).
Barres d'échelle : 100 µm (**A** à **C**), 75 µm (**D** à **F**) ; 25 µm (**G** et **H**).

Pendant cette phase du cycle circadien, l'activité neuronale du NTS a été enregistrée *in situ* à l'aide d'un réseau multi-électrodes, permettant une étude à grande échelle et en temps réel de l'activité multi-unités spontanée (sMUA), c'est-à-dire l'enregistrement des potentiels d'action de plusieurs neurones simultanément. Les neurones du NTS montraient une excitabilité accrue pendant la phase nocturne par l'application de glucose et par des facteurs anorexigènes (CCK) et orexigènes (ghréline et orexine A). Cette augmentation de l'activité était associée à une augmentation des récepteurs pour certaines hormones, dont les récepteurs CCK (Type B) et les récepteurs orexine 1-2, et pourrait également résulter d'une augmentation générale de l'excitabilité neuronale pendant la nuit, soumise aux rythmes circadiens. Néanmoins, ces résultats n'excluent pas que les vagliocytes puissent favoriser le passage de ces hormones avant une période de prise alimentaire. Ils pourraient permettre des changements quotidiens de perméabilité aux molécules circulantes ou encore à d'autres facteurs humoraux, permettant ainsi au NTS de présenter des caractéristiques d'OCV à certains moments critiques de la journée.

TABLEAU 5 : EXEMPLES DE MOLÉCULES QUI PEUVENT OU NON LIBREMENT DIFFUSER AU TRAVERS DE L'AP VERS LE NTS

Basé sur (Dallaporta et al., 2010)

Molécules de poids > 0,47 kDa susceptibles de ne pas atteindre le NTS depuis l'AP.	Petites molécules pouvant diffuser au-delà de l'AP à travers la barrière gliale.
Angiotensine II (1 kDa), Cholécystokinine (1.06 kDa), Ghréline (3.3 kDa), Peptide YY 3-36 (4.0 kDa), Neuropeptide Y (NPY, 4.2 kDa) Insuline (6k Da) Nesfatine 1 (9.6 kDa) Leptine (16.2 kDa) Cytokines : Interleukine-1 *bêta* (IL-1β, 17.5 kDa), Tumor Necrosis Factor alpha (TNF-α, 17.3 kDa), Interleukine-6 (IL-6, 20.9 kDa)	Glucose (0.18 kDa), Acides aminés Hormones stéroïdes : Testostérone 0.28 kDa, estradiol-17 *bêta* (E-17β, 0.27 kDa)

FIGURE 27 SUITE.

Panel du bas : Localisés près des capillaires fenestrés de l'AP, les vagliocytes bénéficient d'un accès privilégié aux molécules circulantes, y compris les signaux métaboliques tels que la leptine et le glucose. Ces cellules semblent jouer un rôle de filtre sélectif, limitant la diffusion vers le parenchyme du NTS aux seules molécules de petite taille. On ignore si les vagliocytes peuvent transporter des molécules plus grandes, comme la leptine, par transcytose.
Les vagliocytes peuvent également libérer des molécules neuroactives, notamment des endozépines, connues pour leurs effets anorexigènes. Une exposition prolongée à un régime enrichi en graisses entraîne une diminution de la densité des vagliocytes. Les conséquences de cette réduction de la couverture gliale sur le métabolisme et le contrôle de la balance énergétique restent à explorer en détail.
Abréviations : **0,3 kDa** : Molécules ayant une masse moléculaire inférieure à 0,3 kilodaltons ; **4V** : quatrième ventricule ; **AP** : Area Postrema ; **cc** : Canal central ; **DMNX** : Noyau moteur dorsal du nerf vague ; **GLUT2** : Glucose Transporter 2 (transporteur de glucose) ; **LepR** : Récepteurs à la leptine ; **NTS** : Noyau du tractus solitaire ; **TH⁺** : Neurones exprimant la tyrosine hydroxylase (neurones catécholaminergiques) ; **TS** : Tractus solitaire ; **XII** : Noyau hypoglosse.

Une autre fonction potentielle des vagliocytes à l'interface AP/NTS pourrait être le transport des molécules de l'AP au NTS par transcytose, bien que cela n'ait pas encore été étudié en profondeur (Dallaporta et al., 2010; Kálmán et al., 2023). Il a d'ailleurs été suggéré que l'expression de la vimentine pourrait favoriser cette capacité de transport intra- et transcellulaire (Pixley & de Vellis, 1984). Notre équipe a rapporté l'expression *in vivo* et *in vitro* des récepteurs à la leptine dans les vagliocytes, avec une forte présence des isoformes courtes (Dallaporta et al., 2009). Ces isoformes, proposées pour faciliter le transport de la leptine (Balland et al., 2014), pourraient jouer un rôle dans le transport de la leptine de l'AP vers le NTS *via* les récepteurs de la leptine. Cependant, contrairement aux tanycytes, les vagliocytes n'ont pas de prolongements adjacents aux capillaires sanguins pour capter la leptine, rendant cette hypothèse encore spéculative (Pecchi et al., 2007). Une étude récente de Stein et ses collaborateurs (2020) a confirmé, grâce à l'hybridation *in situ* utilisant le RNAscope, l'expression des récepteurs à la leptine par les vagliocytes. Ils ont également rapporté que les LepR exprimés par les cellules GFAP$^+$ à la frontière de l'AP et du NTS étaient fonctionnels *ex vivo*. En effet, l'infusion de leptine induisait des réponses calciques dans ces cellules. Leur étude a également montré que la leptine fluorescente (Cy5-Leptin) administrée dans le 4V colocalisait avec les vagliocytes, visualisée par immunohistochimie de la GFAP, bien qu'on ne sache pas si cette dernière est effectivement internalisée.

La leptine active principalement la voie des Janus Kinases (Jak-Stat), entraînant la phosphorylation des facteurs de transcription STAT, en particulier STAT3 (Hegyi et al., 2004). Cette voie peut également être activée par le Facteur Neurotrophique Ciliaire (*Ciliary Neurotrophic Factor*, CNTF ; Peterson et al., 2000), connu pour ses effets satiétogènes et l'augmentation de la sensibilité à la leptine *via* ses actions sur l'HYP et les organes périphériques (Guo et al., 2022; Lambert et al., 2001). Le CNTF est également impliqué dans le remodelage vasculaire, y compris dans l'AP (Morita et al., 2015). Senzacqua et al. (2016) ont rapporté l'expression du marqueur c-Fos dans les vagliocytes en réponse au CNTF, suggérant l'importance de cette voie pour ces cellules. Ils suggèrent que le CNTF pourrait induire des réarrangements glio-vasculaires, impliquant les vagliocytes et augmentant la perméabilité vasculaire dans l'AP.

Ainsi, du fait de leur position privilégiée à l'interface entre l'AP et le NTS, les vagliocytes pourraient moduler l'accès des signaux métaboliques vers le parenchyme cérébral et ainsi modifier la réponse des réseaux neuronaux aux signaux de satiété.

I.3.2.1.2 - Intégration des signaux métaboliques et gliotransmission

Dans leur étude, Stein et al. (2020) ont également apporté des preuves que les effets de la leptine dans le CVD pourraient être largement médiés par les vagliocytes et les astrocytes. Par exemple, ils décrivent une réduction de la réponse calcique des neurones sensibles à la leptine après prétraitement avec le fluorocitrate (FC), qui inhibe spécifiquement le métabolisme des astrocytes (voir **section I.3.2.4.2**, p 124). Cependant, leurs résultats *in vivo* sont plus nuancés : l'infusion de leptine et de FC dans le 4V chez des animaux canulés n'a réduit que légèrement (de manière non significative) la prise alimentaire. Les auteurs suggèrent néanmoins que la sensibilité à la leptine de ces cellules pourrait être altérée lors de l'exposition à un régime riche en graisses, puisque la tendance anorexigène du cocktail FC/leptine n'était plus observée après 2 semaines de régime.

Les vagliocytes pourraient également être des glucodétecteurs. Ils expriment GLUT2 (*Glucose Transporter Type 2*) et la glucokinase (GK; Maekawa et al., 2000), deux protéines souvent associées au contrôle de l'homéostasie du glucose. GLUT2 est un transporteur réversible (transport du glucose dans les deux sens) à faible affinité (haut Km, non saturable) et haute capacité (volume transporté élevé), ce qui lui permet de transporter efficacement de grandes quantités de glucose et de façon proportionnelle à sa concentration, lorsque les concentrations sanguines de glucose sont élevées (Koepsell, 2020). GK, une enzyme clé impliquée dans la régulation de la glycémie et le métabolisme du glucose ne semble pas être exprimée par les astrocytes GFAP du CVD (Balfour et al., 2006). Par l'expression de ces molécules, les vagliocytes semblent pouvoir détecter la diminution de la disponibilité en glucose pour réguler l'homéostasie du glucose, la prise alimentaire et la fonction gonadique en activant les neurones

catécholaminergiques et/ou NPY du cerveau postérieur et les neurones CRH et NPY de l'HYP (Sato et al., 2021).

Au même titre que les astrocytes, les vagliocytes peuvent libérer des gliotransmetteurs qui pourraient participer à une communication neurogliale et contribuer au contrôle de la balance énergétique. Ils expriment par exemple l'octadécaneuropeptide (ODN), une molécule connue pour réduire l'appétit (Compère et al., 2010; Guillebaud et al., 2017, 2020; Lanfray et al., 2013, **Figure 27**).

Enfin, ils sont affectés par des modifications du statut nutritionnel ou des conditions de diabète et d'obésité. Une exposition de 8 semaines à un régime riche en graisses chez le rat réduit la densité de ces cellules et l'expression de la GFAP, tandis que chez les rats dépourvus de LepR, obèses et diabétiques, l'expression de la GFAP est augmentée, indiquant une réactivité accrue (Stein et al., 2020).

I.3.2.2 - Microglie du CVD et contrôle de la balance énergétique

I.3.2.2.1 - Barrière et transport des nutriments et des signaux métaboliques

Comme les vagliocytes, les cellules microgliales de l'AP pourraient restreindre le passage de certains composés à la frontière NTS/AP grâce à leur capacité d'endocytose (Gaige et al., 2022). Dans cette étude, nous avons testé l'effet du DON, une mycotoxine contaminant les céréales, connue pour induire une réponse immunitaire et augmenter la production de cytokines périphériques (Amuzie et al., 2008; Pestka & Amuzie, 2008) et centrales (Azcona-Olivera et al., 1995). Le DON provoque également une anorexie chez les rongeurs (Bonnet et al., 2012; Lebrun et al., 2015; Pestka et al., 2004). Nous avons montré que le DON induisait une réactivité microgliale accrue dans l'AP, mesurée par l'immunomarquage d'Iba1, CD11b et CD68. Cette réactivité était associée à une modification de leur morphologie. Nos résultats suggèrent que les cellules microgliales peuvent limiter la diffusion du DON du sang vers le parenchyme cérébral. En effet, l'inhibition de ces cellules par la minocycline, un antibiotique largement utilisé comme inhibiteur de l'activation et de la polarisation microgliale, a réduit l'expression du marqueur de réactivité gliale CD68 dans cette région et a exacerbé les effets anorexigènes du DON. Ces effets ont également été observés après un traitement au PLX3397, qui détruit les cellules microgliales et les macrophages. L'effet anorexigène exacerbé était également associé à une augmentation du marquage c-Fos en réponse au DON dans l'AP et le NTS, renforçant l'idée d'une plus grande perméabilité à la toxine en cas d'altération des cellules microgliales. Aucune étude n'a encore exploré le rôle de ces cellules dans la régulation de la diffusion de signaux métaboliques, dans des conditions physiologiques ou dans des conditions inflammatoires dont l'obésité.

I.3.2.2.2 - Microglie et pathologie

Aucune étude n'a encore exploré le rôle des cellules microgliales du CVD dans le comportement alimentaire physiologique. Cependant, il est établi que ces cellules réagissent à une vagotomie (Hofmann et al., 2021) et à des modifications du statut nutritionnel. Selon Butler et al. (2020), quatre jours de régime enrichi en graisses (60 % de graisse) chez le rat suffisent à induire une réactivité microgliale dans le NTS, incluant une augmentation du nombre de cellules microgliales et une diminution de la ramification des microglies.

Ces réponses microgliales ont également été observées après une consommation prolongée de HFD. Dans leur étude, Vaughn et al. (2017) ont rapporté une microgliose restreinte au DMNX après sept jours de HFD, et s'étendant au NTS après 21 jours de HFD. Ce même groupe a également observé que l'inhibition de l'activation microgliale par la minocycline, réduit l'accumulation de graisse corporelle. Les auteurs proposent que l'inflammation induite par le régime enrichi en graisses dans le tractus gastro-intestinal est propagée par une réactivité microgliale centrale, amplifiant ainsi les effets délétères d'un régime obésogène. Néanmoins, Stein et al. (2020) n'ont rapporté aucune modification de la densité microgliale dans le CVD lors de l'exposition à un

régime enrichi en graisses de 8 semaines ou chez les rats *Zucker*, déficients en récepteur à la leptine et maintenus sous régime standard, obèses et diabétiques.

I.3.2.3 - Oligodendrocytes, polydendrocytes du CVD et contrôle de la balance énergétique

La contribution des cellules du lignage des oligodendrocytes au contrôle du comportement alimentaire et à l'homéostasie énergétique est de plus en plus reconnue (Henn et al., 2022). Leurs fonctions sont notamment liées à leur rôle essentiel dans le maintien des fonctions physiologiques des neurones de l'HYP (Henn et al., 2022). Elles fournissent du lactate aux neurones hypothalamiques, soutenant leurs besoins énergétiques élevés et influençant la prise alimentaire (Ou et al., 2019). Elles maintiennent également l'arborisation dendritique des neurones sensibles à la leptine du ARC, ce qui participe à la détection de la leptine dans l'éminence médiane (implication des polydendrocytes ; Djogo et al., 2016), et stabilisent les synapses via des interactions avec la matrice extracellulaire (Alonge et al., 2020; Kohnke et al., 2021). Par ailleurs, la prolifération et la différenciation des oligodendrocytes sont affectées par le statut nutritionnel (Kohnke et al., 2021).

Cependant, aucune étude n'a encore examiné la contribution des cellules du lignage des oligodendrocytes au sein du CVD, bien que la densité de polydendrocytes y soit élevée par rapport aux régions adjacentes du tronc cérébral (Levine et al., 1998). Les récentes analyses transcriptomiques basées sur le séquençage snRNA suggèrent une contribution des oligodendrocytes et des polydendrocytes du CVD dans le contrôle de la balance énergétique. Ces analyses pourraient ouvrir la voie à des recherches plus ciblées sur ces cellules dans les mois à venir (Dowsett et al., 2021 ; Ludwig, Cheng, et al., 2021; Ludwig, Todorov, et al., 2021). Dowsett et al. (2021) ont confirmé que l'hétérogénéité de cette famille est présente dans le CVD, représentant 7 clusters sur 11 de cellules gliales. Ces cellules expriment le récepteur polypeptidique insulinotrope dépendant du glucose (*Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide Receptor*, GIPR), dont la voie de signalisation module le poids corporel et les réponses émétiques, en partie par son action sur la signalisation GLP-1 (Hayes et al., 2021; Samms et al., 2021). De plus, les oligodendrocytes réagissent fortement à un jeûne nocturne, modifiant significativement leur expression génique, incluant des facteurs de transcription influençant la différenciation des progéniteurs en oligodendrocytes matures (Dowsett et al., 2021).

I.3.2.4 - Astrocytes du CVD et contrôle de la balance énergétique

Comme discuté dans la **section I.2.3.2.1**, p 86, le CVD intègre trois types principaux de signaux pour contrôler la balance énergétique et la prise alimentaire : 1) les afférences vagales, 2) les signaux humoraux, et 3) les signaux provenant d'autres régions du SNC. Les astrocytes, à l'interface des vaisseaux sanguins et des réseaux neuronaux, modulent ces différentes entrées, les plaçant au cœur du contrôle de la balance énergétique. Ils : 1) modulent la synapse entre terminaisons vagales et les neurones du NTS, 2) expriment un large éventail de récepteurs et sont sensibles au GLP-1 et à ses agonistes comme l'exendin-4 (Reiner et al., 2016), à la leptine (Dallaporta et al., 2010), à la ghréline (Marina et al., 2018), ainsi qu'à divers nutriments (**Tableau 5**) et 3) ont une contribution essentielle dans la régulation de la transmission synaptique, en répondant aux neurotransmetteurs et aux variations métaboliques , ces réponses étant essentielles au maintien de l'homéostasie énergétique (voir la **section I.3.1.2**, p :04). Par ailleurs, les astrocytes libèrent des gliotransmetteurs, modulant les réseaux neuronaux ou influençant directement le comportement alimentaire. Ces fonctions classiques se manifestent par leur capacité à moduler les afférences sensorielles et à jouer un rôle clé dans le maintien de l'homéostasie du glucose et le contrôle de la prise alimentaire.

Plusieurs études ont utilisé l'inhibition des astrocytes pour comprendre leurs fonctions dans le maintien de la balance énergétique. La fonction des astrocytes peut être inhibée sélectivement avec le fluoroacétate (FAC), son métabolite le fluorocitrate (FC), ou la méthionine sulfoximine. Le FC inhibe l'aconitase, une enzyme clé du cycle de Krebs, réduisant ainsi la production d'ATP et de lactate (Hassel et al., 1992). Cette inhibition entraîne une accumulation rapide de citrate, un chélateur de Ca^{2+}, ce qui élimine rapidement le signal calcique des astrocytes (Clarke, 1991). La méthionine sulfoximine (MS), quant à elle, est un inhibiteur de la glutamine synthétase. Elle bloque la conversion du glutamate en glutamine, perturbant ainsi le cycle glutamate-glutamine et l'approvisionnement en neurotransmetteurs essentiels pour les neurones, ce qui peut entraîner une excitotoxicité (Phelps, 1975).

I.3.2.4.1 - Modulation des entrées viscérosensorielles

Les astrocytes du CVD jouent un rôle crucial dans la modulation des entrées viscérosensorielles. Ils agissent à l'interface des terminaisons vagales et des neurones du NTS, affectant ainsi la transmission excitatrice glutamatergique des afférences vagales. Ces résultats ont été décrits dans deux revues récentes et repris ici (MacDonald & Ellacott, 2020; Troadec et al., 2022) et sont schématisés dans la **Figure 28**. McDougal et ses collaborateurs (2011) ont été les premiers à explorer cette contribution astrocytaire. Ils ont utilisé une approche *ex vivo* avec des tranches de TCc, combinées à la stimulation électrique du tractus solitaire (TS) pour simuler la réception d'informations viscérosensorielles dans le NTS. Ces tranches étaient préalablement chargées avec la sulforhodamine 101 (SR101), un colorant préférentiellement absorbé par les astrocytes, permettant leur visualisation, ainsi qu'un indicateur calcique perméant pour mesurer les variations de $[Ca^{2+}]_i$. La stimulation électrique des terminaisons vagales entraînait une augmentation rapide du $[Ca^{2+}]_i$ dans les astrocytes, provenant à la fois de sources extracellulaires et de réserves intracellulaires. Dans cette même étude, les auteurs ont observé que 70 % des astrocytes du NTS expriment les récepteurs de l'acide *α-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique* (AMPAR), des récepteurs ionotropiques du glutamate qui sont connus pour être perméables au Ca^{2+} dans les astrocytes. L'augmentation rapide de $[Ca^{2+}]_i$ dans les astrocytes, probablement initiée par l'entrée de Ca^{2+} *via* les AMPAR, contraste avec les réponses calciques plus lentes induites par les récepteurs métabotropiques dans les astrocytes de l'hippocampe (Araque et al., 2002; Pasti et al., 1997) et du noyau accumbens (D'Ascenzo et al., 2007).

Accorsi-Mendonça et al., (2013) ont confirmé la présence des courants entrants rapides dans les astrocytes, observés immédiatement après la stimulation du TS, par enregistrements de patch-clamp. Ces courants étaient bloqués par un antagoniste des AMPAR. Les auteurs ont étudié les effets de l'inhibition des astrocytes *via* l'application de fluoroacétate (FAC) sur les courants excitateurs postsynaptiques (*Excitatory Postsynaptic Current*, EPSC) enregistrés sur des neurones

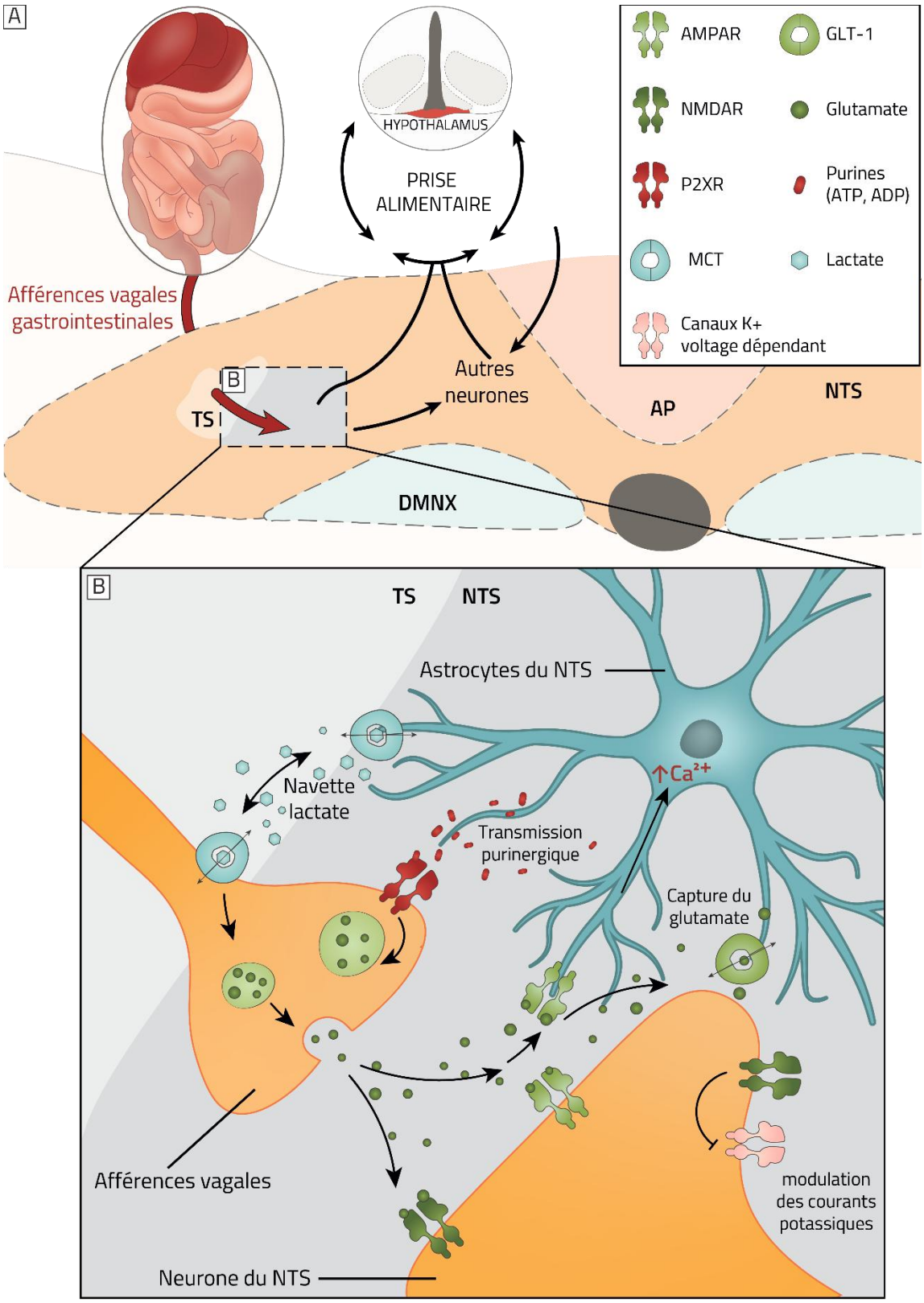


FIGURE 28 : MODULATION DES ENTRÉES VISCÉROSENSORIELLES PAR LES ASTROCYTES DU NTS

Illustration modifiée de MacDonald & Ellacott (2020).

A. Les afférences vagales provenant de la sphère gastro-intestinale véhiculent des informations sensorielles sur le statut métabolique (voir **Figure 20**). Ces afférences stimulent les neurones de second ordre du NTS, modulant ainsi l'activité des réseaux anorexigènes et leurs projections ascendantes, qui participent au contrôle du comportement alimentaire (**Figure 21 et 22**).

du NTS projetant vers la médulla ventrale. Ils ont observé que le FAC réduit l'amplitude des EPSC évoqués par le TS et la fréquence des EPSC spontanés enregistrés dans les neurones du NTS, par des mécanismes présynaptiques. Ces résultats suggèrent une contribution tonique des astrocytes à la transmission synaptique TS/NTS. Les auteurs ont identifié l'ATP comme gliotransmetteur libéré par les astrocytes du NTS lors de la stimulation du TS, lequel agit sur les récepteurs P2 des terminaisons vagales pour favoriser la libération de glutamate. L'augmentation de l'ATP extracellulaire induite par la stimulation du TS a été atténuée par le FAC.

En plus d'agir sur les terminaisons vagales, les astrocytes exercent également un effet direct sur les neurones du NTS. L'activation des astrocytes module différemment les courants AMPA et NMDA (Récepteurs N-méthyl-D-aspartate) dans le compartiment postsynaptique des neurones du NTS à la synapse TS/NTS. L'amplitude des EPSC AMPA évoqués par une stimulation du TS était plus faible en présence de FAC et celle des EPSC NMDA évoqués était plus grande (Accorsi-Mendonça et al., 2019). Les astrocytes semblent ainsi exercer une neuromodulation ayant des effets opposés sur les récepteurs AMPA et NMDA. De plus, il a été démontré que l'inhibition des astrocytes du NTS par le FAC module les propriétés membranaires intrinsèques des neurones du NTS en inhibant le courant potassique de type A (IKA), un courant K^+ activé de manière rapide et transitoire au début de la dépolarisation neuronale. L'inhibition du courant IKA favorise l'excitabilité neuronale. Le mécanisme impliqué dans cette modulation gliale des neurones du NTS reste à étudier (Accorsi-Mendonça et al., 2015).

FIGURE 28 SUITE.

À l'interface entre le tractus solitaire et les neurones du NTS, les astrocytes jouent un rôle clé dans la régulation de la transmission synaptique, influençant directement la réponse des neurones du NTS aux informations viscérosensorielles. Cette région grisée dans le schéma est représentée en détail en **B.**, illustrant les interactions cellulaires dans cette zone.

B. L'encadré montre une terminaison vagale glutamatergique émergeant du TS et pénétrant dans le parenchyme du NTS (en jaune). Les astrocytes, localisés à proximité des synapses glutamatergiques entre les terminaisons vagales et les neurones du NTS, participent au maintien de l'homéostasie synaptique. Ils régulent la clairance des neurotransmetteurs, un processus essentiel pour un relais efficace des informations sensorielles. Ces astrocytes expriment également des transporteurs du glutamate, notamment GLT-1 (EAAT2), qui permettent de maintenir des niveaux optimaux de glutamate dans la fente synaptique tout en assurant un recyclage efficace pour les pools présynaptiques. Par ailleurs, ils pourraient fournir du lactate, un substrat énergétique indispensable au fonctionnement des terminaisons vagales, *via* des transporteurs monocarboxylates (MCT).
En plus de leur rôle de soutien métabolique, les astrocytes du NTS sont des partenaires actifs de la transmission synaptique. Ils répondent au glutamate synaptique *via* des récepteurs AMPA situés à leur surface, ces derniers étant perméables au calcium, ce qui déclenche des réponses intracellulaires. Ces astrocytes participent également à la gliotransmission purinergique, caractérisée par la libération d'ATP, lequel peut partiellement être converti en adénosine dans la fente synaptique. Cette gliotransmission influence de manière tonique la transmission synaptique en agissant sur plusieurs mécanismes. D'une part, l'ATP agit sur les récepteurs purinergiques P2 des terminaisons vagales, modulant ainsi la libération de glutamate. D'autre part, l'activation des astrocytes module l'activité des canaux potassiques de type A, dans les neurones du NTS. Ces courants, transitoires et activés au début de la dépolarisation, sont inhibés par les astrocytes, réduisant ainsi la probabilité de déclenchement des potentiels d'action et abaissant l'excitabilité neuronale.
Abréviations : **AMPAR** : *α-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic Acid Receptor* (récepteur ionotropique au glutamate) ; **AP** : *area postrema* ; **DMNX** : noyau moteur dorsal du nerf X ; **GLT-1** : Glutamate Transporter-1 (transporteur de glutamate spécifique aux astrocytes, également appelé EAAT2) ; **MCT** : Monocarboxylate Transporter (transporteur de monocarboxylates, comme le lactate) ; **NMDAR** : N-Methyl-D-Aspartate Receptor (récepteur ionotropique au glutamate) ; **NTS** : Noyau du Tractus solitaire ; **P2XR** : récepteur ionotropique activé par l'ATP ou l'adénosine diphosphate ; **TS** : Tractus solitaire.

Enfin, deux autres fonctions des astrocytes pourraient participer à la modulation de la synapse TS/NTS. Premièrement, le soutien métabolique apporté par les astrocytes aux neurones *via* le lactate. Le lactate dérivé des astrocytes est transféré *via* des transporteurs monocarboxylates (MCT) vers les neurones. Lorsque ces transporteurs sont inhibés pharmacologiquement *in situ* dans des tranches de TCc de rat, l'amplitude des EPSC neuronaux évoqués par le TS est réduite (Nagase et al., 2014). Cet effet est compensé par l'apport de lactate extracellulaire, suggérant que le lactate favorise la communication synaptique TS-NTS. Deuxièmement, les astrocytes régulent la disponibilité du glutamate dans la fente synaptique et recyclent le glutamate sous forme de glutamine, retransmise aux neurones. Le blocage pharmacologique des transporteurs d' acides aminés excitateurs EAAT1 et EAAT2 réduit les EPSC évoqués par le TS dans les neurones du NTS, suggérant qu'une accumulation de glutamate dans la synapse pourrait être régulée par les astrocytes pour moduler la transmission vagale (Matott et al., 2016, 2017; Yamamoto & Mifflin, 2018).

I.3.2.4.2 - Homéostasie du glucose

Dans le CVD, les astrocytes expriment des transporteurs du glucose (*Glucose Transporter*, GLUT), principalement GLUT1 et GLUT2 (Arluison et al., 2004; Leloup et al., 1994). Alors que GLUT1 est largement exprimé par les cellules gliales dans l'ensemble du SNC, GLUT2 a une expression plus restreinte et est souvent associé au contrôle de l'homéostasie du glucose. GLUT2 est un transporteur réversible, à faible affinité (haut Km, non saturable) et à haute capacité (volume transporté élevé), ce qui lui permet de transporter efficacement de grandes quantités de glucose de manière proportionnelle à sa concentration, notamment lorsque les concentrations sanguines de glucose sont élevées (Koepsell, 2020).

Une suppression totale de GLUT2 est létale, sauf si l'expression d'un type de transporteur est restaurée dans les cellules β pancréatiques, assurant ainsi une sécrétion d'insuline basale. C'est ce qu'ont réalisé Marty et al. (2005),en développant un modèle de souris transgéniques où GLUT2 est délété dans toutes les cellules, mais où GLUT1 est réexprimé spécifiquement dans les cellules β pancréatiques (Ripglut1;glut2$^{-/-}$). Chez ces souris, la fonction pancréatique est préservée, permettant une sécrétion normale d'insuline basale, mais les réponses de contre-régulation (CRR) à l'hypoglycémie dépendantes du SNC, notamment la sécrétion de glucagon, sont abolies. Avec le modèle Ripglut1;glut2$^{-/-}$,Marty et al. ont démontré que l'expression astrocytaire de GLUT2 est nécessaire aux CRR. Pour distinguer la contribution des neurones et des astrocytes, ils ont restauré l'expression de GLUT2 en utilisant des ADNc sous le contrôle de promoteurs spécifiques : la synapsine pour les neurones, et la GFAP pour les astrocytes. La réexpression de GLUT2 dans les astrocytes a permis de restaurer la sécrétion de glucagon induite par la glucoprivation, tandis que celle dans les neurones est restée sans effet. Ces résultats ont établi que les astrocytes sont des éléments clés dans la détection directe des baisses de glucose (Klip & Hawkins, 2005).

❒ **Astrocytes du CVD comme capteurs de la glucoprivation**

Dans leur étude, Marty et al. (2005) suggéraient que les astrocytes situés dans le CVD pourraient être impliqués dans ces processus, basant cette hypothèse sur l'observation que la réexpression de GLUT2 dans les astrocytes restaure l'activation neuronale, observée par le marquage c-Fos dans le NTS et le DMNX, en réponse à la glucoprivation. Cette hypothèse était renforcée par les travaux préalables de Young et al. (2000), qui avaient observé qu'une inhibition du métabolisme des astrocytes atténuait la réponse des neurones du NTS à une glucoprivation induite par des injections intrapéritonéales de 2-deoxy-D-glucose (2DG). Cette altération du métabolisme astrocytaire était induite par des injections systémiques de méthionine sulfoximine (MS), administrées 8 heures avant l'induction de la glucoprivation.

L'équipe d'Hermann et Rogers a confirmé ces résultats en utilisant le fluorocitrate (FC). Dans leurs études, le FC et le 2DG étaient directement appliqués dans le plancher du 4V chez des rats anesthésiés. L'inhibition du métabolisme astrocytaire pendant la glucoprivation a aboli l'augmentation de la motilité gastrique (Hermann et al., 2014) et a également réduit l'élévation de la glycémie normalement induites par la glucoprivation (Rogers et al., 2016). Comme discuté dans la **section I.2.3.1**,p 81, cette augmentation de la motilité gastrique en réponse à la glucoprivation,

est attribuée à l'activité du DMNX, et en partie régulée par le tonus inhibiteur du NTS vers le DMNX, via un réflexe vago-vagal. En réalisant des enregistrements extracellulaires unitaires de neurones du CVD, ils ont noté que l'infusion de FC inhibait les neurones du NTS pour supprimer l'augmentation de la motilité gastrique (Hermann et al., 2014).

Leur travail a considérablement contribué à éclairer le rôle des astrocytes dans la réponse au 2DG, en proposant un circuit fonctionnel plausible expliquant comment ces cellules participeraient aux contre-régulations induites par l'hypoglycémie (Rogers & Hermann, 2019). Dans ce modèle, les astrocytes (voir **Figure 29**) :

1) Les astrocytes détectent des niveaux faibles de glucose

Le FC administré dans le 4V a, en effet, supprimé l'hyperglycémie induite par le 2DG, même lorsque celui-ci était administré par voie systémique (Rogers et al., 2016), ce qui suggère que les astrocytes du CVD sont capables de détecter les déficits en glucose, y compris ceux d'origine périphérique. Cette détection pourrait impliquer les transporteurs GLUT2, car leur blocage pharmacologique a aboli les réponses astrocytaires à la glucoprivation (Rogers et al., 2020).

2) Les astrocytes s'activent en réponse à des niveaux faibles de glucose

Récemment, les expériences de co-immunoprécipitation du même groupe ont révélé que GLUT2 peut se lier directement à la sous-unité de la protéine Gq. Ils proposent, avec d'autres auteurs (Stolarczyk et al., 2010), que GLUT2 pourrait à la fois agir comme un transporteur du glucose et comme un récepteur couplé aux protéines G. Cette double fonction permettrait de coupler les niveaux de glucose circulant à la libération de Ca^{2+} depuis les stocks du réticulum endoplasmique *via* un mécanisme impliquant la PLC et la voie de l'inositol 1,4,5-trisphosphate (IP3 ; Rogers et al., 2020).

Les approches *ex vivo* menées par le groupe sur des tranches de tronc cérébral ont permis de caractériser les réponses calciques de différentes populations cellulaires. Les astrocytes du NTS ont montré des élévations de $[Ca^{2+}]i$ particulièrement amples et rapides, notamment en réponse à des concentrations faibles de glucose (0,5 mM) ou à l'application de 2DG. Ces réponses persistaient en présence de tétrodotoxine, ce qui suggère qu'elles sont indépendantes de l'activité synaptique neuronale (McDougal et al., 2013). Rogers et al. (2018) ont également observé que les vagues calciques astrocytaires précédaient les réponses neuronales d'environ 30 secondes, renforçant l'idée d'un rôle initiateur des astrocytes.

3) Les astrocytes recrutent les neurones TH^+ du NTS par des purines

En réponse à la détection d'un faible taux de glucose, les astrocytes pourraient activer les neurones TH^+ (à tyrosine hydroxylase) du NTS par la libération de purines. En utilisant des tranches issues de souris transgéniques TH-GCaMP5, dans lesquelles le rapporteur calcique GCaMP5 est exprimé sélectivement dans les neurones catécholaminergiques, Rogers et collaborateurs ont confirmé que ces neurones du NTS répondaient bien à la glucopénie, mais que cette réponse était éliminée lors d'un prétraitement au FC, ce qui suggère que les astrocytes pourraient, au moins en partie, contacter ces neurones (Rogers et al., 2018).

Ce couplage neuro-glial pourrait impliquer la gliotransmission purinergique, c'est-à-dire une libération d'adénosine ou d'ATP convertie en adénosine dans le milieu extracellulaire. Cette hypothèse est appuyée par l'utilisation de bloqueurs des récepteurs aux purines qui reproduisent l'inhibition du métabolisme des astrocytes. *Ex vivo*, en infusant un cocktail de bloqueurs des récepteurs de l'adénosine avant l'infusion de 2DG, ils ont reproduit les effets du FC sur l'hyperglycémie (Rogers et al., 2016). Ils proposent que les récepteurs A1 de l'adénosine sont nécessaires pour l'augmentation de la glycémie induite par le 2DG (Rogers et al., 2016) et que les astrocytes agissent sur les récepteurs P2 et A2 des neurones catécholaminergiques du NTS en réponse au 2DG (Rogers et al., 2018). Les cibles des neurones TH pour médier les contre-régulations induites par une carence en glucose sont détaillées dans la **section I.2.3.3**, p 96.

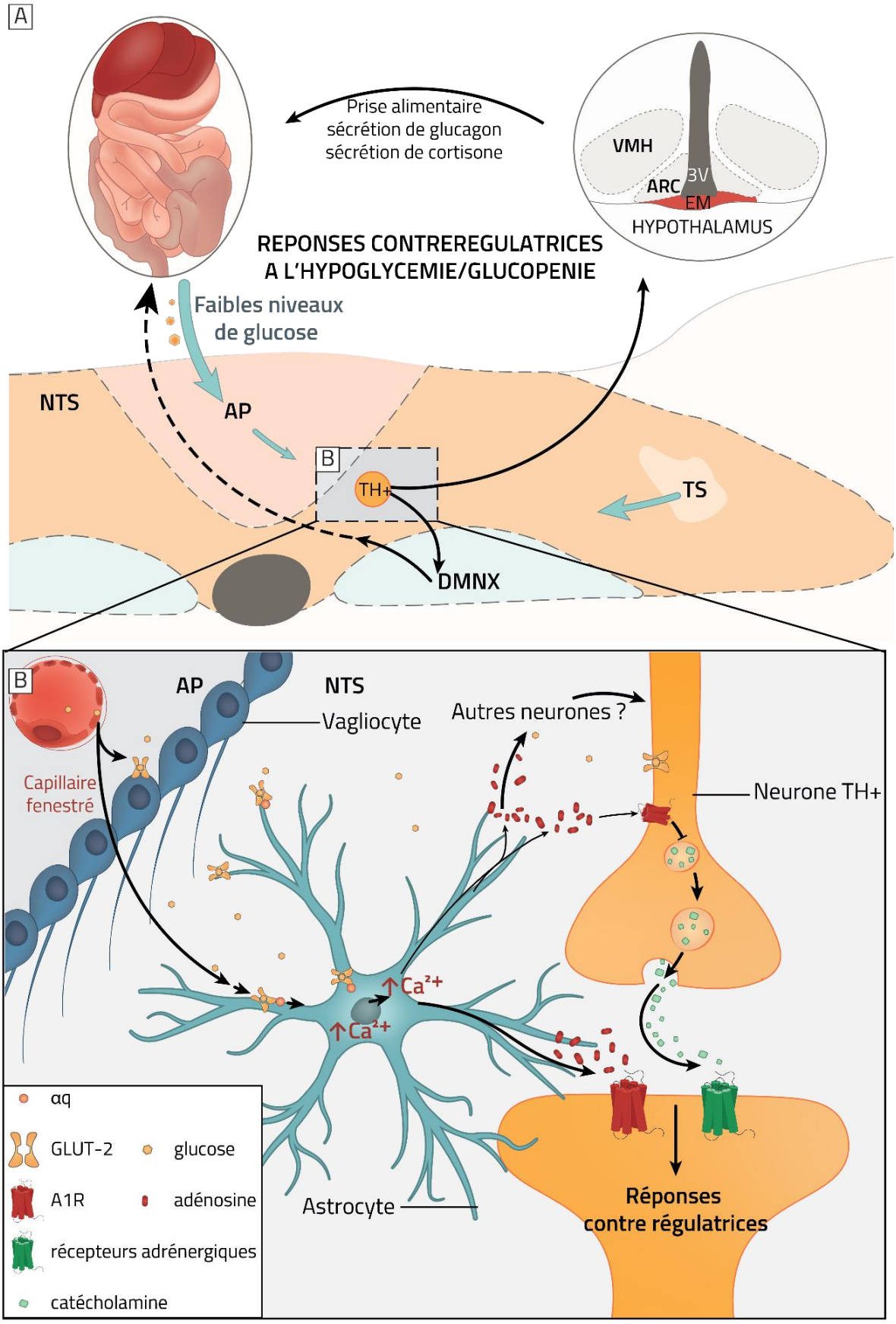


FIGURE 29 : RÔLE DES ASTROCYTES DU CVD DANS LA DÉTECTION DE LA GLUCOPÉNIE ET LES RÉPONSES CONTRE-RÉGULATRICES SUBSÉQUENTES

FIGURE 29 SUITE.

A. Le CVD est idéalement positionné pour accéder aux niveaux circulants de glucose en raison de sa proximité avec l'AP, une zone riche en capillaires fenestrés. Dans le NTS, en réponse à l'hypoglycémie, les neurones catécholaminergiques positifs pour la tyrosine hydroxylase (TH) déclenchent une réponse contre-régulatrice comprenant la sécrétion de glucagon et de corticostérone, l'augmentation de la prise alimentaire et du tonus sympathique (Madden et al., 2006). Le rectangle délimité par une ligne pointillée indique la zone représentée en **B**.
B. Les astrocytes du NTS expriment des transporteurs GLUT2, dont l'expression s'est avérée nécessaire pour la sécrétion de glucagon, l'activation neuronale, et l'augmentation de la prise alimentaire observées lors d'un déficit en glucose. La glucoprivation induit une augmentation du calcium intracellulaire dans les astrocytes du NTS, une réponse atténuée par le blocage de GLUT2. En retour, l'activation des astrocytes du NTS peut stimuler, *via* la libération d'adénosine, les neurones TH^+ et les circuits neuronaux en aval responsables des réponses contre-régulatrices. Une flèche supplémentaire dirigée vers d'autres populations neuronales reflète les découvertes récentes suggérant que l'activation astrocytaire pourrait également avoir un impact indirect ou modulateur sur les neurones catécholaminergiques.
Abréviations : **3V** : troisième ventricule ; **αq** : sous-unité d'une protéine G qui active la phospholipase C entraînant l'augmentation du calcium intracellulaire ; **A1R** : Récepteur de l'adénosine type 1 ; **AP** :Area postrema ; **ARC** : Noyau arqué de l'hypothalamus ; **DMNX** : Noyau moteur dorsal du nerf vague ;**EM** : Éminence médiane ;**GLUT2** : Transporteur de glucose type 2 ; **NTS** : Noyau du tractus solitaire ; **TH^+** : Neurone exprimant la Tyrosine Hydroxylase ; **TS** : tractus solitaire ; **VMH** : Hypothalamus ventromédian

❒ Controverse : les astrocytes, éléments clés mais non exclusifs des contre-régulations induites par la glucoprivation

Il est important néanmoins de souligner que ce circuit n'exclut pas la possibilité que les astrocytes soient indirectement activés par d'autres mécanismes associés à une carence en glucose, plutôt que par la détection directe de ce dernier. Comme discuté dans la **section I.3.1.2**, p 104, les astrocytes sont modulés par l'activité neuronale, ainsi que par le glutamate et la noradrénaline, abondamment libérés dans le CVD par les neurones résidents ou les afférences vagales (MacDonald et al., 2020; McDougal et al., 2011). De plus, d'autres variations pourraient signaler l'urgence d'une disponibilité métabolique insuffisante, comme une variation des niveaux d' O_2/CO_2 et du pH (Funk, 2010; Gourine et al., 2010; Kasymov et al., 2013).

Les résultats obtenus récemment par l'équipe d'Ellacott apportent aussi une nuance à la vision des astrocytes comme premiers glucodétecteurs médiant les contre-régulations induites par le 2DG (MacDonald et al., 2023). Dans leur étude, ils ont principalement utilisé des souris DVC:GFAPhM3Dq, qui ont reçu des injections bilatérales, dans le CVD, d'un vecteur viral adéno-associé (AAV) contenant le récepteur hM3Dq fusionné à un rapporteur fluorescent sous le contrôle du promoteur GFAP. Chez ces souris, des injections systémiques de CNO activent les astrocytes ayant incorporé les AAV.

Les auteurs ont émis l'hypothèse que si les astrocytes du CVD sont les capteurs primaires de la glucoprivation, alors leur activation pourrait, à elle seule, stimuler les circuits contre-régulateurs et induire des réponses typiques observées dans cette condition. Cependant, leurs résultats n'ont pas confirmé cette hypothèse. L'activation chémogénétique des astrocytes n'a pas entraîné d'augmentation de la glycémie, suggérant que la réponse astrocytaire n'est pas suffisante pour déclencher l'hyperglycémie observée lors de la glucoprivation. Cependant, cette activation a favorisé le métabolisme du glucose chez les souris femelles, suggérant que les astrocytes pourraient être nécessaires pour le maintien de l'homéostasie glucidique.

Une hypothèse alternative pourrait être que l'activation chémogénétique des astrocytes du CVD pourrait favoriser les réponses de contre-régulation induites par la glucoprivation. Les auteurs ont mesuré la prise alimentaire après une injection intrapéritonéale de 2DG pendant l'activation au CNO des astrocytes du CVD. L'hyperphagie induite par le 2DG était supprimée par l'activation des astrocytes du CVD, ce qui confirme l'hypothèse que les astrocytes pourraient être

importants en amont des circuits neuronaux contrôlant l'appétit. Toutefois, cette inhibition de la prise alimentaire était également observée lorsque l'activation astrocytaire n'était pas couplée à une glucoprivation, comme discuté dans la **section I.3.2.4.3**, p 128. Par ailleurs, alors que Rogers et al. (2018) ont observé, *ex vivo*, que 90 % des neurones TH-GCaMP5 du NTS répondaient au 2DG par des augmentations calciques, une réponse largement inhibée par le FC, MacDonald et al., (2023) n'ont rapporté qu'une faible proportion de neurones NTS TH^+ exprimant c-Fos suite à l'activation par le CNO des astrocytes. Leur observation suggère que les neurones NTS TH^+ ne sont pas activés de manière sélective par les astrocytes, qui contacteraient principalement d'autres populations neuronales. Bien que cette observation ne contredise pas leur implication dans les circuits de la glucoprivation, une forte activation des astrocytes pourrait être principalement associée au recrutement de circuits impliqués dans le contrôle de la prise alimentaire. L'activation des neurones suppresseurs de l'appétit pourrait masquer ou surpasser les signaux de glucoprivation.

Ainsi, les astrocytes pourraient intervenir dans la réponse à l'hypoglycémie ou à la glucoprivation, en particulier dans la sécrétion de glucagon (Marty et al., 2005) et l'augmentation de la motilité gastrique (Hermann et al., 2014). Ils sont probablement nécessaires mais pas suffisants pour induire une CRR (MacDonald et al., 2023). Leur contribution à d'autres réponses induites par la glucopénie reste moins claire, notamment l'augmentation de la prise alimentaire, la libération d'adrénaline ou de cortisol.

I.3.2.4.3 - Prise alimentaire

Comme souligné dans les sections précédentes, les astrocytes du CVD jouent un rôle essentiel dans la détection du glucose et le déclenchement des réponses contre-régulatrices induites par la glucoprivation. Ils participent également à la modulation de la transmission glutamatergique à l'interface entre les afférences vagales et les neurones de premier ordre du NTS (**Figure 28**), une transmission influencée par des peptides anorexigènes tels que le GLP-1 et la CCK. De ce fait, les astrocytes du CVD apparaissent comme des acteurs clés potentiels dans le contrôle de la prise alimentaire (PA, **Figure 30**).

L'étude de MacDonald et al. (2020) a confirmé l'implication de ces astrocytes dans la régulation homéostatique de la PA. En utilisant une approche basée sur des DREADD (récepteurs exclusivement activés par des médicaments synthétiques comme la clozapine-N-oxyde, ou CNO), ils ont activé les astrocytes du CVD de manière ciblée et ont observé les effets sur le comportement alimentaire des souris. L'activation de ces astrocytes par le CNO a non seulement réduit la PA, mais a également ralenti la reprise de poids après un jeûne de 12 heures. En parallèle, cette activation a augmenté l'activité des réseaux locaux, attestée par une expression accrue de c-Fos.

Cependant, les mécanismes moléculaires responsables de ces effets restent largement inconnus. Plusieurs questions demeurent : quelles sont les voies de signalisation impliquées dans la régulation de l'activité gliale dans le CVD ? Quelles sont les substances libérées par les cellules gliales capables de moduler l'activité des circuits neuronaux responsables de la PA? Bien que quelques pistes commencent à émerger, les connaissances actuelles ne permettent pas de répondre à ces interrogations.

- ❒ **Sensibilité des astrocytes aux signaux anorexigènes.**

Il est probable que les signaux d'adiposité, ainsi que certains peptides anorexigènes d'origine intestinale (voir **Tableau 3**), induisent une activation endogène des astrocytes du CVD.

En 2016, Reiner et ses collègues ont examiné si la modulation de la signalisation glutamatergique – essentielle dans les effets anorexigènes du GLP-1 – pouvait également impliquer les astrocytes (Reiner et al., 2016). Le GLP-1 exerce ses effets satiétogènes principalement via les récepteurs GLP-1R exprimés dans le CVD, comme détaillé précédemment dans la **section I.2.3.2**, p 86. Les auteurs ont observé que le fluoro-exendin 4, un agoniste fluorescent du GLP-1R, administré dans le 4V ou par voie intrapéritonéale chez des rats, était capté non seulement par les neurones du NTS, mais aussi par les astrocytes. En utilisant des techniques d'imagerie calcique sur des tranches de TCc *ex vivo*, ils ont observé qu'environ 40 %

des astrocytes marqués par le colorant SR101 dans le NTS répondaient à l'exendin 4 par une augmentation de $[Ca^{2+}]_i$, une observation qui a ensuite été confirmée par Marina et al. (2018). Pour tester si cette réponse des astrocytes était liée aux effets anorexigènes de la signalisation des GLP-1R, Reiner et son équipe ont utilisé le fluoroacétate (FAC) pour inhiber le métabolisme astrocytaire dans la région médiane du NTS. Cette inhibition a aboli les effets anorexigènes de l'exendin 4. Ces résultats constituent les premières preuves que les astrocytes du NTS jouent un rôle causal dans les effets anorexigènes induits par l'activation des récepteurs GLP-1R.

Plus récemment, une étude menée sur des souris traitées avec du sémaglutide, un autre agoniste des GLP-1R, a révélé d'importantes modifications transcriptionnelles dans les astrocytes du CVD grâce au séquençage d'ARN de noyaux uniques (snRNA, Ludwig et al., 2021; Ludwig et al., 2021). Cependant, ces effets pourraient être indirects, liés à l'activation des neurones exprimant des GLP-1R, car la présence de ces récepteurs dans les astrocytes est encore débattue. En effet, l'expression du GLP-1R n'a pas été détectée dans les astrocytes du CVD par les méthodes de séquençage snRNA (Dowsett et al., 2021; Ludwig et al., 2021; Ludwig et al., 2021), bien que ces techniques ne soient pas conçues pour démontrer son absence (Dowsett et al., 2021). De plus, chez des souris GLP-1R-GFP, aucune expression de GFP n'a été rapportée dans les astrocytes du CVD, renforçant ainsi les incertitudes (Cork et al., 2015). Cependant, d'autres travaux apportent un éclairage différent. Timper et ses collègues (2020) ont apporté des preuves convaincantes de l'expression des GLP-1R dans les astrocytes du NTS. Dans une première série d'expériences, ils ont utilisé l'immunohistochimie de la protéine GFAP couplée à la détection de l'ARN messager (ARNm) du GLP-1R *via* RNA-Scope. Dans un deuxième protocole, ils ont étudié la capture du Liraglutide594, un agoniste fluorescent des GLP-1R, chez des souris sauvages, avec des souris knock-out pour le GLP-1R, servant de contrôles négatifs. En plus de l'expression des GLP-1R dans les astrocytes du CVD, les auteurs ont également observé cette expression dans les astrocytes de plusieurs autres régions cérébrales, le PVN, l'hippocampe et l'ARC. Cependant, leur étude s'est principalement concentrée sur les astrocytes de l'ARC et elle n'a pas exploré en détail la contribution des GLP-1R exprimés dans les astrocytes du CVD. Dans des cultures d'astrocytes hypothalamiques soumises à une privation de glucose, l'activation des récepteurs GLP-1R a révélé une réduction de l'absorption du glucose ainsi qu'une stimulation de la β-oxydation, suggérant un ajustement du métabolisme énergétique des astrocytes. À l'inverse, les cultures provenant de souris knock-out pour le GLP-1R ont montré une perturbation de la phosphorylation oxydative mitochondriale. Cette altération s'accompagnait d'une augmentation compensatoire de l'absorption de glucose et déclenchait une réponse au stress cellulaire, caractérisée par une expression accrue du facteur de croissance des fibroblastes 21 (FGF21). Les mêmes auteurs ont caractérisé une nouvelle lignée de souris en réalisant une délétion du GLP-1R dans les astrocytes à un stade post-natal (Timper et al., 2020). Bien que ces souris aient conservé une homéostasie énergétique normale, elles ont présenté une amélioration significative de l'homéostasie systémique du glucose. Cette amélioration a été atténuée par la suppression, dans les astrocytes, du FGF21. Timper et ses collaborateurs ont conclu que la réponse au stress cellulaire observée dans les astrocytes hypothalamiques, après la délétion du GLP-1R, conduit *in vivo* à une amélioration de l'homéostasie du glucose, médiée par le FGF21. Ces résultats soulignent l'importance de la signalisation endogène en aval du GLP-1R dans les astrocytes, particulièrement pour maintenir la flexibilité métabolique des mitochondries. Toutefois, les auteurs n'ont pas évalué l'impact du sémaglutide chez des souris dépourvues d'expression du GLP-1R dans les astrocytes. Cela laisse une zone d'ombre sur le rôle précis de ce récepteur dans les mécanismes anorexigènes associés à son activation.

En parallèle, les astrocytes du CVD pourraient également être modulés par la leptine, une autre hormone anorexigène. Il y a quelques années, notre équipe a rapporté l'expression des isoformes du récepteur de la leptine (LepR) dans les cellules gliales du CVD chez le rongeur adulte (Dallaporta et al., 2009). En plus de la présence de marquage LepR dans les neurones du NTS et du DMNX, précédemment décrite par Buyse et al. (2001), nous avons également observé cette expression dans les astrocytes du CVD et les vagliocytes. En utilisant des cultures primaires d'astrocytes, nous avons découvert que tous les transcrits codant pour les isoformes membranaires du LepR étaient exprimés dans ces cellules gliales issues du CVD (Dallaporta et al.,

2009). À cette même période, Hsuchou et al. (2009) ont révélé l'expression des LepR dans les cellules gliales hypothalamiques et la fonctionnalité de ces récepteurs a été confirmée par l'induction de signaux calciques en réponse à l'application de leptine dans des cultures primaires d'astrocytes hypothalamiques. Plus récemment, l'étude de Stein et al. (2020) a confirmé l'expression de LepR par les astrocytes et les neurones du CVD. Ils ont montré qu'environ la moitié des neurones et des astrocytes du CVD chez les rats répondaient à la leptine, et que la réponse anorexigène à une injection intracérébroventriculaire de leptine était diminuée après un prétraitement au FC. Ces résultats, déjà discutés dans la **section I.3.2.1 -**, p 115 renforcent l'idée que les astrocytes du CVD jouent un rôle clé dans la modulation des signaux métaboliques médiés par la leptine.

Bien que ces études aient apporté des preuves intéressantes, il reste incertain que l'activation des astrocytes soit directement responsable des effets anorexigènes en aval des récepteurs GLP-1R ou LepR. En effet, l'utilisation du FC, qui inhibe spécifiquement le métabolisme des astrocytes, pourrait également avoir des répercussions sur le métabolisme neuronal ou la transmission glutamatergique dans le CVD. Cela pourrait ainsi contribuer aux effets anorexigènes observés, indépendamment d'une activation spécifique des astrocytes. Sans une exploration plus approfondie des mécanismes de communication entre les astrocytes et les neurones, cette hypothèse ne peut être exclue. Néanmoins, les connaissances actuelles sur les substances neuroactives potentiellement libérées par les cellules gliales du CVD, et leur implication dans la modulation de la PA, demeurent fragmentaires. Une meilleure compréhension de la physiologie des cellules gliales dans le CVD et des interactions neurogliales dans cette région sera nécessaire afin d'élucider le rôle spécifique des astrocytes dans la régulation des signaux anorexigènes *via* les récepteurs GLP-1R et LepR.

❒ Gliotransmission ?

Il est raisonnable de penser que les cellules gliales du CVD peuvent libérer des substances neuroactives, comme le glutamate, l'ATP ou la D-sérine, traditionnellement associées à la signalisation gliale dans d'autres régions du SNC (Petrelli & Bezzi, 2016). Par exemple, la libération d'ATP par les astrocytes du NTS en réponse à la stimulation du tractus solitaire a été décrite, et participerait à la modulation des afférences vagales (Accorsi-Mendonça et al., 2013, **Figure 28**). Certains gliotransmetteurs sont connus pour moduler l'équilibre énergétique lorsqu'ils sont administrés de manière centrale (Colldén et al., 2010; Kittner et al., 2006; Stanley et al., 2011). Toutefois, le rôle exact des gliotransmetteurs libérés par les astrocytes du CVD dans le contrôle de la PA reste à démontrer. De plus, la manière dont les signaux métaboliques influencent la libération potentielle de ces composés reste une question ouverte.

En plus des gliotransmetteurs classiques comme l'ATP, les endozépines apparaissent comme des candidats prometteurs dans le contrôle de la PA. Les endozépines forment une famille de peptides qui comprend l'inhibiteur de liaison au diazépam/protéine de liaison à l'acyl-CoA (DBI/ACBP) et ses fragments dérivés tels que le triakontatétraneuropeptide (TTN) et l'octadécaneuropeptide (ODN). Le DBI/ACBP est sécrété via une voie non conventionnelle impliquant les protéines associées au Golgi, le processus d'autophagie, ainsi que des récepteurs solubles de type t-SNARE (facteurs sensibles à l'éthylmaléimide). Ses fragments dérivés sont des ligands endogènes bien connus des récepteurs aux benzodiazépines (BZ ; voir Tonon et al., 2020 pour revue). Les endozépines pourraient jouer un rôle clé en tant que modulateurs endogènes de l'équilibre énergétique, notamment *via* leur action hypothalamique (Lebrun et al., 2021; Tonon et al., 2020). Par exemple, l'injection intracérébroventriculaire (icv) d'ODN a montré une réduction dose-dépendante de la PA chez des rongeurs, qu'ils soient en condition de jeûne ou nourris *ad libitum* (Bouyakdan et al., 2019; do Rego et al., 2007; Garcia de Mateos-Verchere et al., 2001; Guillebaud et al., 2020; Lanfray et al., 2013). Dans le SNC, l'expression du DBI/ACBP est principalement observée dans les astrocytes, les épendymocytes, et les tanycytes (Bouyakdan et al., 2015; Lanfray et al., 2013; Tonon et al., 2020). Notre équipe a également montré une forte expression gliale de l'ODN dans le tronc cérébral, en particulier dans le *funiculus separens* et le NTS (Guillebaud et al., 2017). De plus, l'injection du C-terminal octapeptide de l'ODN (OP) dans le 4V a réduit la PA et induit une activation spécifique des neurocircuits du CVD. Nous avons

également observé que le réflexe de déglutition, élément essentiel du processus d'ingestion et contrôlé par le NTS, est temporairement inhibé par l'OP (Guillebaud et al., 2017) ce qui renforce l'idée que les endozépines pourraient également réguler la PA au niveau du tronc cérébral, en plus de leur action dans l'HYP.

I.3.2.4.4 - Pathologie

Au-delà des lacunes persistantes dans notre compréhension des interactions neurogliales au sein du CVD et de leur rôle dans le contrôle de la PA, les données disponibles restent également parcellaires quant à la fonction des astrocytes dans le contexte de l'obésité et du diabète. Des perturbations du compartiment astrocytaire pourraient altérer la sensibilité aux signaux métaboliques, influençant ainsi à la fois la prise de poids et l'apparition d'une résistance à l'insuline en réponse à un régime obésogène (**Figure 30**).

❒ **Régime obésogène prolongé**

Dans un contexte de déséquilibre métabolique prolongé, induit par huit semaines d'exposition à un régime riche en graisses (HFD), Stein et al. (2020) ont observé une réduction significative de la couverture GFAP dans le CVD. À l'inverse, une astrogliose marquée a été observée chez les rats Zucker obèses et diabétiques, dépourvus de récepteurs à la leptine (LepR). Ce contraste est particulièrement intéressant car, chez les rats nourris avec un régime standard, l'inhibition des astrocytes du CVD atténuait les effets anorexigènes de la leptine. En revanche, cette inhibition devenait inefficace après huit semaines de régime HFD. Ces résultats suggèrent qu'un excès calorique prolongé, associé à l'obésité ou au diabète, peut induire une altération durable du compartiment astrocytaire. Une telle modification de la couverture gliale pourrait compromettre la réponse aux signaux métaboliques, comme la leptine, et perturber ainsi la régulation de la balance énergétique.

Parallèlement, deux études récentes ont examiné comment les altérations métaboliques dans les astrocytes affectent la balance énergétique lors d'une exposition prolongée à un régime HFD, souvent associé à une résistance à l'insuline. La résistance à l'insuline, une caractéristique clé du diabète de type 2 et de l'obésité, est généralement observée dans les organes périphériques comme le foie, les muscles et le tissu adipeux, mais se manifeste également dans le SNC, contribuant ainsi au développement de ces pathologies (Kahn, 1998). Elle est notamment associée à une inflammation accrue (Cai et Khor, 2019) et à une dysfonction mitochondriale (Jin & Diano, 2018). Les mitochondries changent de morphologie en réponse aux demandes énergétiques (Jheng et al., 2012) : la fusion mitochondriale augmente lors de besoins énergétiques élevés pour produire plus d'ATP, tandis qu'un excès d'énergie favorise la fission mitochondriale, réduisant l'activité mitochondriale (Gao et al., 2014). Parmi les protéines régulant cette dynamique, la protéine liée à la dynamine 1 (Drp1) est particulièrement notable (I. D. Cooper et al., 2021). Une activité accrue de Drp1 entraîne une fission mitochondriale, associée à l'obésité induite par un HFD et à la résistance à l'insuline (Jheng et al., 2012). Par opposition, la suppression de Drp1 dans le foie empêche la résistance à l'insuline induite par un HFD chez la souris (Wang et al., 2015). Ces dynamiques mitochondriales sont également présentes dans les neurones hypothalamiques, une altération de cette dynamique peut affecter le comportement alimentaire et le métabolisme du glucose (Jin & Diano, 2018; Santoro et al., 2017; Schneeberger et al., 2013).

Filippi et al. (2017) ont rapporté qu'un HFD induit une altération de l'expression de Drp1 dans le CVD. En utilisant une expression médiée par adénovirus d'une forme constitutivement inactive de Drp1, le même groupe a élégamment démontré que l'inhibition de Drp1 dans le CVD protège contre le développement de la résistance à l'insuline induite par un HFD, tout en réduisant la prise de poids et la consommation alimentaire (Patel et al., 2021). À l'inverse, l'expression d'une forme constitutivement active de Drp1 dans le CVD chez des souris saines suffisait à induire une résistance à l'insuline, une hyperphagie et une prise de poids. Patel et al. (2021) ont démontré que l'inhibition spécifique de la fission mitochondriale dans les astrocytes du CVD exprimant la GFAP est suffisante pour réduire la PA et la prise de poids chez des souris nourries avec un HFD. Fait intéressant, ils ont également rapporté que l'inhibition de la fission mitochondriale dans ces astrocytes empêche le développement de la résistance à l'insuline induite par le HFD.

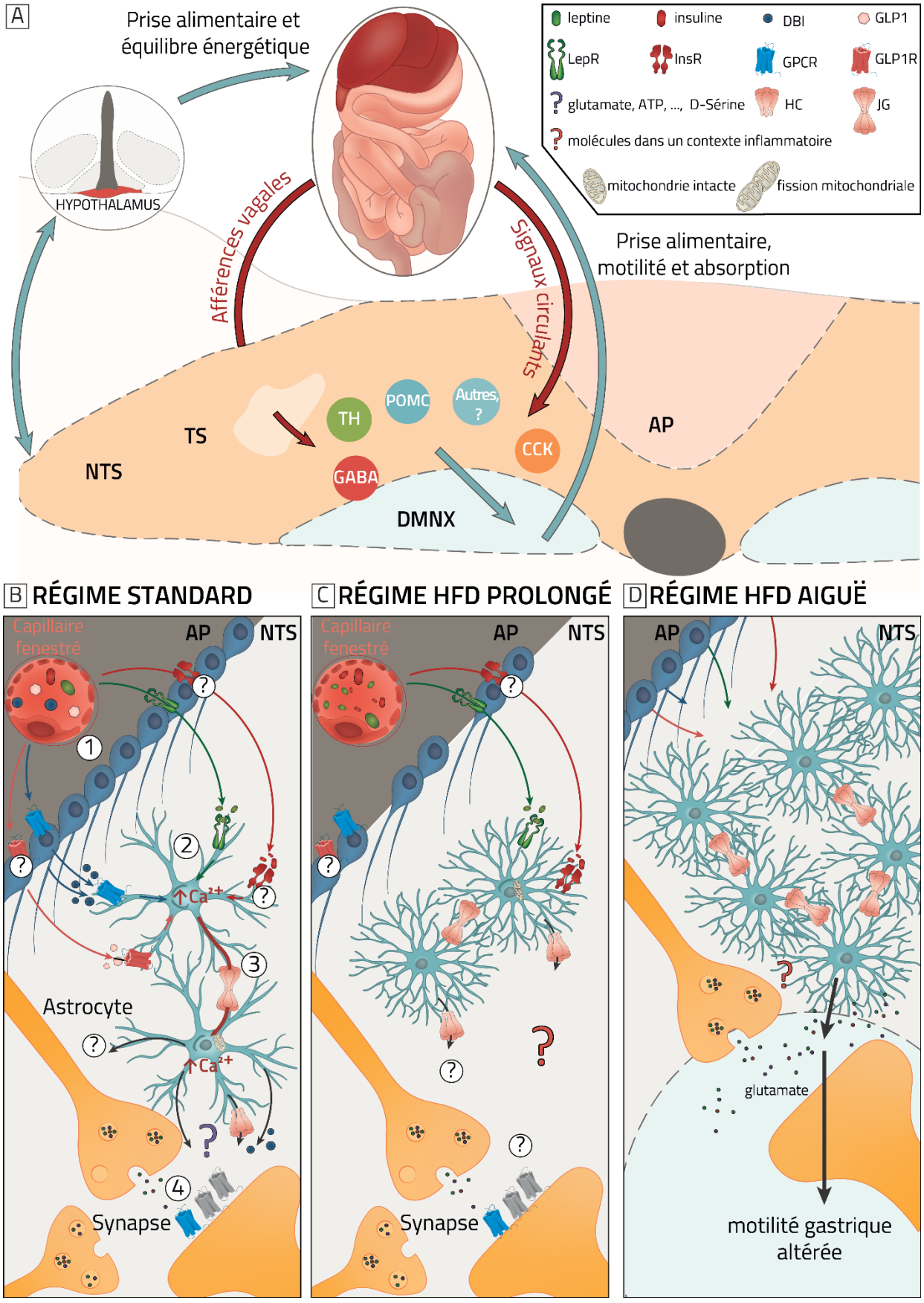


FIGURE 30 : REPRÉSENTATION SIMPLIFIÉE DU RÔLE DES ASTROCYTES DU CVD DANS LE CONTRÔLE DE LA PRISE ALIMENTAIRE ET DES FONCTIONS GASTRO-INTESTINALES

FIGURE 30 SUITE.

A. Schéma illustrant le rôle du CVD dans la régulation de la prise alimentaire, des fonctions gastro-intestinales et de l'équilibre énergétique. Différentes populations neuronales du NTS/AP intègrent les signaux métaboliques périphériques véhiculés à la fois par le nerf vague et le sang (flèches rouges). Ces informations sont ensuite relayées par des signaux efférents dirigés vers l'hypothalamus et le tractus gastro-intestinal pour ajuster l'équilibre énergétique (flèches bleues). **B.** Dans un contexte d'alimentation standard, ① des signaux métaboliques impliqués dans l'équilibre énergétique, tels que la leptine, l'insuline, le DBI et le GLP-1, sont susceptibles de traverser la barrière gliale située à l'interface entre l'AP et le parenchyme du NTS. ② Les astrocytes du NTS, localisés à proximité de l'AP, peuvent intégrer ces signaux grâce aux récepteurs qu'ils expriment. Cette intégration déclenche des réponses calciques dans les astrocytes détecteurs. ③ Les ondes calciques ainsi que d'autres métabolites sont ensuite transférés au sein du réseau d'astrocytes interconnectés par des jonctions communicantes. ④ Les astrocytes ont également la capacité de libérer des molécules, notamment par l'intermédiaire des hémicanaux (HC), bien que la nature exacte des gliotransmetteurs libérés reste largement inconnue. **C.** Lors d'une exposition prolongée à un régime enrichi en graisses (HFD), une réduction de la couverture gliale (astrocytes et vagliocytes) a été observée. Cette diminution pourrait représenter une réponse homéostatique au surplus de leptine (Stein et al., 2020). Ces modifications morphologiques pourraient altérer les interactions neurogliales et contribuer à une modulation de la prise alimentaire et de l'équilibre énergétique.
D. Dans les 10 premiers jours suivant l'introduction d'un régime HFD, une augmentation significative de l'expression de la GFAP et du nombre de prolongements astrocytaires est observée, témoignant d'une réactivité gliale accrue. Cette réorganisation morphologique est associée à la plasticité synaptique induite par le régime HFD, particulièrement au niveau de la synapse entre le NTS et le DMNX. L'activation des astrocytes au début de l'exposition au régime HFD est nécessaire pour l'activation des récepteurs NMDA des neurones du DMNX. Cette activation pourrait jouer un rôle clé dans l'ajustement précoce de la prise alimentaire en réponse à un surplus calorique (Clyburn et al., 2023).
Abréviations : **AP** : *area postrema* ; **ATP** : adénosine triphosphate ; **DBI** : inhibiteur de liaison au diazépam/protéine de liaison à l'acyl-CoA, un peptide de la famille des endozépines ; **DMNX** : noyau moteur du nerf X ; **GLP-1** : glucagon-like peptide-1 ; **GLP-1R** : récepteur au GLP-1 ; **GPCR** : récepteur couplé aux protéines G ; **HC** : hémicanal ou connexon ; **InsR** : récepteur à l'insuline ; **JC** : jonctions communicantes ; **LepR** : récepteur à la leptine ; **NTS** : noyau du tractus solitaire ; **TS** : tractus solitaire.

Cependant, la manière dont ces changements de la fission mitochondriale dans les astrocytes du CVD affectent la sensibilité à l'insuline et les réponses neuronales reste une question ouverte.

❒ Exposition aiguë à un régime HFD

Les astrocytes du CVD montrent une réactivité marquée dès les premières heures d'exposition à un régime riche en graisses. MacDonald et al. (2020) ont démontré que, dès 12 heures d'exposition au HFD, les souris présentaient une augmentation significative du nombre d'astrocytes $GFAP^+$, ainsi qu'une complexité accrue de leurs prolongements, par rapport aux souris maintenues sous régime standard. Ces modifications étaient particulièrement notables dans les régions du NTS proches de l'AP. De manière complémentaire, Clyburn et al. (2023) ont également rapporté une activation astrocytaire en réponse à une exposition aiguë au HFD. Cette activation se traduisait par une intensité accrue du marquage GFAP dans le NTS et le DMNX, observée aux jours 3 et 5 d'exposition. Toutefois, cette activation revenait à des niveaux basaux après 14 jours, suggérant une réponse transitoire des astrocytes aux premières phases d'ajustement calorique, précédent l'installation de perturbations énergétiques durables.

Parallèlement à ces changements astrocytaires, les rongeurs soumis à un HFD traversent une phase initiale d'hyperphagie suivie, après 3 à 5 jours, d'une réduction de la PA traduisant un

rééquilibrage calorique. Cette période d'adaptation rapide est associée à une neuroplasticité à court terme au sein des synapses reliant le NTS au DMNX, contribuant à l'ajustement homéostatique précoce au régime HFD. Dans des conditions physiologiques, les neurones du NTS influencent les neurones du DMNX par une transmission principalement inhibitrice (GABAergique), mais aussi excitatrice (glutamatergique) *via* des récepteurs ionotropiques du glutamate de type AMPA. Dans ce contexte, les récepteurs NMDA sont habituellement peu actifs. L'exposition aiguë à un HFD induit une activation accrue des récepteurs NMDA au niveau du compartiment postsynaptique des neurones du DMNX projetant vers l'estomac. Cette activation accroît l'excitabilité des neurones du DMNX, ce qui stimule la motilité gastrique *via* le nerf vague et participe à l'ajustement homéostatique face au surplus calorique induit par le HFD (Clyburn et al., 2018, 2021).

Il est donc plausible que la réorganisation morphologique des astrocytes contribue aux adaptations synaptiques à court terme entre le NTS et le DMNX, contribuant à la régulation de la prise calorique. Clyburn et ses collaborateurs (2021) ont apporté des preuves en faveur de cette hypothèse. Ils ont démontré que l'activation accrue des récepteurs NMDA des neurones du DMNX au niveau des synapses NTS-DMNX, induite par un HFD, dépendait de l'activation de récepteurs NMDA extrasynaptiques. Le blocage chronique des récepteurs NMDA extrasynaptiques dans le TCc réduisait le retard de vidange gastrique induit par le HFD et diminuait l'adaptation homéostatique au régime HFD sur une période de 3 à 5 jours. Ces récepteurs extrasynaptiques provoqueraient une dépolarisation locale suffisante pour lever le blocage par des ions Mg^{2+} des récepteurs NMDA synaptiques, augmentant ainsi l'excitabilité neuronale. Il est important de noter que, dans la même étude, il a été démontré que le HFD activait au maximum les récepteurs NMDA extrasynaptiques, et que cet effet pouvait être reproduit par le blocage du transporteur EAAT2 chez des rats nourris avec un régime standard (Clyburn et al., 2021). En modulant la disponibilité du glutamate par les GLT-1/EEAT2 et en répondant au glutamate, les astrocytes du CVD pourraient donc affecter l'excitabilité des neurones du DMNX lors de l'exposition aiguë à un HFD. Cette contribution des astrocytes dans la réponse adaptative au HFD est soutenue par les travaux récents du même groupe.

Dans leur étude plus récente, Clyburn et al. (2023) ont montré que l'inhibition du métabolisme astrocytaire, soit par l'administration de FAC dans le 4V, soit par une inhibition chémogénétique (DREADD) ciblant les astrocytes $GFAP^+$ du CVD, conduit à une augmentation significative de l'apport calorique durant la phase aiguë d'exposition au HFD (3 à 5 jours), par rapport aux animaux témoins, témoignant de la perte d'adaptation précoce au surplus calorique. L'inhibition chémogénétique des astrocytes était également associée à une atténuation du tonus gastrique.

Sur le plan mécanistique, les auteurs fournissent des preuves que l'activation des astrocytes lors de l'initiation du régime HFD est nécessaire pour l'activation des récepteurs NMDA des neurones du DMNX. Ils suggèrent que l'activation de ces récepteurs est médiée par la libération de glutamate et de purines par les astrocytes. Ces gliotransmetteurs agissent sur les récepteurs métabotropiques du glutamate (mGluR) et les récepteurs purinergiques (P2X) exprimés par les neurones du DMNX pour augmenter leur excitabilité et faciliter l'activation des récepteurs NMDA synaptiques en levant leur blocage par le Mg^{2+}. Cette hypothèse est étayée par leurs enregistrements électrophysiologiques *in situ* réalisés sur des tranches de TCc de souris soumises à un HFD aigu, avec inhibition astrocytaire induite chémogénétiquement (DREADD) ou pharmacologiquement (avec le FAC). L'inhibition des astrocytes diminuait la fréquence des courants post-synaptiques excitateurs (EPSC) dans les neurones du DMNX après une exposition aiguë au HFD. De plus, le blocage supplémentaire avec l'AP5, un antagoniste des récepteurs NMDA, n'avait plus d'effet lors de l'inhibition des astrocytes, suggérant que l'activation des récepteurs NMDA dans les neurones du DMNX dépend de l'activité astrocytaire. Les auteurs ont également examiné l'effet de l'application d'agonistes ou d'antagonistes des mGluR et des P2X sur l'efficacité de la synapse NTS-DMNX. Ils ont constaté que l'application combinée d'agonistes de ces récepteurs reproduisait l'activation des récepteurs NMDA lors de l'inhibition des astrocytes. Individuellement, ces agonistes n'activaient les récepteurs NMDA que dans une minorité de

neurones. À l'inverse, l'antagonisme de ces récepteurs empêchait l'AP5 de réduire la transmission glutamatergique, confirmant leur rôle dans l'activation des récepteurs NMDA.

Bien que ces résultats soient prometteurs, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces mécanismes. Les auteurs proposent, par exemple, de supprimer spécifiquement les récepteurs NMDA dans les astrocytes afin de vérifier leur implication directe. Par ailleurs, l'activation artificielle des astrocytes par chémogénétique pourrait permettre de déclencher une libération de neurotransmetteurs, ce qui aiderait à évaluer précisément leur rôle. Ces expériences complémentaires contribueraient à confirmer la participation des astrocytes Ces expériences complémentaires permettraient de confirmer l'implication des astrocytes dans les adaptations neuroplastiques liées à une exposition aiguë à un régime riche en graisses, et potentiellement dans les ajustements précoces de la PA face à un surplus calorique.

I.3.3 - Réseaux astrocytaires et communication via la connexine 43

Parmi l'éventail d'outils dont disposent les astrocytes pour communiquer entre eux, avec d'autres cellules gliales et avec les neurones, j'ai choisi de concentrer mon projet de thèse sur les connexines (Cx) gliales avec une attention particulière portée sur la connexine 43 (Cx43). Ce choix a été en partie guidé par la forte expression de cette connexine dans l'HYPmb et le TCc. Les connexines constituent une famille de protéines pouvant s'assembler en hexamères pour former des hémicanaux (HC) insérés dans la membrane plasmique et permettant un échange bidirectionnel de petites molécules hydrosolubles. Les HC de cellules adjacentes peuvent s'associer en canaux intercellulaires (ou canaux de jonctions communicantes, CJC) regroupés dans les jonctions communicantes (JC) qui permettent la formation de syncytiums fonctionnels cellulaires.

I.3.3.1 - Généralités sur les Connexines, hémicanaux et jonctions communicantes

I.3.3.1.1 - Connexines et Connexine 43

Les connexines (Cx) constituent une famille de protéines présentes chez les vertébrés, à la base de la communication intercellulaire à travers les jonctions communicantes (JC) et à travers les hémicanaux (HC). Les Cx sont nommées en fonction de leur masse moléculaire prédite, allant de 23 kDa (Cx23) à 57 kDa (Cx57). Elles sont codées par les gènes "*GJ*" selon la classification établie par Beyer en 1987 (Beyer & Berthoud, 2018; Söhl & Willecke, 2003). Ces protéines sont généralement regroupées en cinq sous-familles (α, β, γ, δ et ε ou GJA, GJB, GJC, GJD et GJE), basées sur des similarités dans les séquences géniques et la structure des protéines (Beyer & Berthoud, 2018; Cruciani & Mikalsen, 2006; Eiberger et al., 2001). La Cx43 est la plus répandue et de loin la mieux caractérisée, codée par le gène *Gja1* appartenant à la famille α (Scemes & Giaume, 2006). La Cx43 est aussi la plus ubiquitaire, distribuée dans 35 tissus, organes et types cellulaires différents, notamment les cardiomyocytes, les kératinocytes de la cavité orale, les cellules épithéliales de l'œsophage et de l'estomac, les muscles lisses de la sphère gastro-intestinale et le SNC (Laird, 2006).

La Cx43 partage une topologie commune avec les autres membres de la famille des Cx, ainsi qu'avec des familles de protéines proches telles que les innexines et les pannexines. Cette protéine possède une extrémité N-terminale courte et cytoplasmique, quatre domaines transmembranaires séparés par une boucle intracellulaire, et deux boucles extracellulaires (Scemes et al., 2009). Les boucles extracellulaires sont les portions les plus conservées des Cx, et indispensables à la formation des CJC (Söhl & Willecke, 2004). L'extrémité C-terminale de la Cx43 correspond à un domaine cytoplasmique, peu conservé au sein de la famille. Chez la Cx43, ce domaine est de grande taille et peut être la cible de modifications post-traductionnelles. Ces

modifications influencent la formation des JC, leur perméabilité et leur stabilité, jouant ainsi un rôle crucial dans la régulation de la communication cellulaire (Söhl & Willecke, 2004).

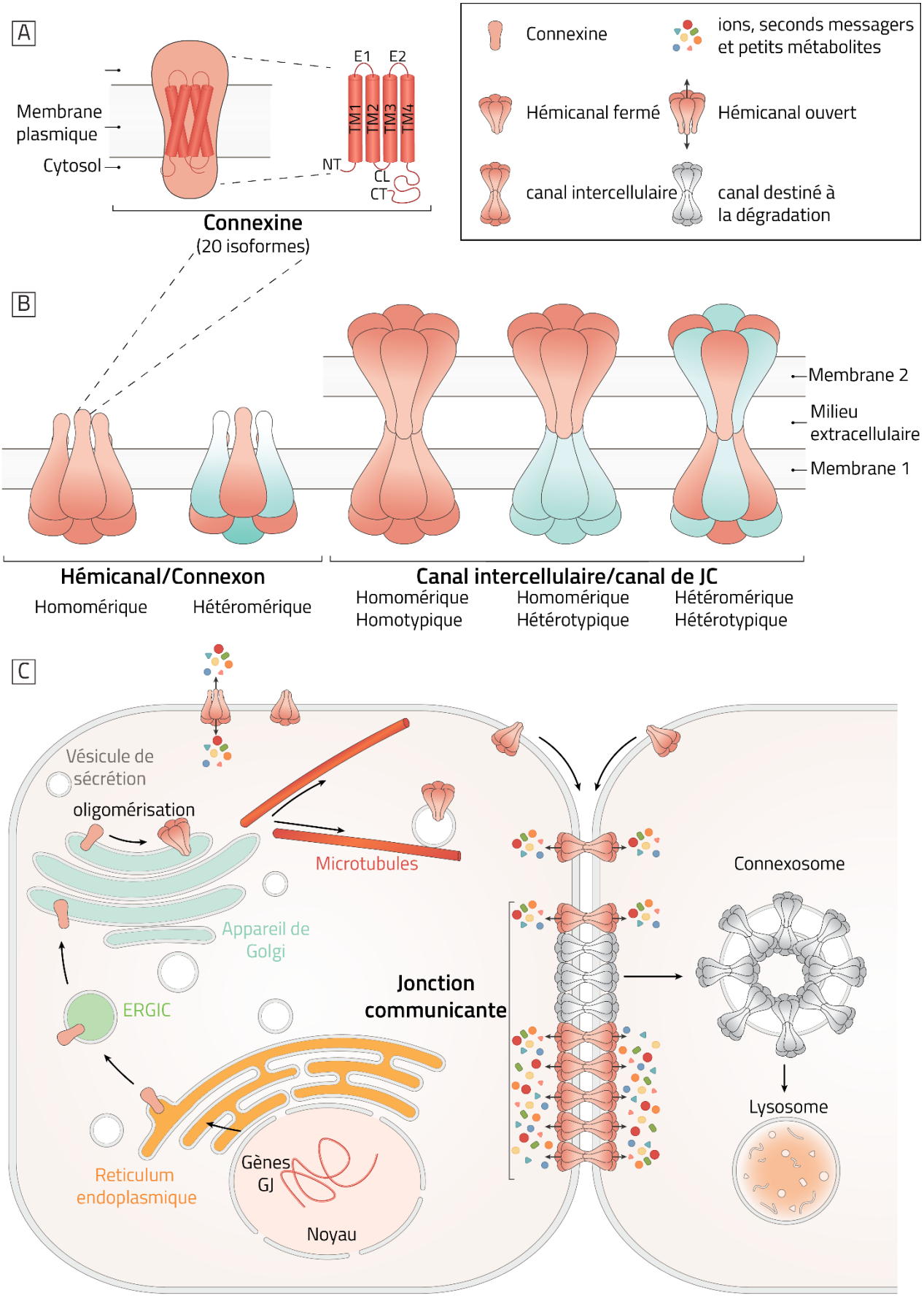


FIGURE 31 : TOPOLOGIE ET CYCLE DE VIE DES CONNEXINES

Schéma adapté de (Lucaciu et al., 2023).

FIGURE 31 SUITE.

A. Structure des connexines. Les connexines sont des protéines membranaires intégrales avec quatre domaines transmembranaires, deux boucles extracellulaires, une boucle intracellulaire et des extrémités N- et C-terminales cytoplasmiques. La connexine 43 (Cx43), en particulier, est caractérisée par une queue C-terminale (CT) longue, qui constitue un site de modifications post-traductionnelles jouant un rôle crucial dans la régulation de sa fonction et de sa stabilité.
B. Assemblage des connexons et formation des jonctions communicantes. Les connexines s'assemblent en hexamères pour former des connexons, qui peuvent être homomériques (constitués de connexines identiques) ou hétéromériques (assemblage de connexines différentes). Deux connexons adjacents provenant de cellules voisines peuvent s'apparier pour former un canal intercellulaire. Lorsque les connexons de chaque cellule sont différents, le canal intercellulaire est dit hétérotypique.
C. Cycle de vie des connexines. Après leur transcription, les connexines sont insérées dans la membrane du réticulum endoplasmique (RE), où elles subissent leur repliement initial. Elles transitent ensuite vers un compartiment intermédiaire entre le RE et l'appareil de Golgi (ERGIC), où elles subissent leur maturation. Dans l'appareil de Golgi, les connexines s'assemblent en connexons. Ces derniers sont ensuite transportés le long des microtubules *via* des vésicules de sécrétion jusqu'à la membrane plasmique, où ils s'insèrent sous forme d'hémicanaux fermés. À la membrane, les connexons peuvent rester non appariés et fonctionner comme des hémicanaux, permettant l'échange de petites molécules avec le milieu extracellulaire, ou s'associer avec des connexons de cellules adjacentes pour former des canaux intercellulaires (CJC) regroupés dans les jonctions communicantes (JC). Les jonctions communicantes ont une durée de vie limitée et, après quelques heures, elles sont internalisées sous forme de connexosomes, qui sont ensuite dégradés dans les lysosomes. Ce cycle de renouvellement rapide permet d'ajuster en permanence le nombre et la fonctionnalité des jonctions communicantes en fonction des besoins cellulaires.

I.3.3.1.2 - Assemblages en hémicanaux et canaux intercellulaires

Les Cx s'assemblent en hexamères pour former un HC inséré dans la membrane. Les HC peuvent être homomériques (formés de Cx identiques) ou hétéromériques (formés de Cx différentes ; Oshima, 2014 ; **Figure 31**).Cet assemblage hexamèrique des Cx présente des caractéristiques communes avec d'autres protéines formant des canaux à large pore, comme les pannexines, présentes chez les vertébrés et les invertébrés, et les innexines, présentes uniquement chez les invertébrés (Scemes et al., 2009). Initialement, les connexons étaient considérés comme des structures transitoires, fermées jusqu'à leur association avec des connexons adjacents pour former un canal de JC (Beyer & Steinberg, 1991). Il est désormais bien établi que les HC peuvent fonctionner indépendamment, avec une ouverture régulée, permettant un échange bidirectionnel de petites molécules hydrosolubles et d'ions (Oshima, 2014; Sáez et al., 2020). Par exemple, les HC facilitent la libération de petites molécules comme le glutathion, le glutamate et l'ATP du cytosol vers le milieu extracellulaire, permettant ainsi une communication paracrine entre cellules éloignées (Yang et al., 2023). Ils permettent également l'internalisation de molécules telles que le calcium (Nardin et al., 2022), ainsi que des colorants utilisés pour l'étude de leur activité (Giaume et al., 2012). Les HC répondent aux changements de potentiel électrique membranaire, ce qui permet leur ouverture et fermeture rapides dans le cadre d'une signalisation paracrine et autocrine.

Les connexons (ou HC) provenant de cellules adjacentes peuvent s'assembler pour former des canaux intercellulaires, appelés aussi canaux de JC (CJC). Chez les vertébrés, seules les connexines sont actuellement reconnues comme capables de former ces CJC, bien que le rôle des pannexines fasse encore débat (Barbe et al., 2006; Palacios-Prado et al., 2022; Welzel & Schuster,

2022). Les CJC peuvent être homotypiques (formés de connexons identiques) ou hétérotypiques (formés de connexons différents ; Orellana et al., 2009 ; **Figure 31**). La formation de ces canaux repose sur l'interaction non covalente des boucles extracellulaires des Cx. Des centaines à plusieurs milliers de ces CJC se regroupent pour former des plaques de JC parfois appelées simplement JC. Ces plaques correspondent à des microdomaines spécialisés de la membrane plasmique, séparés par un fin espace intercellulaire de 2 à 4 nanomètres (nm ; Caspar et al., 1977; Lauf et al., 2002). Elles permettent un échange direct et efficace de molécules et d'ions entre cellules adjacentes, jouant un rôle crucial dans la communication et la coordination des fonctions cellulaires.

TABLEAU 6 : CONNEXINES GLIALES ET COMPLÉMENTARITE DES CONNEXINES

Schéma adapté de (Liang et al., 2020)

Type cellulaire	**Connexines prédominantes**	**Autres connexines exprimées**	**Pannexines**	**Jonctions communicantes avec Cx43 astrocytaire**
Astrocytes	Cx30, **Cx43**	Cx26, Cx40, Cx45 Cx46	Panx1 Iglesias et al., 2009 Panx2 Zappala et al., 2007	**Cx43-Cx43**
Tanycytes	**Cx43, Cx30**	Cx45 Cx26	Panx1 Panx2	
Microglie	Cx32 (Maezawa et Jin, 2010), Cx36 (Dobrenis et al., 2005)	**Cx43** Eugenín et al., 2001; Garg et al., 2005	Panx1 (Orellana et al., 2011b)	
Oligodendrocytes	Cx32, Cx39, Cx47 (Altevogt et al., 2002; Wasseff et Scherer, 2011),	Cx29		Cx47-**Cx43**
Neurones	Cx36	Cx26, Cx30.1, Cx30.2, Cx31.1, Cx32, Cx 36, Cx37, Cx40, Cx 45, Cx50, Cx57	Panx1 Bruzzone et al., 2003	Cx36-**Cx43**
Cellules endothéliales		Cx37, Cx40, **Cx43,** Cx45		

I.3.3.1.3 - Cycle de vie et turn over des connexines et des connexons

Le cycle de vie des Cx, des HC et des JC est déterminant pour comprendre leurs fonctions physiologiques (pour plus de détails, se référer à Laird, 2006; Segretain & Falk, 2004). Les connexines sont synthétisées en continu et ont une demi-vie courte, allant de quelques heures à quelques jours selon le type cellulaire et le contexte d'assemblage (Solan & Lampe, 2009). Pour la Cx43, elle varie généralement entre 1,5 et 6 heures (Shaw et al., 2007; Solan & Lampe, 2009), ce qui implique un renouvellement quasi complet des JC en 24 heures dans la plupart des cellules.

La synthèse des Cx suit la voie endomembranaire classique. Après traduction, l'oligomérisation en connexons (ou HC) se produit rapidement dans la membrane du réticulum endoplasmique (RE) ou dans l'appareil de Golgi. Une fois assemblés, les connexons sont transportés de manière constitutive via des vésicules le long des microtubules jusqu'à la membrane plasmique. Ils fonctionnent alors comme des HC ou restent fermés tant qu'ils ne sont pas insérés dans un canal intercellulaire. Lorsqu'ils s'apparient avec des connexons compatibles d'une cellule adjacente, ils forment des jonctions communicantes fonctionnelles permettant l'échange direct d'ions et de petites molécules (Koval, 2006).

Les Cx peuvent être dégradées à différents stades de leur cycle. Celles qui sont mal repliées ou incorrectement assemblées dans le RE sont éliminées par le protéasome, via la voie de dégradation associée au réticulum endoplasmique (*Endoplasmic Reticulum-Associated Degradation*, ERAD ; Laird, 2006). Les Cx fonctionnelles, après avoir atteint la membrane plasmique puis formé des JC et joué leurs rôles à la membrane, sont dégradées sous forme de connexosomes, aussi appelées jonctions annulaires. Les connexosomes sont des structures dans lesquelles les JC sont internalisées sous forme de plaques dans des endosomes, avant d'être dégradées dans les lysosomes (Solan & Lampe, 2009). La plaque entière ou un fragment peut être internalisé (Xie et al., 2015). Fait intéressant, les connexosomes peuvent contenir non seulement des protéines membranaires mais aussi du cytoplasme et des organites provenant de la cellule donneuse. Certaines études suggèrent qu'au-delà de leur rôle dans la dégradation, ils pourraient participer à une forme de communication intercellulaire active, en transférant du matériel membranaire, des molécules de signalisation, voire des mitochondries (Laird, 2006; Norris, 2021; Zhu, 2022).

Enfin, les mécanismes de régulation post-traductionnelle, en particulier la phosphorylation, modulent la stabilité, l'internalisation et la dégradation des Cx — notamment la Cx43. Ces modifications permettent un ajustement dynamique du nombre et de la fonctionnalité des JC, en réponse aux signaux cellulaires et aux besoins physiologiques (Solan & Lampe, 2009).

I.3.3.2 - Connexines gliales

Les connexines sont largement exprimées dans le SNC, majoritairement par les cellules gliales, mais également par certains types neuronaux. Parmi les 20 types de Cx identifiés chez les rongeurs, 11 sont exprimés dans le SNC (Vicario et al., 2017). Leur expression varie selon le type cellulaire, la région cérébrale et le stade de développement (Lapato & Tiwari-Woodruff, 2018). Dans le cerveau des vertébrés, l'expression neuronale des Cx et la communication intercellulaire diminuent progressivement au cours du développement. Chez l'adulte, le couplage neuronal persiste bien que limité, notamment sous la forme de synapses électriques (Galarreta & Hestrin, 1999; Rozental et al., 2000). Les JC associant les cellules neuronales entre elles ne seront toutefois pas traitées dans ce manuscrit.

I.3.3.2.1 - Expression gliale des connexines et complémentarité des connexons

Les cellules gliales, en particulier les astrocytes, présentent un niveau d'expression de Cx nettement supérieur à celui des neurones et sont fortement couplées par des JC (Giaume et al., 2010; Rouach et al., 2002). Les astrocytes expriment majoritairement les connexines Cx43 et Cx30 (connexine 30). La Cx43, souvent considérée comme spécifique des astrocytes (Jeanson et al., 2015), mais elle est également retrouvée dans d'autres types cellulaires, tels que la microglie, les cellules endothéliales et les cellules souches neurales, ou encore les neurones en développement (Cheng et al., 2004; Eugenin et al., 2012). Un niveau particulièrement élevé de Cx43 est observé dans les pieds astrocytaires à proximité des vaisseaux sanguins (Rouach et al., 2008; Simard & Nedergaard, 2004; Yamamoto et al., 1990).

Les Cx astrocytaires forment des JC entre astrocytes, appelées jonctions homocellulaires, mais également avec d'autres cellules du SNC, appelées jonctions hétérocellulaires. Elles peuvent

également former des jonctions autocellulaires, ou réflexives, qui sont des JC entre les prolongements d'un même astrocyte (Wolff et al., 1998).

Dans les jonctions homocellulaires, la Cx43 ne forme que des CJC homotypiques, ce qui signifie que les connexons composés de Cx43 ne peuvent pas s'apparier avec ceux composés de Cx30 pour créer un canal jonctionnel fonctionnel (Nagy et al., 2003; Orthmann-Murphy et al., 2007). Cependant, des CJC formés de Cx43 ou de Cx30 peuvent coexister au sein de la même plaque de jonction (Altevogt & Paul, 2004). D'autres Cx sont également exprimées par les astrocytes, mais elles semblent peu impliquées dans le couplage entre astrocytes, car les souris knock-out pour Cx43/Cx30 perdent totalement ce mode de communication (Wallraff et al., 2006).

Les jonctions hétérocellulaires impliquent principalement une communication entre les astrocytes et les oligodendrocytes. Ces jonctions, nombreuses, se situent entre les corps cellulaires, entre les corps cellulaires et les prolongements gliaux, et entre les prolongements astrocytaires et la gaine externe de la myéline (Massa & Mugnaini, 1982, 1985; Rash et al., 1997). Elles impliquent des CJC hétérotypiques puisque les astrocytes et les oligodendrocytes expriment des Cx différentes. Ces jonctions pourraient impliquer les Cx30 et/ou la Cx26 dans les astrocytes, avec la Cx32 dans les oligodendrocytes, ou bien la Cx43 dans les astrocytes avec la Cx47 dans les oligodendrocytes (Altevogt & Paul, 2004). La présence de JC hétérocellulaires entre les cellules gliales et les neurones a été décrite, mais semble relativement marginale (Rash et al., 2001, 2007).

Alors que les JC permettent une communication directe et unique de cellule à cellule, les HC facilitent l'échange d'ions et de molécules de signalisation entre le cytoplasme et le milieu extracellulaire, ainsi que la capture et la libération de métabolites. Ainsi, les Cx peuvent assurer deux modes de communication au sein des réseaux gliaux : intercellulaire et paracrine/autocrine. Il convient de souligner que certaines Cx, notamment la Cx43, exercent également des fonctions indépendantes de leur rôle de canaux (Van Campenhout et al., 2020). Ces fonctions incluent l'adhésion cellulaire, la migration (Giepmans et al., 2001), le contrôle de la prolifération (Cheng et al., 2004; Santiago et al., 2010) ou encore la différenciation neuronale (Cheng et al., 2004; Kunze et al., 2009). Ces aspects, plus éloignés de ma thématique, sont abordés dans des revues récentes de la littérature (Lucaciu et al., 2023; Van Campenhout et al., 2020).

I.3.3.2.2 - Jonctions communicantes gliales

Les premières preuves d'une implication des Cx dans la physiologie des astrocytes datent du début des années 1990, grâce à des études sur des cultures d'astrocytes, montrant que les CJC composées de Cx43 jouaient un rôle crucial dans la communication intercellulaire entre astrocytes(Dermietzel et al., 1991; Giaume et al., 1991). Les JC entre les cellules gliales constituent un « conduit direct unique » entre les cellules, laissant passer des molécules hydrosolubles de moins de 1,5 kDa. Cette diffusion concerne donc des molécules très diverses telles que les ions, l'IP3, les acides aminés, le glucose, le glutathion, les nucléotides (dont l'ATP), les vitamines et les microARN (Katakowski et al., 2010; Söhl & Willecke, 2004). Elles permettent ainsi de créer un réseau de communication entre astrocytes, et plus largement entre cellules gliales parfois qualifié de syncytium ou de réseau pan-glial.

- **Jonctions communicantes et homéostasie ionique.**

Cette communication entre cellules adjacentes est importante pour la clairance et la redistribution du K^+ (voir **section I.3.1.2**, p 104, **Figure 32**, et Brightman et Reese (1969)). Elle pourrait être intensifiée par une activité neuronale intense, comme l'ont suggéré Enkvist & McCarthy en 1994. Ces auteurs ont en effet montré que la dépolarisation de la membrane, associée à une augmentation de la concentration de potassium extracellulaire ($[K^+]_e$) ou à un traitement avec de fortes $[K^+]e$, augmentait à la fois le couplage de colorant et la conductance des JC dans des astrocytes corticaux en culture. Ces résultats pionniers suggèrent que le K^+ pourrait faciliter sa propre clairance en intensifiant le couplage entre astrocytes. Wallraff et al. (2006) ont été parmi les premiers à examiner en détail le rôle des JC astrocytaires dans la redistribution spatiale du K^+. En utilisant des tranches hippocampiques de souris sauvages et de souris génétiquement déficientes en connexines Cx43 et Cx30, ils ont effectué des enregistrements en patch-clamp, des analyses de potentiels de champ et des mesures de la concentration extracellulaire de K^+ à l'aide

de microélectrodes sélectives. Ils ont ainsi confirmé que le couplage entre astrocytes accélère l'élimination du K^+ de l'espace extracellulaire et sa redistribution dans le parenchyme cérébral. Leurs résultats suggèrent toutefois que les JC astrocytaires interviennent principalement dans le tamponnement spatial rapide du K^+ et lors de stimulations neuronales synchronisées de forte intensité, sans pour autant être strictement nécessaires à la clairance du K^+. De plus, ils soulignent que la disposition des astrocytes dans chaque couche de l'hippocampe influence leur capacité à tamponner le K^+ : les régions où les astrocytes sont moins alignés ou plus dispersés dépendent davantage des JC pour assurer une redistribution efficace du K^+. Dans le *stratum radiatum*, où les astrocytes sont souvent empaquetés perpendiculairement aux corps cellulaires des neurones pyramidaux de la région CA1, les courants médiés par les JC ne représentaient qu'environ 30 % des courants passifs enregistrés dans un astrocyte. Ces courants passifs, caractérisés par leur indépendance vis-à-vis du temps ou d'une dépolarisation ou hyperpolarisation de la membrane, sont généralement associé à la sortie du K^+ des astrocytes. Ainsi, dans certaines régions cérébrales, les réseaux couplés par JC ne jouent qu'un rôle partiel dans la redistribution spatiale du K^+ par les astrocytes. Cette observation a été aussi rapportée plus récemment par Breithausen et al. (2020), qui proposent que la clairance du potassium est principalement assurée par les Na^+/K^+-ATPases, puis redistribuée à distance par des canaux potassiques tels que Kir4.1, notamment dans les réseaux d'astrocytes densément empaquetés.

Ma et al. (2016) ont néanmoins apporté des preuves solides établissant un lien entre les JC, la clairance et la redistribution du K^+, ainsi que le maintien de l'homéostasie dans le parenchyme cérébral. Ils ont étudié le couplage électrique des astrocytes *via* les JC, qui reflète le passage des ions entre les cellules interconnectées. En abaissant la concentration intracellulaire de K^+ dans un astrocyte, ils ont observé comment les astrocytes voisins contribuent à stabiliser la dépolarisation du potentiel de membrane de l'astrocyte étudié. Leur travail indique que le couplage *via* les JC permet aux réseaux d'astrocytes de maintenir un potentiel de membrane de repos identique, connu sous le nom d'isopotentialité syncytiale. En maintenant un potentiel de repos homogène, les astrocytes couplés sont capables de maintenir une concentration uniforme des ions extracellulaires, y compris le K^+, qui est crucial pour les gradients électrochimiques. L'excès de K^+ dans une région locale entraîne une dépolarisation limitée, rapidement répartie entre tous les astrocytes connectés. Cette stabilisation empêche une dépolarisation excessive d'un seul astrocyte et préserve la force motrice nécessaire à l'entrée continue et efficace de K^+ près des synapses actives. Dans les régions plus éloignées, la légère dépolarisation des astrocytes augmente la fuite de K^+, créant un flux qui aide à réguler l'homéostasie du K^+ dans le tissu cérébral. Cela suggère que même si les JC ne représentent qu'une faible proportion des courants passifs d'un astrocyte, à l'échelle du réseau, elles parviennent à homogénéiser les concentrations ioniques. En facilitant l'élimination du K^+ lors de l'activité synaptique (ainsi que celle du glutamate), les JC ont été impliquées dans la limitation de l'excitabilité neuronale, la force synaptique et la plasticité synaptique. Pannasch et al. (2011) ont en effet rapporté que les souris déficientes pour les Cx astrogliales Cx30 et Cx43 présentent une transmission synaptique hippocampique accrue et une plasticité synaptique à long terme altérée. Ils attribuent ces observations à une clairance réduite du glutamate et du potassium par les astrocytes et à une régulation altérée du volume de l'espace extracellulaire pendant l'activité synaptique.

Le couplage *via* les JC s'applique également à d'autres ions, tels que le Na^+ (Chatton et al., 2016; Felix et al., 2020; Langer et al., 2012) ou le Ca^{2+}, mais le lien avec l'isopotentialité syncytiale reste à clarifier. La contribution des JC à la transmission des signaux calciques entre les astrocytes a été démontrée, aussi bien *in vitro* (Finkbeiner, 1992; Venance et al., 1995) qu'*in vivo* (Hoogland et al., 2009; Kuga et al., 2011; Mathiesen et al., 2013), dans des conditions physiologiques et pathologiques (Kuchibhotla et al., 2009; Mathiesen et al., 2013). Cet aspect sera discuté en détail dans la **section I.3.3.2.1** (voir **Figure 33)**.

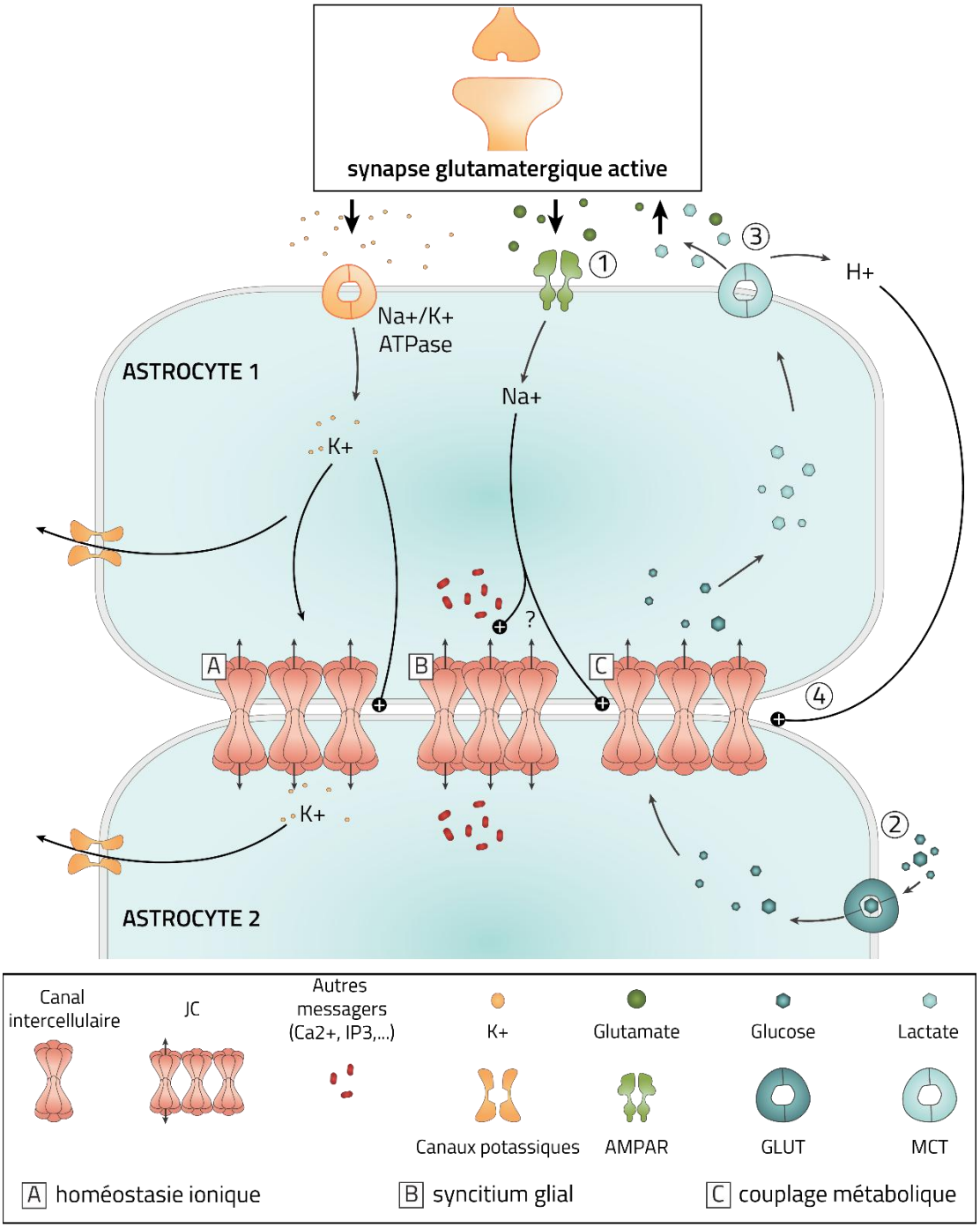


FIGURE 32 : VUE D'ENSEMBLE DES FONCTIONS DES JONCTIONS COMMUNICANTES DANS LE SNC

A. Homéostasie ionique et clairance des ions par les astrocytes *via* les jonctions communicantes. Le couplage des astrocytes par des jonctions communicantes permet la régulation des concentrations ioniques et le maintien de l'homéostasie ionique dans le parenchyme cérébral. Lors d'une activité neuronale intense, la concentration de potassium (K^+) dans le milieu extracellulaire augmente. Les astrocytes captent une partie de ce potassium grâce aux pompes Na^+/K^+-ATPases. L'augmentation de la concentration de K^+ dans le cytoplasme des astrocytes semble favoriser la perméabilité des jonctions communicantes. Le potassium peut alors traverser ces jonctions pour homogénéiser les concentrations de K^+ entre les astrocytes, contribuant ainsi à la régulation des niveaux de potassium dans le cerveau. De plus, le potassium est redistribué *via* des canaux potassiques rectifiants.

FIGURE 32 SUITE.

B. Propagation des ondes calciques et communication interastrocytaire. Le couplage par jonctions communicantes permet la diffusion de nombreuses molécules de signalisation entre les astrocytes, assurant un couplage fonctionnel. Notamment, les jonctions communicantes sont perméables au calcium (Ca^{2+}) et à l'inositol triphosphate (IP3), ce qui facilite la propagation des ondes calciques au sein du réseau astrocytaire.
C. Couplage métabolique entre neurones et astrocytes. Les jonctions communicantes permettent également un couplage entre les neurones et les astrocytes, garantissant un approvisionnement énergétique adéquat pour les neurones. ① Les astrocytes détectent en partie l'activité neuronale *via* les récepteurs AMPA du glutamate, qui sont perméables au sodium (Na^+). L'augmentation de la concentration de Na^+ dans les astrocytes est susceptible d'accroître la perméabilité des hémicanaux, générant des réponses au sein du réseau astroglial. ② À distance de la synapse glutamatergique, notamment à partir des pieds astrocytaires, le glucose est capté par les astrocytes *via* des transporteurs de glucose (GLUT). Le glucose peut aisément traverser les canaux intercellulaires qui forment les jonctions communicantes. ③ Il est ensuite métabolisé en lactate, qui est transmis aux neurones par le biais des transporteurs de monocarboxylates (MCT), fournissant ainsi une source d'énergie. ④ Lors du transport du lactate, le transfert d'ions H^+ dans le milieu extracellulaire des astrocytes provoque une alcalinisation de ce dernier, ce qui est connu pour augmenter fortement la perméabilité des jonctions communicantes.

❒ Jonctions communicantes et couplage métabolique

En plus de leur contribution à l'homéostasie ionique et à la propagation des vagues calciques au sein des réseaux astrocytaires, les JC sont responsables du transfert de métabolites, notamment énergétiques, comme le glucose et le lactate, permettant ainsi l'approvisionnement des neurones (Tabernero et al., 1996). *In vitro*, ce trafic de métabolites se produit sous la forme de « vagues métaboliques » en réponse à des stimulations mécaniques ou électriques des astrocytes, ainsi qu'à l'internalisation du Na^+ (Bernardinelli et al., 2004). Dans une étude emblématique, Rouach et al. (2008) ont montré que les souris génétiquement déficientes en connexines Cx43 et Cx30, chez lesquelles le couplage par JC est aboli (Theis et al., 2003), présentent une altération du transfert de substrats énergétiques. Les auteurs ont utilisé des analogues fluorescents du glucose, tels que le 2-NBDG et son homologue non métabolisable, le 6-NBDG, pour observer la diffusion de ces molécules dans des tranches aiguës d'hippocampe provenant de souris sauvages et de souris déficientes en Cx30, ou en Cx30 et Cx43 (double knock-out (KO)). La diffusion du 2-NBDG était réduite de moitié en cas de déficit d'une seule des connexines et complètement abolie dans les tranches de souris double KO. En combinant des approches pharmacologiques et des stimulations électriques, les auteurs ont ensuite démontré que l'activité neuronale induit une augmentation du flux de glucose, effet aboli en présence d'antagonistes sélectifs des récepteurs AMPA. Pour explorer le lien entre l'activité glutamatergique et le trafic de métabolites, des enregistrements extracellulaires ont été effectués en réponse à une stimulation neuronale en l'absence de glucose externe. Ce manque de glucose entraînait une dépression des potentiels postsynaptiques excitateurs (EPSP), qui pouvait être restaurée en augmentant la concentration de glucose dans un seul astrocyte ou en perfusant du lactate. Ces effets n'ont pas été observés dans des tranches d'hippocampe de souris double KO pour Cx43 et Cx30 ou en présence d'un inhibiteur des transporteurs de monocarboxylates (MCTs). Ces résultats suggèrent qu'en cas de demande métabolique accrue, comme lors d'une activation neuronale, l'activation du réseau astrocytaire pourrait déclencher une « vague métabolique » permettant un apport adéquat de glucose *via* les JC, transféré ensuite sous forme de lactate aux neurones. Le passage de lactate par les MCTs s'accompagne du transfert d'un ion H^+, ce qui provoque une alcalinisation des astrocytes et une acidification des neurones. La conductance des CJC étant très sensible au pH intracellulaire, cette alcalinisation favorise une augmentation de la conductance des JC (Peracchia, 2004). Ainsi, l'alcalinisation induite par la sortie de lactate pourrait conduit à une augmentation de la communication *via* les JC.

L'expression des connexines, ainsi que la communication *via* les JC, semblent modulées par les niveaux de glucose, bien que les résultats varient selon le modèle et la région étudiée. Dans la plupart des études, une exposition prolongée à des concentrations élevées de glucose est associé à une altération irréversible de la communication par JC dans les astrocytes (Ball et al., 2011; Gandhi et al., 2010; Muto et al., 2014; Tabernero et al., 2001; Wang et al., 2012). Par exemple, dans des cultures de cellules exposées à une hyperglycémie, Gandhi et al. (2010) ont observé une réduction de la communication astrocytaire *via* les JC, mesurée par le transfert intercellulaire de molécules fluorescentes, dont le 6-NBDG, entre les astrocytes. En culture, cette diminution a été associée à des modifications de la morphologie cellulaire et de l'expression de protéines du cytosquelette, telles que la GFAP et la vimentine, ainsi qu'à une augmentation de la libération de cytokines inflammatoires (Abdyeva et al., 2024; Wang et al., 2012) et à un stress oxydatif accru (Gandhi et al., 2010). À l'inverse, l'inhibition pharmacologique de la communication *via* les JC a été rapportée pour induire une augmentation de la capture de glucose *via* les transporteurs membranaires GLUT1, suggérant un mécanisme compensatoire pour pallier la réduction de la diffusion intracellulaire de glucose à travers les JC (Tabernero et al., 2006). Cependant, dans l'hypothalamus médiobasal, des effets opposés ont été observés : Allard et al. (2014) ont rapporté une augmentation de l'expression de la Cx43 induite par une hyperglycémie de 3 heures, mais pas après une hyperglycémie prolongée de 48 heures, sans pour autant tester les conséquences fonctionnelles de cette variation d'expression sur le couplage astrocytaire.

❒ **Perméabilité et régionalité des jonctions communicantes**

Ainsi, la formation de ces réseaux pan-gliaux par les JC permet de synchroniser les réponses gliales à un stimulus, influence de nombreux processus cellulaires, et est indispensable au maintien de l'homéostasie du SNC. Elles contribuent au couplage métabolique en facilitant l'échange de nutriments entre les cellules, ainsi qu'à la clairance des ions et des neurotransmetteurs libérés lors de l'activité neuronale (Battefeld et al., 2016; Chever, Lee, et al., 2014; Kamasawa et al., 2005; Kofuji & Newman, 2004; Takeuchi & Suzumura, 2014). Ces fonctions influencent la survie et l'excitabilité neuronale (Battefeld et al., 2016; Bedner et al., 2015; Kamasawa et al., 2005; Kofuji & Newman, 2004; Magnotti et al., 2011; Nagy et al., 2001; Wasseff & Scherer, 2011). Il est toutefois à noter que les JC ont une perméabilité variable. Bien qu'elles soient considérées comme peu sélectives par rapport à d'autres canaux, la nature des connexines formant les CJC au sein d'une plaque de jonction, ainsi que les concentrations ioniques dans le réseau astrocytaire et du milieu extracellulaire, modifient grandement le passage des petites molécules entre cellules voisines (Harris, 2007). Ma et al. (2016) considèrent que le couplage électrique dépend non seulement des concentrations ioniques de part et d'autre de la membrane, mais également de la densité de CJC au sein des plaques de jonctions et du nombre d'astrocytes appartenant au même réseau. Ces paramètres semblent grandement varier selon les régions, les conditions expérimentales et le stade de développement. Dès 1992, Batter et al. ont mis en évidence que le couplage des astrocytes en culture, dérivés de différentes régions du cerveau dépendant de la Cx43, avec un couplage élevé dans l'hypothalamus par rapport au striatum. La grande majorité des études sur le couplage astrocytaire *via* les JC se concentrent sur le cortex ou l'hippocampe, laissant les données sur le fonctionnement des réseaux astrocytaires dans l'hypothalamus très limitées et inexistantes pour le CVD.

I.3.3.2.3 - Hémicanaux astrocytaires

Hofer & Dermietzel (1998) ont été les premiers à rapporter la présence d'hémicanaux (HC) ouverts composés de Cx43 dans des cultures primaires d'astrocytes en absence de Ca^{2+} extracellulaire. À l'époque, l'ouverture des HC était perçue comme un phénomène délétère, associé à des conditions pathologiques telles que l'ischémie, l'épilepsie, ou encore l'inhibition métabolique, le stress oxydatif ou l'inflammation (Paul et al., 1991). Cette ouverture était liée à la libération de composés excitotoxiques provoquant une forte dépolarisation et la mort cellulaire (Ebihara & Steiner, 1993; John et al., 1999; Kondo et al., 2000; Valiunas & Weingart, 2000). L'hypothèse de la nature pathologique des HC était cohérente avec l'observation que ceux-ci restent généralement fermés dans des conditions physiologiques (Contreras et al., 2003).

Cependant, cette vision a été nuancée avec la découverte que les hémicanaux de Cx43 (Cx43HC) d'astrocytes en culture pouvaient s'ouvrir en réponse à des élévations physiologiques de $[Ca^{2+}]i$. Cette ouverture a été associée à la libération d'ATP qui favorise les oscillations de la $[Ca^{2+}]i$ et la propagation des ondes calciques *via* l'activation des récepteurs purinergiques (Cotrina et al., 1998; Stout et al., 2002). Plusieurs études, notamment celles menées par l'équipe de Sáez et Orellana, ont décrit en culture comment l'ouverture des HC pouvait provoquer un changement temporaire de la perméabilité membranaire, permettant ainsi la libération de molécules atteignant des concentrations suffisantes dans l'espace extracellulaire (Klaassen et al., 2011; Mika & Prochnow, 2012; Orellana et al., 2011, 2013; Stehberg et al., 2012). Sur des tranches aiguës d'hippocampe, Chever et al. (2014) ont montré que l'absorption de petites molécules fluorescentes, comme le bromure d'éthidium (EtBr), pouvait se produire dans des conditions basales sans stimulation préalable. Cette absorption était bloquée par des bloqueurs spécifiques des HC ou chez des souris délétées pour la Cx43 dans les astrocytes GFAP. Le peptide mimétique Gap 26, qui bloque l'ouverture des HC, était également associé à une diminution de la libération d'ATP dans les tranches cérébrales, mesurée par dosage et imagerie par chimiluminescence, ainsi qu'à une réduction de l'activité excitatrice dans le stratum radiatum (diminution de l'amplitude des courants post-synaptiques excitateurs). En utilisant des agents pharmacologiques ciblant les récepteurs purinergiques, les auteurs ont suggéré que la libération d'ATP par les HC pourrait moduler la signalisation excitatrice *via* une voie purinergique (P2).

Plus récemment, des preuves de l'ouverture des hémicanaux *in vivo* ont été rapportées, avec une absorption d'EtBr dans des conditions basales et en réponse à une stimulation dans le cortex de souris anesthésiées. L'absorption d'EtBr était bloquée par le Gap 26 et d'autres inhibiteurs des hémicanaux. De manière intéressante, une augmentation de l'absorption spontanée d'EtBr a été observée 40 minutes après une lésion du parenchyme cérébral provoquée par une ablation au laser, associée à un remodelage du compartiment glial. Les auteurs ont suggéré que l'ATP libérée par les hémicanaux était responsable de cette réorganisation du compartiment glial, puisque la dégradation de l'ATP par l'apyrase empêchait la migration gliale à proximité de la lésion (Vázquez et al., 2015)

Les molécules libérées dans le milieu extracellulaire depuis les HC ont été décrites comme des gliotransmetteurs capables d'influencer la plasticité synaptique et l'activité synaptique excitatrice. Parmi ces molécules, l'ATP est la plus documentée, notamment grâce à des preuves reposant sur des enregistrements de canaux unitaires chez des souris porteuses ou non de mutations de la Cx43, ainsi qu'à de l'imagerie par chimiluminescence montrant que l'efflux d'ATP coïncidait avec l'ouverture des hémicanaux (Kang et al., 2008). D'autres composés libérés par les Cx43HC influencent également la communication neuronale (Avendaño et al., 2015; Mika & Prochnow, 2012; Thompson & MacVicar, 2008). Par exemple, le glutamate qui est capturé par les astrocytes est recyclé en glutamine, laquelle est transférée *via* les hémicanaux vers les neurones, processus indispensable pour reconstituer le pool de glutamate (Cheung et al., 2014), ou la D-sérine. En effet, Meunier et al. (2017) ont observé, sur des tranches aiguës de cortex préfrontal de souris, que l'inhibition pharmacologique et génétique des Cx43HC réduisait l'amplitude des EPSC médiés en aval du récepteur NMDA dans les neurones pyramidaux. Cette réduction pouvait être restaurée par l'ajout de D-sérine dans le milieu extracellulaire. L'inhibition pharmacologique et génétique réduisait également la potentialisation à long terme de ces EPSC après une stimulation à haute fréquence, ce qui n'était plus observé en présence de D-sérine extracellulaire.

Les HC constituent ainsi des plateformes de signalisation autocrine et paracrine entre les cellules gliales et les neurones, jouant un rôle essentiel dans diverses fonctions du système nerveux central. Par exemple, (Stehberg et al., 2012) ont montré que l'inhibition des hémicanaux Cx43 dans l'amygdale basolatérale par injection de peptide mimétique spécifique des hémicanaux, le Cx43 (TAT-Cx43L2) ou le GAP27, deux peptides mimétiques spécifiques des hémicanaux, entraînait une amnésie au conditionnement de la peur sans affecter la mémoire à court terme. De manière intéressante, lorsque le TAT-Cx43L2 était coadministré avec un cocktail de gliotransmetteurs comprenant le glutamate, la glutamine, le lactate, la D-sérine, la glycine et l'ATP, la mémoire du conditionnement de la peur était rétablie. Cela suggère que la libération de

substances neuroactives via les hémicanaux Cx43 des astrocytes est nécessaire à la mémorisation à long terme dans le conditionnement de la peur.

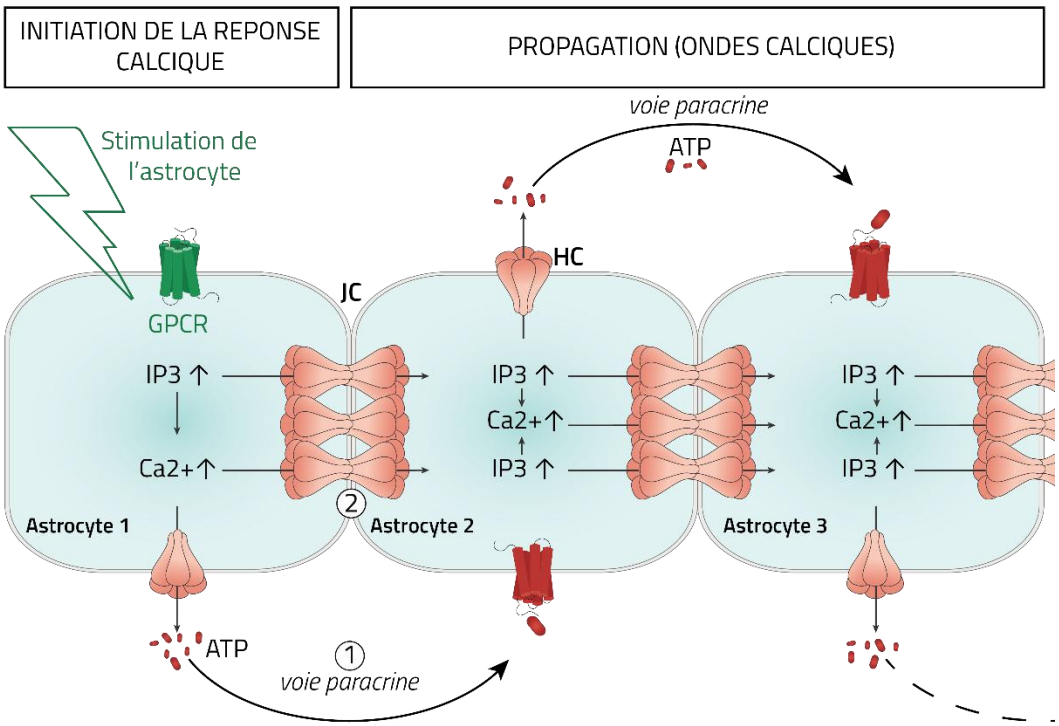


FIGURE 33 : SCHÉMATISATION DE LA COOPÉRATION DES JONCTIONS COMMUNICANTES ET HÉMICANAUX POUR LA PROPAGATION DES SIGNAUX CALCIQUES

Schéma basé sur (Decrock et al., 2017)

La stimulation artificielle d'un astrocyte ou l'activation des voies de signalisation en aval de ligands agissant sur un récepteur couplé à une protéine G (GPCR) entraîne une augmentation de l'IP3 et du calcium intracellulaire (Ca^{2+}), initiant une réponse calcique. Cette augmentation se propage aux astrocytes voisins par une voie jonctionnelle ① : l'IP3 et/ou le Ca^{2+} se diffusent directement à travers les jonctions communicantes permettant une synchronisation intercellulaire et par une voie paracrine ② : l'ATP est libéré par les hémicanaux (ou par exocytose,) agissant sur les récepteurs purinergiques des astrocytes adjacents, ce qui génère une nouvelle augmentation de l'IP3 et du Ca^{2+}.

Abréviations : **ATP** : Adénosine triphosphate; **GPCR** : Récepteur couplé à une protéine G (G-protein coupled receptor) ; **HC** : Hémicanal ; **IP3** : Inositol 1,4,5-trisphosphate ; **JC** : Jonction communicante.

Il convient de souligner que l'ouverture et la perméabilité des hémicanaux sont régulées de manière précise par plusieurs facteurs, et varient en fonction des Cx qui les composent. L'activité des Cx43HC est notamment modulée par le pH (Schalper et al., 2010) et les concentrations de calcium intracellulaire et extracellulaire. Une diminution de la concentration extracellulaire de calcium ($[Ca^{2+}]e$) favorise l'ouverture des Cx43HC et déclenche la libération de glutamate et d'aspartate (Ye et al., 2003). Une perméabilité accrue des Cx43HC est déclenchée par une réduction des niveaux d'ATP (Bao et al., 2007), une forte dépolarisation (+60 mV; Contreras et al. 2003) ou par la présence de cytokines pro-inflammatoires dans le milieu extracellulaire (Avendaño et al., 2015; Retamal et al., 2007)

Dans la plupart des pathologies ou lésions cérébrales étudiées chez l'animal, des modifications dynamiques de l'expression des connexines et de l'activité des hémicanaux ont été observées, avec des conséquences variées, parfois bénéfiques, parfois délétères (pour revue, voir Giaume et al. 2021; Giaume & Theis, 2010). En général, une ouverture transitoire des hémicanaux est considérée comme bénéfique pour l'homéostasie du système nerveux central SNC et la communication cellulaire. Par exemple, Theodoric et al. (2012) ont observé que l'expression de la Cx43 en réponse à une lésion aiguë, provoquée par une piqûre d'aiguille *in vivo*, limitait l'ampleur de la gliose induite dans les trois jours suivant la lésion. Ils attribuent cette fonction, au moins en partie à la libération de facteurs dans le milieu extracellulaire qui participent à la communication entre les astrocytes et la microglie. En revanche, une activation prolongée des hémicanaux peut entraîner des dommages cellulaires et est souvent associée à des conditions pathologiques (Orellana et al., 2015). Huang et al. (2012) suggèrent que la libération prolongée d'ATP par les Cx43HC dans un modèle de lésion de la moelle épinière, aggravait les lésions secondaires et limitait la récupération fonctionnelle.

Conclusion du Chapitre 3

Le CVD joue un rôle central dans le maintien de la balance énergétique et le contrôle de la prise alimentaire, comme abordé dans le chapitre 2. Jusqu'à récemment, la recherche s'est principalement concentrée sur la contribution des populations neuronales du CVD. Ce chapitre a mis en évidence la diversité des cellules gliales présentes dans le CVD (**Figure 26**) et leurs interactions avec les réseaux neuronaux locaux. Il souligne l'importance croissante accordée aux cellules gliales, bien au-delà de leur rôle traditionnel de simple soutien des neurones.

Les preuves soutiennent aujourd'hui l'idée que les astrocytes, les vagliocytes et les microglies participent activement au maintien de l'homéostasie énergétique, chacune de ces populations pouvant jouer un rôle spécifique. Ces cellules gliales sont particulièrement sensibles aux modifications du statut nutritionnel et pourraient soit protéger contre un déséquilibre de la balance énergétique, soit contribuer aux effets délétères d'un régime déséquilibré. De plus, les cellules de la lignée oligodendrocytaire, récemment mises en lumière dans le domaine de la régulation de l'équilibre énergétique, pourraient également s'ajouter à la liste des cellules gliales impliquées dans ce contrôle, bien que leur implication fonctionnelle au niveau du CVD reste à établir.

Dans le cadre de mon projet de thèse, je me suis principalement focalisée sur les populations gliales du CVD exprimant la GFAP, à savoir les astrocytes et les vagliocytes avec une attention particulière portée sur les astrocytes. Les astrocytes du CVD détectent les variations du statut métabolique et répondent à des hormones informant du statut métabolique comme la leptine et le GLP-1 et influencent la transmission synaptique. Plus intéressant encore, leur activation par des outils de chémogénétique réduit la prise alimentaire. Ils subissent des modifications morphologiques en réponse à des régimes riches en graisses, et ces changements semblent coïncider avec la chronologie des modifications comportementales induites par le HFD, avec une phase transitoire précoce qui culmine au cours de la première semaine de HFD et est associée à une hyperphagie importante, suivie d'une réapparition tardive chez les animaux obèses ayant consommé un HFD pendant plusieurs mois.

Cependant, malgré ces avancées, il existe encore des lacunes importantes dans notre compréhension des mécanismes par lesquels les astrocytes participent au contrôle de la balance énergétique. Notamment, les capacités d'intégration des signaux métaboliques par les réseaux pangliaux et les interactions spécifiques entre les neurones et les astrocytes responsables des réponses observées restent largement inconnues.

Dans ce contexte, mon projet de thèse s'est concentré sur les réseaux astrocytaires et la communication *via* la Cx43. La Cx43 est une protéine clé dans la formation des jonctions communicantes entre les astrocytes, permettant la communication intercellulaire et la coordination des réseaux gliaux. Elle permet également aux astrocytes de communiquer par voie autocrine ou paracrine, en formant des hémicanaux, ce qui peut influencer les réseaux gliaux et neuronaux voisins. Dans mon projet de thèse, nous avons eu l'ambition de combler certaines de ces lacunes et de mieux comprendre le rôle des astrocytes dans la régulation de la balance énergétique en étudiant la Cx43. En effet, la communication entre cellules gliales *via* les hémicanaux et les jonctions communicantes de la Cx43 permet aux réseaux d'astrocytes et de cellules gliales de percevoir et d'intégrer l'activité synaptique, et de répondre par la libération de gliotransmetteurs, qui influencent la transmission synaptique (Bazargani & Attwell, 2016).

Les hémicanaux et les jonctions communicantes travaillent en synergie pour coordonner l'activité des cellules gliales et des neurones, sous l'influence de leur environnement (**Figure 33**). D'une part, la communication médiée par la Cx43 permet aux astrocytes de connecter indirectement des réseaux neuronaux qui ne sont pas directement connectés *via* des synapses, en libérant des gliotransmetteurs, qui modulent la transmission synaptique et l'excitabilité neuronale (voir **section I.3.3.2.3** -). D'autre part, les astrocytes, grâce à la communication *via* la

Cx43, collaborent pour propager les vagues calciques dans les réseaux astrocytaires. L'activation des hémicanaux permet la libération d'ATP, qui active les récepteurs P2X sur les astrocytes, et favorise une augmentation des concentrations intracellulaires de Ca^{2+} (Anselmi et al., 2008; Suadicani et al., 2004). Ces signaux calciques sont ensuite transmis au réseau astrocytaire par les jonctions communicantes. Ces vagues calciques peuvent se propager sur des distances allant de plusieurs dizaines à plusieurs centaines de micromètres, voire jusqu'à quelques millimètres selon les conditions (Kuchibhotla et al., 2009; Scemes & Giaume, 2006). La distance exacte dépend de la densité des connexions et de la permissivité des jonctions communicantes entre les astrocytes Ma et al. (2016) et Bowser & Khakh (2007) ont estimé que la vitesse de propagation des vagues calciques à travers ces jonctions est d'environ 15 µm/s, contre 0,2 à 2 m/s pour la conduction des potentiels d'action dans les fibres nerveuses lentes. Cette lenteur n'enlève en rien l'implication essentielle des vagues calciques pour la coordination et la modulation des réseaux neuronaux sur des échelles de temps et de distance spécifiques.

II RÉSULTATS

II.1

Etude 1 - Caractérisation de l'expression des connexines dans les centres de la balance énergétique et étude de l'inhibition pharmacologique des hémicanaux dans le contrôle de la balance énergétique.

II.1.1 - Article : "Blockade of glial connexin 43 hemichannels reduces food intake"

II.1.2 - Données supplémentaires : Activité Hémicanal dans le CVD

II.2

Etude 2 - Développement d'un modèle transgénique de délétion de la Cx43 dans les cellules gliales du CVD et/ou de l'HYP.

II.2.1 - Matériels et méthodes

II.2.2 - Résultats

II.2.2.1 - L'endoxifène permet d'induire une recombinaison homologue dans les astrocytes parenchyme du CVD et de l'hypothalamus

II.2.2.2 - la TAT-Cre permet de cibler les cellules bordant les ventricules cérébraux

II.2.2.3 - Délétion de la CX43 par la TAT-Cre ou l'endoxifène dans l'hypothalamus ou le CVD

II.3

Etude 3 - Effets de la réduction d'expression de la Cx43 dans les astrocytes du CVD, chez des souris nourries avec un régime standard ou obésogène.

II.3.1 - Matériels et méthodes

II.3.2 - Résultats

II.3.2.1 - L'injection des AAV-ShARN par l'approche atlantoocipitale permet de réduire l'expression de la Cx43 dans les astrocytes du CVD

I.3.2.2 -La réduction de l'expression de la Cx43 n'altère pas le phénotype métabolique chez des souris maintenues sous régime AO4

II.3.2.3 - Effets de la réduction de l'expression de la Cx43 chez les souris maintenues nourries avec un régime obésogène

Objectifs de la thèse

Mon projet de thèse vise à mieux comprendre comment les cellules gliales contribuent au maintien de la balance énergétique. Pour des raisons qui seront développées par la suite, je me suis progressivement focalisé sur les cellules gliales du CVD. L'importance des hémicanaux (HC) et des canaux de jonctions communicantes (CJC) dans la communication astrocytaire, la communication pangliale et les interactions neuronales nous a conduits à étudier ces complexes protéiques composés de connexines (Cx). Nous avons émis l'hypothèse qu'une déstabilisation de la communication paracrine/autocrine *via* les HC ou des réseaux pan-gliaux formés de CJC pourraient affecter la balance énergétique.
Ce projet de thèse est divisé en trois études :

- **Étude 1 : Caractérisation de l'expression des connexines dans les centres de la balance Energétique et Étude de l'inhibition pharmacologique des hémicanaux dans le contrôle de la balance Energétique**

La première étape de mon travail a consisté à identifier quelles connexines les cellules gliales de l'hypothalamus (HYPmb) et du CVD exprimaient chez des souris adultes. Cette étape a orienté nos recherches vers la Cx43 exprimée par les astrocytes et les cellules épendymogliales, présentes dans ces deux structures d'intérêt. L'observation de la proximité entre la Cx43 et les synapses excitatrices dans l'hypothalamus et le CVD suggérait une possible libération de molécules neuroactives à proximité des réseaux neuronaux impliqués dans le maintien de la balance énergétique. Pour tester cette hypothèse, nous avons utilisé un inhibiteur pharmacologique spécifique des hémicanaux Cx43 (Cx43HC), injecté dans les ventricules latéraux. Nous avons montré que dans cette approche, l'HYPmb et le CVD sont touchés de façon similaire. L'inhibition des Cx43HC a provoqué une anorexie chez les souris, associée à une activation neuronale dans les centres de la balance énergétique.

- **Étude 2 : Développement d'un modèle transgénique de délétion de la Cx43 dans les cellules gliales du CVD et /ou de l'HYP**

Pour compléter l'approche pharmacologique, nous avons souhaité développer un modèle d'invalidation du gène codant pour la Cx43 spécifiquement dans les astrocytes et/ou les cellules épendymogliales du CVD ou de l'HYP. L'objectif était ici de déterminer la contribution respective de la Cx43 gliale dans ces deux structures d'intérêt à la régulation de la balance énergétique. Nous avons développé une lignée murine transgénique « Cx43 *knock-out inductible* ». Cependant, la caractérisation de ces animaux s'est révélée décevante, nous obligeant à changer de stratégie.

- **Étude 3 : Effets de la rÉduction d'expression de la Cx43 dans les astrocytes du CVD, chez des souris nourries avec un rÉgime standard ou OBÉSOGÈNE**

Nous avons alors opté pour l'utilisation d'interférence ARN (shARN) afin de diminuer l'expression de Cx43 dans les astrocytes. Au regard du temps déjà engagé dans le développement du modèle transgénique, nous avons été contraints de limiter l'approche par shARN à l'étude du CVD. Ce choix a été guidé par la moindre connaissance des cellules gliales du CVD et l'antériorité de l'équipe sur cette structure. Nous avons validé la capacité de notre approche chirurgicale et de nos outils à réduire l'expression de Cx43 dans les cellules positives pour la GFAP du CVD entre 3 et au moins 9 semaines après l'injection.
Ensuite, nous avons déterminé l'impact fonctionnel de cette réduction d'expression de la Cx43 dans le CVD sur la balance énergétique, chez des souris soumises à un régime standard ou obésogène. Nous avons réalisé des suivis longitudinaux de la croissance pondérale et de la prise alimentaire des animaux, ainsi qu'une série de tests permettant d'étudier le métabolisme énergétique et la régulation de la glycémie des souris. Malgré une réduction très significative de la Cx43 gliale, l'ensemble de ces tests n'a pas mis en évidence de phénotype métabolique modifié. Ce résultat, inattendu au regard de la forte expression de la Cx43 dans le CVD, et de l'anorexie induite par l'inhibition pharmacologique des hémicanaux de Cx43, nous amène à formuler plusieurs hypothèses.

II.1 - Étude 1-Caractérisation de l'expression des connexines dans les centres de la balance énergétique et étude de l'inhibition pharmacologique des hémicanaux dans le contrôle de la balance énergétique

La première étape de mon travail a consisté à identifier les connexines exprimées par les cellules gliales dans les centres de régulation de la balance énergétique, le CVD et l'HYP. Nous avons constaté que la Cx43 est particulièrement abondante dans ces régions, et son expression est modulée par des conditions telles que le jeûne ou l'obésité induite par l'alimentation.

La Cx43, exprimée par les astrocytes et les cellules épendymogliales, forme des jonctions communicantes ainsi que des hémicanaux (Cx43HC) qui permettent la libération de molécules dans l'espace extracellulaire. Nos analyses stéréologiques ont révélé une proximité entre la Cx43 et les synapses excitatrices dans l'HYP et le CVD. Partant de cetteobservation, nous avons émis l'hypothèse que les Cx43HC pourraient libérer des molécules neuroactives à proximité des réseaux neuronaux spécialisés dans le contrôle de la balance énergétique.

En collaboration avec Nathalie Rouach (CIRB, Collège de France), nous avons montré une forte activité basale des Cx43HC dans le noyau arqué de l'HYP sur des tranches aiguës de cerveau de souris adultes nourries *ad libitum*. L'utilisation de TAT-Gap19, un peptide mimétique qui empêche spécifiquement l'ouverture des Cx43HC, a permis de réduire significativement l'activité des hémicanaux sur ces tranches. Nous avons ensuite testé les effets du TAT-Gap19 *in vivo* en injectant ce peptide dans les ventricules latéraux. Nous avons alors fait le pari que cette méthode d'administration permettrait, par diffusion du peptide, de cibler préférentiellement les structures bordant le troisième (3V) et le quatrième ventricule (4V), incluant l'HYP et le CVD. L'utilisation d'un peptide TAT-Gap19 biotinylé a permis de confirmer que c'était effectivement le cas. Enfin, l'inhibition pharmacologique des Cx43HC dans ces zones a entraîné une anorexie chez les souris, accompagnée d'une activation neuronale au sein de l'HYP et du CVD. Ces résultats ont fourni les premières preuves de l'implication des Cx43HC dans le contrôle de la prise alimentaire et suggèrent que les cellules gliales de l'HYP et du CVD libèrent de manière tonique des composés orexigènes.

Ces résultats ont fait l'objet d'un article joint à la fin du manuscrit (voir **p 328**). Quelques résultats supplémentaires qui n'apparaissent pas dans l'article sont également ajoutés à ce manuscrit.

II.1.1 - Article: Blockade of Glial Connexin 43 Hemichannels Reduces Food Intake

Barbot M, Guillebaud F Barbouche R, Brézun JM, Poirot K, Vasile F, Lebrun B, Rouach N, Dallaporta M, Gaige S, Troadec JD.

Cells. 2020 Oct 31;9(11):2387. doi: 10.3390/cells9112387.

PMID: 33142723; PMCID: PMC7693394.

II.1.2 - Données supplémentaires

Comme indiqué dans le manuscrit ci-dessus, la capture de molécules fluorescentes est couramment utilisée pour évaluer l'état fonctionnel des HC. Elle repose sur l'utilisation de molécules non perméables, ici le bromure d'éthidium (EtBr) qui pénètre dans le cytoplasme par les HC et s'intercale dans l'ADN. L'intensité de fluorescence de l'EtBr reflète l'activité des HC (Schalper et al., 2008).

Dans l'article initial, l'activité des HC n'avait été mesurée que sur des tranches hypothalamiques de souris C57 mâles, âgées de 7 semaines. Ces tranches étaient incubées en présence ou non de bloqueurs des HC. Le carbenoxolone (CBX) est un bloqueur large des connexines utilisé comme contrôle positif du blocage des HC et JC. Le TAT-Gap19 est un inhibiteur spécifique des Cx43HC. Nous avons alors étendu cette approche aux tranches de TCc contenant le CVD. Nous avons ainsi étudié l'activité des HC dans le NTS chez des animaux nourris *ad libitum* puis soumis à un jeûne de 24 heures. Ces études *in situ* ont été complétées par des analyses biochimiques visant à quantifier les niveaux d'expression de la Cx43 ainsi que les modifications post-traductionnelles telles que le niveau de phosphorylation de la Cx43 et sa modification par un jeûne de 24 heures.

II.1.3 - Matériels et Méthodes

II.1.3.1 - Animaux utilisés

Des souris mâles adultes C57BL/6J, âgées de 5 semaines, ont été obtenues auprès des laboratoires Charles River (L'Abresle, France). Elles ont été hébergées par groupes de 4 dans des cages standards, dans un environnement contrôlé comprenant un cycle lumière-obscurité de 12/12 heures, une température ambiante de 22 °C, et une humidité relative de 40 à 50 %. Les souris avaient un accès libre à l'eau et à la nourriture (granulés AO4, SAFE, Augy, France). Les expériences *in situ,* ainsi que la mise à mort pour les études de biologie moléculaire ont été réalisées sur des souris âgées de 7 à 8 semaines. Certains animaux ont été soumis à un jeûne de 24 heures, initié au milieu de la phase claire du cycle lumière-obscurité.

II.1.3.2 - Mesure de l'activité des Hémicanaux par l'absorption de bromure d'Éthidium

❒ Tranches aiguës de tronc cérébral

La capture de bromure d'éthidium (EtBr) a été réalisée sur des tranches aiguës de tronc cérébral caudal (TCc), préparées à partir de souris âgées de 7 à 8 semaines, nourries *ad libitum* ou mises à jeun pendant 24 heures. Les souris ont été anesthésiées par une injection intrapéritonéale (ip) de kétamine (120 mg/kg) et de xylazine (16 mg/kg) à un volume de 10 ml/kg, puis mises à mort par décapitation. Les cerveaux ont été immédiatement retirés et placés dans un liquide cérébrospinal artificiel (LCSa) enrichi en sucrose à froid et oxygéné (95 % O_2 ; 5 % CO_2 ; la composition du LCSa enrichi en sucrose et en Mg^{2+}, pauvre en Ca^{2+}, est détaillée dans le **Tableau 7**). Des tranches coronales de 250 µm d'épaisseur ont été obtenues à l'aide d'un compresstome (VF-200-0Z ; Precisionary Instruments, Ashland, USA). Les tranches ont ensuite été transférées dans une chambre de récupération constamment oxygénée (95 % O_2 ; 5 % CO_2) contenant le LCSa enrichi en sucrose pendant 30 minutes, puis incubées pendant au moins 30 minutes dans le LCSa d'enregistrement utilisé pour le test de capture du EtBr (la composition de cet LCSa est également détaillée dans le **Tableau 7**).

❒ Capture d'EtBr

Les tranches obtenues à partir d'animaux du même groupe (alimentation *ad libitum* ou jeûne) ont été réparties aléatoirement dans des chambres submergées de 10 mL et incubées pendant 20 minutes dans le LCSa d'enregistrement ou dans le LCSa supplémenté avec 200 µM (micromolaire) de carbenoxolone (CBX, Sigma-Aldrich #C4790) ou 100 µM de TAT-Gap19 (Genosphère biotechnologies, France, séquence YGRKKRRQRRRKQIEIKKFK), avant l'application du EtBr. 4 µM d'EtBr (Invitrogen #15585-011 ; 314 Da) ont été ajoutés dans les chambres submergées pendant 12 minutes. Après l'incubation, les tranches ont été rincées pendant 20 minutes dans le LCSa, puis fixées pendant 1h30 dans du PBS (tampon phosphate salin) 0,1 M contenant 4 % de PFA (paraformaldéhyde), avant d'être traitées pour l'immunohistochimie. Le protocole est schématisé en **Figure 34**, **A**

❒ Immunohistochimie et images

Les tranches ont été incubées dans du PBS 0,1 M contenant 3 % de sérum de chèvre (NGS) et 1 % de Triton X-100 pour empêcher les liaisons non spécifiques. Elles ont ensuite été incubées pendant la nuit avec un anticorps polyclonal de lapin anti-GFAP (1/1000, #Z03334, Dako, Santa Clara, CA, USA), puis lavées dans du PBS et incubées pendant 2 h avec un anticorps secondaire anti-lapin-Alexa Fluor 488 (1/400, #A-11034, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Après rinçage dans du PBS, les tranches ont été incubées pendant 1 minute avec du Hoechst (1/10 000), rincées, montées sur des lames enduites de gélatine, et recouvertes avec du milieu de montage Mowiol. Les images ont été acquises à l'aide d'un microscope confocal (ZEISS LSM 710, objectif x20) en utilisant des longueurs d'onde de 488 nm (Alexa Fluor), 561 nm (EtBr), et 405 nm (Hoechst).

TABLEAU 7 : COMPOSITION DES SOLUTIONS ARTIFICIELLES DE LIQUIDE CÉRÉBROSPINAL UTILISÉES

LCSa (Sucrose, haut Mg^{2+}, faible Ca^{2+}) *in situ, prélèvements pour PCR - 320–330 mOsm*								
Molécule	Chlorure de sodium (**NaCl**)	Bicarbonate de sodium (**NaHCO3**)	Sucrose (**C12H22O11**)	Glucose (**$C_6H_{12}O_6$**)	Chlorure de Potassium (**KCl**)	Dihydrogénophosphate de sodium (**NaH_2PO_4**)	Chlorure de magnésium (**$MgCl_2$**)	Chlorure de Calcium (**$CaCl_2$**)
Concentration (mM) dans H_2O miliQ autoclavée	87	25	75	10	2,5	1	7	0,5

LCSa d'enregistrement *Capture de bromure d'éthidium- 320–330 mOsm*							
Molécule	Chlorure de sodium (**NaCl**)	Bicarbonate de sodium (**NaHCO3**)	Glucose (**$C_6H_{12}O_6$**)	Chlorure de Potassium (**KCl**)	Chlorure de Calcium (**$CaCl_2$**)	Chlorure de magnésium (**$MgCl_2$**)	Dihydrogénophosphate de sodium (**Na_2HPO_4**)
Concentration (mM) dans H_2O miliQ autoclavée	119	26,2	11	2,5	2,5	1,3	1

❒ Analyses

4 animaux ont été utilisés pour chaque expérience indépendante. Les mesures de l'intensité de fluorescence dans les noyaux des cellules GFAP⁺ du NTS ont été réalisées avec le logiciel Image J et un script développé par Kevin Poirot (IE, CRPN). L'absorption du colorant a ensuite été exprimée comme la différence entre la fluorescence mesurée dans les noyaux d'astrocytes GFAP⁺ et la fluorescence de fond mesurée dans des zones sans noyaux détectés. Les valeurs de fluorescence pour les différentes conditions expérimentales ont été normalisées par rapport à la condition « CBX » des tranches de CVD issues de souris nourries et exprimées en pourcentage d'ouverture des HC par rapport à cette condition de référence. Avant la normalisation, les données ont été ajustées pour que les valeurs de fluorescence de la condition CBX soient identiques dans tous les groupes. Pour ce faire, une constante a été ajoutée à toutes les valeurs de fluorescence de chaque groupe, ce qui a permis de recalibrer la base zéro des données. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide de GraphPad Prism 6. La comparaison entre les groupes a été effectuée à l'aide d'une ANOVA (analyse de variance) à un facteur, suivie d'un test post-hoc de Dunnett.

II.1.3.3 - Western blot pour la détection de la Connexine 43, Connexine 43 phosphorylée (Ser368)

Des animaux âgés de 7-8 semaines ont été anesthésiés avec un mélange de kétamine (120 mg/kg) et de xylazine (16 mg/kg), administré par voie intrapéritonéale (ip, à 10 ml/kg), puis mis à mort par décapitation. Les cerveaux ont été extraits, et les régions contenant le CVD ont été collectées, rincées dans du liquide cérébrospinal artificiel (LCSa (sucrose), **Tableau 7**) froid, puis rapidement immergés dans de l'azote liquide avant d'être stockés à -80 °C. Ces échantillons ont été utilisés pour des western blots.

❒ Préparation des Échantillons et extraction des protéines

Les tissus cérébraux contenant le CVD ont été homogénéisés dans un tampon de lyse RIPA (Radioimmunoprecipitation Assay) comprenant 50 mM de Tris (pH 8.0), 0,1 % de dodécylsulfate de sodium (SDS), 1 % de Triton X-100, 0,5 % de désoxycholate de sodium, 150 mM de chlorure de sodium (NaCl) et 1 mM d'EDTA, supplémenté avec un cocktail d'inhibiteurs de protéases et de phosphatases dilué au 1/100 (#B15001, Bimake.com, UK). Les échantillons ont été maintenus dans de la glace sous agitation constante pendant une durée de 1 h pour permettre la lyse complète des tissus. Les homogénats ont ensuite été centrifugés à 12 000× g pendant 20 minutes à 4 °C afin de retirer les débris cellulaires. Le surnageant contenant les protéines solubles a été collecté et la concentration en protéines a été déterminée par la méthode d'essai à l'acide bicinchonique (BCA, Novagen, Allemagne) selon les instructions du fabricant.

❒ Électrophorèse sur gel et électrotransfert

Des quantités égales de protéines (30 µg) par échantillon ont été séparées par électrophorèse sur gel d'acrylamide (SDS-PAGE) à 12 % (dimensions du gel : 18 x 16 cm). La migration a été effectuée dans un appareil de grand gel (Hoefer SE400) à une tension de 85 V pendant la nuit à 4 °C. Les protéines séparées ont ensuite été transférées sur des membranes de nitrocellulose 0,2 µm (Amersham, Allemagne) à l'aide d'un appareil de transfert semi-sec (360 mA pendant 1 h). Le transfert a été vérifié par une coloration au rouge ponceau.

❒ Détection de la Connexine 43

Après le transfert, les membranes de nitrocellulose ont été bloquées pendant 30 minutes dans une solution de PBS contenant 2 % de caséine et 0,5 % de Tween 20. Les membranes ont ensuite été lavées pendant 5 minutes dans du tampon de lavage : PBS, 0,5 % de caséine - 0,5 % Tween 20 avant d'être incubées pendant 2 h à température ambiante avec un anticorps polyclonal de lapin

dirigé contre la connexine 43 (1:5000 ; Invitrogen, #71-0700, Waltham, Massachusetts, USA) dilué dans le tampon de lavage. Après trois lavages de 5 minutes avec tampon de lavage, les membranes ont été incubées pendant 1 h à température ambiante avec un anticorps secondaire conjugué à la peroxydase de raifort (HRP) (anti-IgG de lapin, 1:10000 ; Bethyl Laboratories). Les membranes ont ensuite été lavées trois fois dans le tampon de lavage, puis une fois dans du PBS avant d'être révélées par chimioluminescence avec la solution Super Signal West Pico (ThermoScientific #34079) pendant 2 minutes. Les images ont été acquises à l'aide du système d'imagerie iBright (Invitrogen CL1500 #A44114).

❒ **Stripping des membranes**

Après la détection, les mesures et l'analyse d'intensité des bandes, les membranes ont été lavées pendant 5 minutes dans du TBS, puis incubées deux fois pendant 10 minutes dans un tampon de stripping (pH 2,2) contenant 0,2 M de glycine, 0,1 % de SDS, et 1 % de Tween 20. Ensuite, les membranes ont été lavées deux fois pendant 10 minutes dans du TBS, puis deux fois pendant 5 minutes dans du tampon Tris-Tween 20 (TBST 0,1 %).

❒ **Détection de la Connexine 43 phosphorylée (Ser368)**

Les membranes ont été bloquées avec du TBST-5 % BSA (albumine sérique bovine) pendant 1 h puis rincées trois fois dans du TBST. Elles ont ensuite été incubées avec un anticorps polyclonal de lapin dirigé contre la phospho-connexine 43 (Ser368) (1:5000 dans DU TBST ; ABCAM # ab30559, UK) à 4 °C pendant la nuit. Après trois lavages avec du TBST, les membranes ont été incubées pendant 2 h à température ambiante avec un anticorps secondaire anti-IgG de lapin conjugué au HRP (1:10000 ; Bethyl Laboratories #A120-101P, Montgomery, Texas, USA) dans du TBST-5 % de lait. Les membranes ont ensuite été lavées quatre fois pendant 5 minutes dans du TBST, puis une fois dans du TBS avant la détection par chimiluminescence avec le système d'imagerie iBright.

❒ **Détection de la GAPDH (contrôle de charge)**

Après un nouveau stripping suivant le même protocole décrit précédemment, les membranes ont été incubées avec un anticorps monoclonal de souris dirigé contre la glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase (GAPDH) (1:10000 ; Proteintech, Rosemont, IL, USA), suivi d'une incubation avec un anticorps secondaire conjugué au HRP (anti-IgG de souris, 1:2500 ; Sigma Aldrich, #A9917, St. Louis, MO, USA). Les membranes ont ensuite été développées par chimiluminescence et visualisées avec le système d'imagerie iBright.

❒ **Analyse des données**

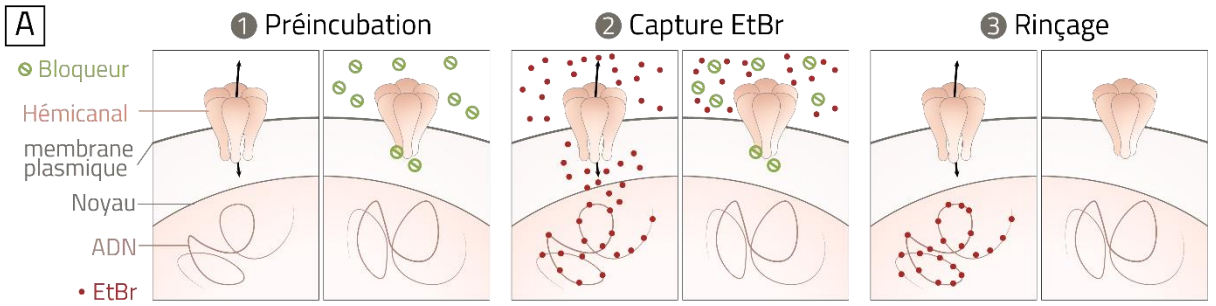
Les *western blot* ont été réalisés à partir d'échantillons prélevés chez 6 animaux nourris *ad libitum* et 6 animaux mis à jeun pendant 24 h. Les intensités des bandes de protéines détectées ont été quantifiées à l'aide du logiciel d'analyse iBright. Pour chaque échantillon, les valeurs d'intensité des protéines d'intérêt (Cx43 et Cx43 phosphorylée) ont été normalisées par rapport aux intensités des bandes de GAPDH (contrôle de charge). L'analyse statistique a été réalisée à l'aide de GraphPad Prism 6. La comparaison entre les groupes a été effectuée à l'aide d'un test t de Student pour échantillons indépendants, comparant les moyennes des deux groupes (nourris et à jeun) puis une correction pour les comparaisons multiples (correction de Bonferroni).

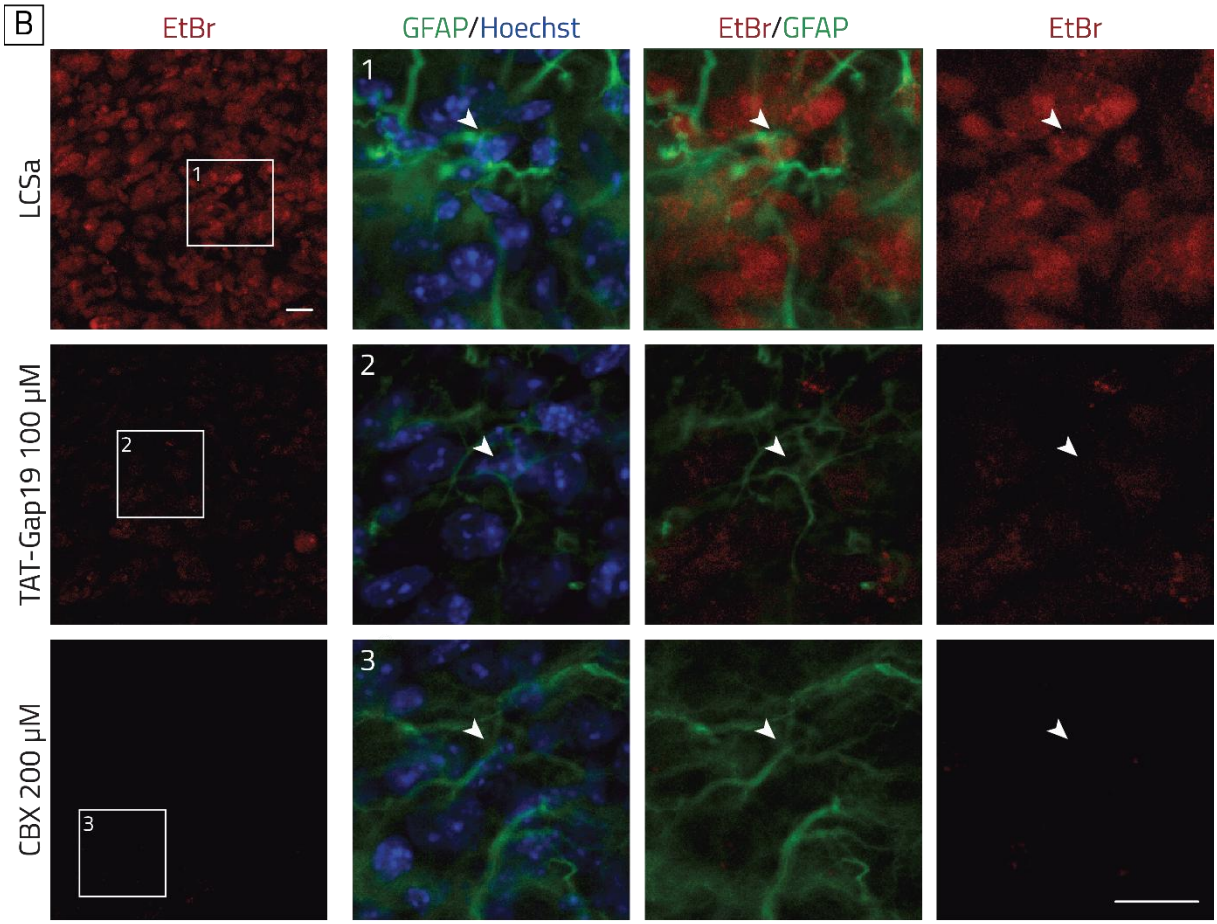
II.1.4 - Résultats

Dans le NTS, l'activité des hémicanaux des astrocytes est importante dans des conditions basales. En effet, l'intensité de la fluorescence du bromure d'éthidium (EtBr) mesurée dans les noyaux des cellules GFAP⁺, reflétant la perméabilité des hémicanaux était élevée en absence de tout bloqueur pharmacologique (condition LCSa ; **Figure 34, B-C : bleu, D : première ligne**). L'ajout de TAT-Gap19 (100 µM), l'inhibiteur spécifique des Cx43HC, a entraîné une diminution significative de la capture d'EtBr, indiquant que l'activité des hémicanaux observée dans notre condition expérimentale est en grande partie dépendante des Cx43 (**Figure 34, B-D**).

Nous avons ensuite évalué l'effet d'un jeûne de 24 heures sur la perméabilité des hémicanaux des astrocytes dans le NTS, une condition connue pour augmenter le tonus orexigène chez la souris (**Figure 35, A-C**). Dans ce contexte de jeûne, l'effet inhibiteur du TAT-Gap19 semble plus important que dans les conditions *ad libitum* (**Figure 35, A-B**), suggérant une augmentation de l'activité des Cx43HC dans le NTS pendant le jeûne, par rapport à la condition nourrie. Néanmoins, ces données issues de 4 expériences indépendantes impliquant un total de 16 animaux ne permettent pas d'atteindre la significativité statistique.

Dans notre article initial, les analyses de RT-qPCR n'ont pas révélé de modifications des niveaux de transcrits de Cx43 dans le CVD de souris soumises à 24 heures de jeûne. Cependant, l'expression protéique n'avait pas été explorée dans cette région, bien que le contrôle de l'expression des connexines soit principalement régulé au niveau post-transcriptionnel (Oyamada et al., 2013). De plus, le cycle de vie de la Cx43 et la perméabilité de ses hémicanaux sont étroitement liés à des événements post-traductionnels tels que la phosphorylation et la déphosphorylation (Pogoda et al., 2016). C'est pourquoi nous avons mesuré les niveaux protéiques de la Cx43 dans le CVD de souris âgées de 7 semaines, ainsi que le degré de phosphorylation de cette connexine (**Figure 35, D-E**). Plus précisément, nous avons utilisé des anticorps ciblant la phosphorylation d'une sérine située dans le domaine cytoplasmique C-terminal de la Cx43, la Ser368, un site spécifiquement phosphorylé par des protéines kinases, notamment la protéine kinase C (PKC). La phosphorylation de la Ser368 est généralement associée à une réduction de l'ouverture des hémicanaux de Cx43 (Cx43HC) et à une diminution de la demi-vie de la Cx43, car elle favorise le recyclage et la dégradation des HC et des JC (Axelsen et al., 2006; Epifantseva & Shaw, 2018; Solan & Lampe, 2014). Ce travail, réalisé en collaboration avec le Dr Rym Barbouche, a nécessité l'utilisation de gels de grande taille pour le western blot, afin de permettre une séparation plus fine des différentes formes phosphorylées et isoformes de la Cx43. L'utilisation d'anticorps dirigés contre la Cx43 a révélé plusieurs fragments de tailles distinctes : un fragment d'environ 45 kDa, ainsi qu'un fragment d'environ 41 kDa. Un fragment plus léger, d'environ 30 kDa, a également été détecté. Les deux plus grands fragments, en particulier celui de 41 kDa, ont également été détectés à l'aide d'anticorps spécifiques des formes phosphorylées de la Cx43. Les résultats laissent apparaître une certaine variabilité entre les animaux d'un même groupe expérimental. Au total, aucune différence significative n'a été observée dans les niveaux globaux de Cx43, ni dans son état de phosphorylation sur la Ser368, dans le CVD des souris à jeun par rapport aux souris nourries.


A
1 Préincubation
2 Capture EtBr
3 Rinçage
Bloqueur
Hémicanal
membrane plasmique
Noyau
ADN
• EtBr


B
EtBr
GFAP/Hoechst
EtBr/GFAP
EtBr
LCSa
TAT-Gap19 100 µM
CBX 200 µM
1
2
3

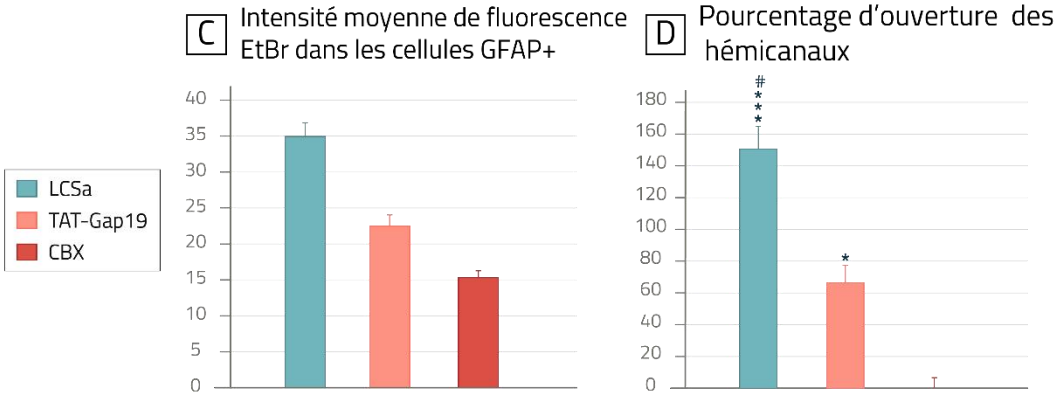

C
Intensité moyenne de fluorescence EtBr dans les cellules GFAP+
D
Pourcentage d'ouverture des hémicanaux
LCSa
TAT-Gap19
CBX
40
35
30
25
20
15
10
5
0
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
#
***
*

FIGURE 34 : ABSORPTION DE BROMURE D'ÉTHIDIUM (ETBR) PAR LES HÉMICANAUX DU NTS

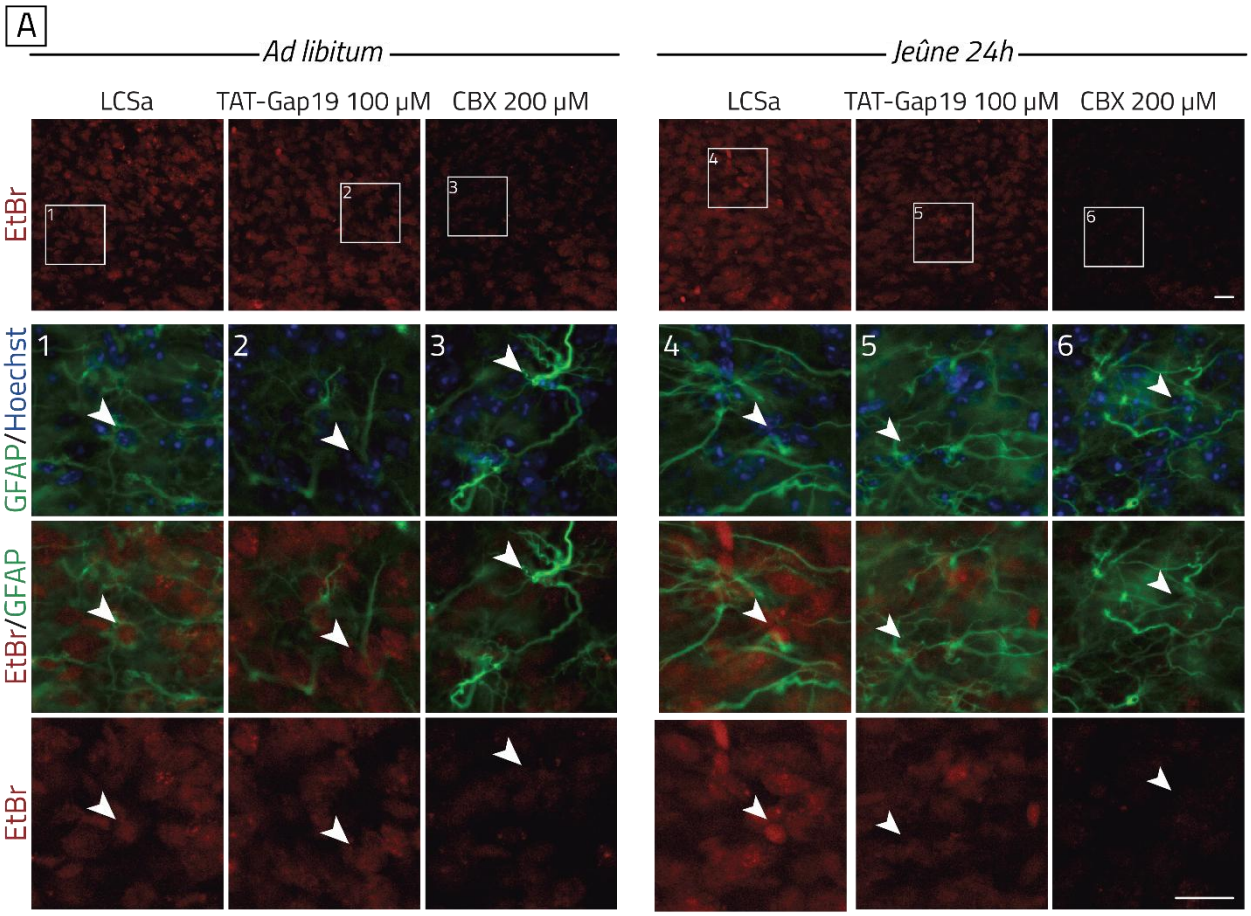
A. Illustration schématique du protocole de capture de EtBr. ① Les tranches sont incubées en présence ou non d'agent pharmacologiques bloquant plus ou moins spécifiquement les hémicanaux pendant 20 minutes. ② 4 µM de EtBr sont ajoutés au LCSa d'enregistrement pendant 12 minutes. Si les hémicanaux sont ouverts, l'EtBr pénètre dans le noyau cellulaire et s'intercale dans l'ADN. ③ Les tranches sont rincées avec le LCSa d'enregistrement pendant 20 minutes.
B. Images représentant la capture d'EtBr par les cellules du NTS de tranches incubées avec du LCSa seul ou supplémenté de CBX 200 µM ou du TAT-Gap19 100 µM. Après la fixation, un immunomarquage de la GFAP et une coloration nucléaire Hoeschst ont été réalisées.
C. Quantification de la fluorescence d'EtBr mesurée dans les cellules $GFAP^+$ du NTS après soustraction du bruit de fond (F1-F0).
D. Pourcentage d'intensité fluorescence pour les différentes conditions expérimentales par rapport à la condition CBX.

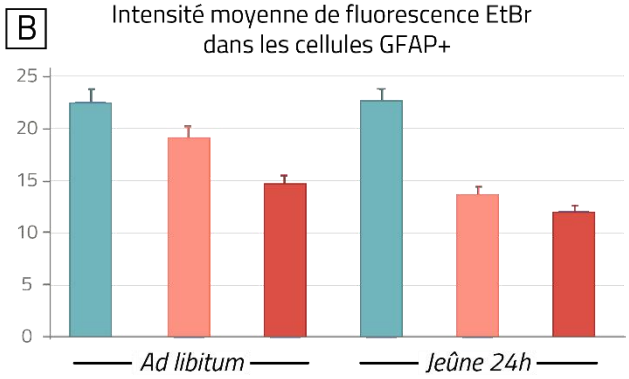
Barre d'échelle : 15 µm.

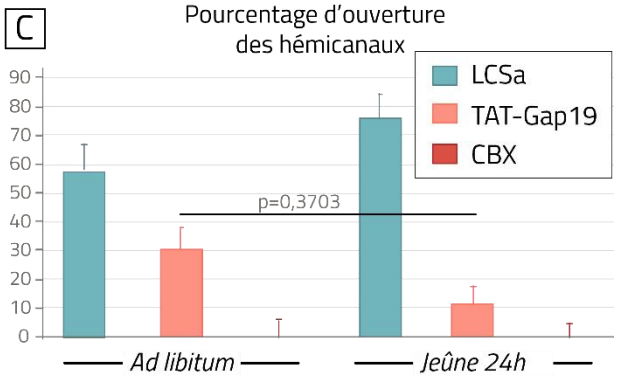
Groupes : n = 4 animaux par groupe. 6 expériences indépendantes.

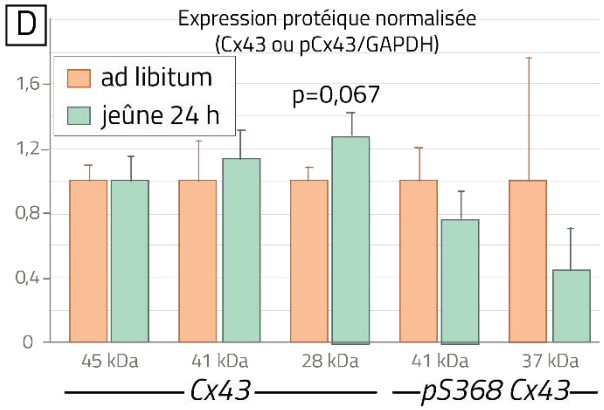
Comparaisons : par rapport à la condition CBX:*Adlibitum*; # par rapport à la condition *TAT-Gap19*. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. Comparaisons statistiques effectuées par ANOVA suivie d'un test post-hoc de Dunnet. $p < 0,05$: * ; $p < 0,01$: ** ; $p < 0,001$: ***.

Abréviations : **CBX** : carbenoxolone, bloqueur large des connexines ; **EtBr** : bromure d'éthidium ; **GFAP** : glial fibrillary acidic protein ; **LCSa** : Liquide cérébrospinal artificiel ; **TAT-Gap19** : bloqueur spécifique des HC constitués de Cx43.


A
Ad libitum
Jeûne 24h
LCSa
TAT-Gap19 100 µM
CBX 200 µM
EtBr
GFAP/Hoechst
EtBr/GFAP
EtBr
1
2
3
4
5
6


B
Intensité moyenne de fluorescence EtBr
dans les cellules GFAP+
25
20
15
10
5
0
Ad libitum
Jeûne 24h


C
Pourcentage d'ouverture
des hémicanaux
LCSa
TAT-Gap19
CBX
p=0,3703
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
Ad libitum
Jeûne 24h


D
Expression protéique normalisée
(Cx43 ou pCx43/GAPDH)
ad libitum
jeûne 24 h
p=0,067
1,6
1,2
0,8
0,4
0
45 kDa
41 kDa
28 kDa
41 kDa
37 kDa
Cx43
pS368 Cx43

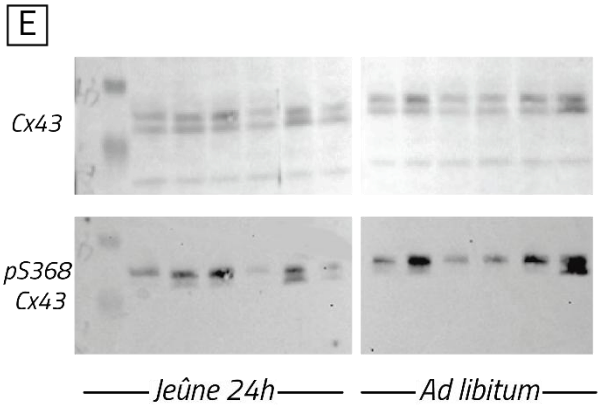

E
Cx43
pS368
Cx43
Jeûne 24h
Ad libitum

FIGURE 35 : ACTIVITÉ HÉMICANALE DANS LE CVD LORS D'UN JEÛNE DE 24 H

A. Images représentant la capture d'EtBr par les cellules du NTS de tranches incubées avec du LCSa seul ou supplémenté de CBX 200 µM ou du TAT-Gap19 100 µM. Après la fixation, un immunomarquage de la GFAP et une coloration nucléaire Hoeschst ont été réalisées.
Barre d'échelle : 15 µm.

B. Quantification de la fluorescence d'EtBr mesurée dans les cellules $GFAP^+$ du NTS après soustraction du bruit de fond (F1-F0).

C. Pourcentage d'intensité fluorescence pour les différentes conditions expérimentales par rapport à la condition CBX :*Adlibitum*.
Groupes : n = 2 animaux nourris et 2 animaux à jeun par expérience. 4 expériences indépendantes.
Comparaisons : par rapport à la condition CBX:*Adlibitum*; # par rapport à la condition *TAT-Gap19*. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. Comparaisons statistiques effectuées par ANOVA suivie d'un test post-hoc de Dunnet. Pas de différence significative.

D. Quantification de l'expression protéique de la Cx43 et de la Cx43 phosphorylée (pS368) dans le CVD de souris nourries *ad libitum* et à jeun pendant 24 heures. Les différentes bandes correspondent aux fragments de Cx43 observés à environ 45 kDa, 41 kDa, et 30 kDa pour la Cx43 totale, ainsi qu'à environ 45 kDa et 41 kDa pour la Cx43 phosphorylée (pS368).
Groupes : n = 6 animaux nourris et 6 animaux à jeun (24 h).
Comparaisons : Les données sont normalisées par rapport à la GAPDH et présentées sous forme de moyenne ± SEM. Comparaisons statistiques effectuées avec un test t de Student pour échantillons indépendants puis une correction pour les comparaisons multiples. **p = 0,067** indique une p-value proche de la différence statistiquement significative entre les deux conditions expérimentales.

E. Western blots pour la Cx43 totale (en haut) et la Cx43 phosphorylée sur la sérine 368 (pS368, en bas) dans le CVD des souris à jeun pendant 24 heures et nourries *ad libitum*.

Abréviations : **CBX** : carbenoxolone, bloqueur large des connexines ; **Cx43** : connexine 43 ; **EtBr** : bromure d'éthidium ; **GAPDH** : glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase (gène de ménage) ; **GFAP** : glial fibrilary acidic protein ; **LCSa** : Liquide cérébrospinal artificiel ; **pSer368 Cx43** : présence de phosphorylations sur la sérine Ser368 de la Cx43 ; **TAT-Gap19** : bloqueur spécifique des HC constitués de Cx43.

Conclusion Étude 1

Dans cette première étude, nous avons caractérisé l'expression des connexines gliales, en particulier la Cx43, dans les deux structures principales impliquées dans la régulation homéostatique de la balance énergétique : l'HYP et le CVD. Nous avons observé une expression notable de la Cx43 associée à une forte densité gliale dans ces deux régions, notamment dans l'ARC et le NTS. Nos expériences *in situ* de capture d'EtBr ont suggéré une activité basale élevée des HC dans ces deux régions, dépendant au moins partiellement des Cx43HC. Cette étude a également apporté les premières preuves que les Cx43HC sont impliqués dans la régulation de la prise alimentaire. En effet, l'administration centrale de TAT-Gap19, un peptide perméable qui inhibe spécifiquement l'ouverture des Cx43HC, a entraîné une diminution de la prise alimentaire sans affecter l'activité locomotrice. L'anorexie était associée à une activation cellulaire, quantifiée par l'expression de c-Fos, spécifiquement dans l'HYP et le CVD.

Bien que notre approche d'injection icv ne soit pas spécifique à une région particulière, le marquage par FITC du TAT-Gap19 ou l'utilisation de TAT-Gap19-I14A biotinylé, ont confirmé une localisation préférentielle du peptide dans les régions bordant les ventricules, incluant l'ARC et le NTS, rapidement après son injection. Cette observation pose la question du rôle respectif de la Cx43 dans l'HYPmb et le CVD dans les effets anorexigènes du TAT-Gap19.

Au-delà de la question de la spécificité régionale, une autre interrogation discutée dans l'article demeure à l'issue de cette étude : quelle est l'identité des cellules gliales responsables de la diminution de la prise alimentaire *via* les Cx43HC ? L'approche pharmacologique ne permet pas de déterminer si l'anorexie et l'activation des réseaux neuronaux observées après l'injection de TAT-Gap19 découlent de l'inhibition d'une population gliale particulière comme les astrocytes $GFAP^+$, les tanycytes et vagliocytes du CVD.

Pour tenter de répondre à ces questions et compléter notre approche pharmacologique, nous avons décidé de cibler les populations gliales potentiellement impliquées, à savoir les astrocytes $GFAP^+$ et les tanycytes, afin de déterminer leur contribution relative au phénotype observé. Pour cela, nous avons développé une lignée murine transgénique permettant la délétion de la Cx43 *via* l'activation de la CreERT2 sous le contrôle du promoteur GFAP ou l'apport d'une Cre exogène injectée dans le troisième (Langlet, 2020; Langlet, Levin, et al., 2013; Parkash et al., 2015) ou quatrième ventricule (Guillebaud et al., 2020). Ces deux approches permettent de cibler respectivement les astrocytes $GFAP^+$ et les tanycytes/vagliocytes dans chacune de ces structures.

II.2 - Étude 2 : Développement d'un modèle transgénique de délétion de la Cx43 dans les cellules gliales du complexe vagal dorsal et/ou de l'hypothalamus

Le développement des souris transgéniques décrit dans cette section a été initié par notre équipe avant le début de ma thèse, en particulier dans le cadre du doctorat de Florent Guillebaud. L'objectif était de supprimer le gène codant pour la Cx43 spécifiquement dans les cellules gliales de l'hypothalamus médiobasal (HYPmb) et/ou du complexe vagal dorsal (CVD). Ce projet a vu le jour grâce à des souris portant un gène Cx43 « floxé » ($Cx43^{LoxP/LoxP}$) données par Christian Giaume du Collège de France. L'équipe a ensuite développé une lignée murine transgénique « "Cx43 knock-out inductible », permettant l'expression d'un marqueur fluorescent (tdTomato) et d'une CreERT2 sous le contrôle du promoteur GFAP. Ce modèle génétique nous offrait plusieurs possibilités : 1) cibler l'HYPmb et/ou le CVD, les deux structures emblématiques du contrôle homéostatique de la prise alimentaire et 2) induire une délétion de la Cx43 dans les astrocytes $GFAP^+$ ou les cellules épendymogliales (les tanycytes ou les vagliocytes).

J'ai rejoint ce projet lors de mon master, à un moment où Florent finalisait le développement de chirurgies ciblant spécifiquement les vagliocytes, pendant que l'équipe caractérisait la délétion de la Cx43 dans les différentes populations gliales et régions cérébrales ciblées. Nous avons alors découvert un hypomorphisme significatif du gène Cx43 floxé, avec une réduction d'environ 80 % des niveaux d'ARN de Cx43 avant recombinaison. Ces résultats décevants, après un long processus de développement, nous ont amenés à réévaluer notre stratégie.

Bien que cette première approche n'ait pas abouti comme escompté, elle a constitué une étape centrale de mon projet de thèse. Ce projet a permis le développement de plusieurs stratégies pour cibler les cellules gliales du CVD et de l'HYPmb, qui méritent d'être discutées dans le cadre de ce manuscrit.

II.2.1 - Matériels et Méthodes

II.2.1.1 - Modèles murins utilisés

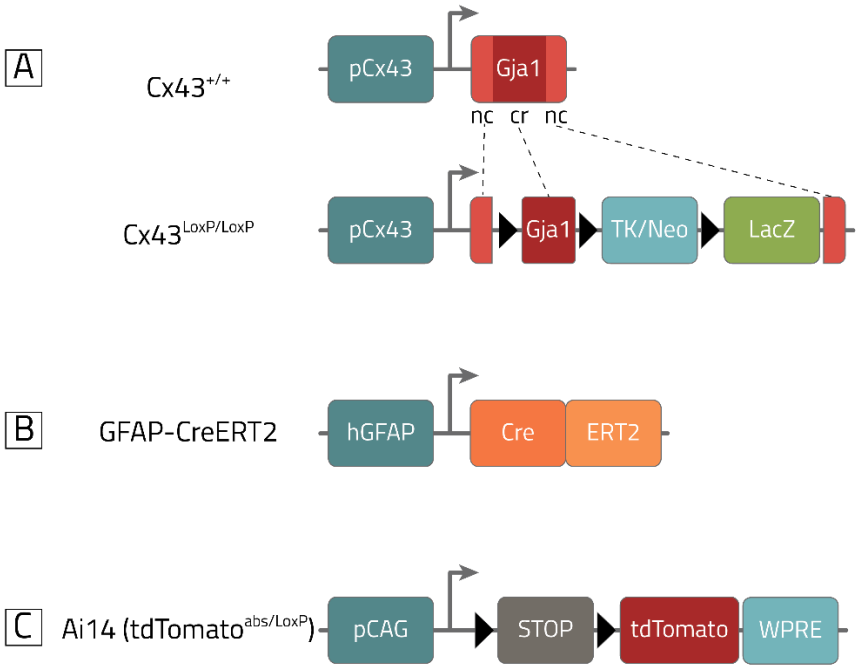


FIGURE 36 : CONSTRUCTIONS GÉNÉTIQUES DES SOURIS TRANSGÉNIQUES UTILISÉES

Figure adaptée de Madisen et al. (2010) et Theis et al. (2001).

Les flèches coudées représentent le site d'initiation de la transcription. Les pointes de flèches représentent les sites LoxP.

A. Construction génétique du gène Gja1 (Cx43) chez les souris $Cx43^{+/+}$ et $Cx43^{LoxP/LoxP}$. Chez les souris de type sauvage ($Cx43^{+/+}$), le gène Gja1 code pour la Cx43 et sa transcription est régulée par le promoteur endogène de la Cx43. Dans les souris $Cx43^{LoxP/LoxP}$, l'exon 2 du gène Gja1 est flanqué de sites LoxP, permettant une délétion conditionnelle sous l'action d'une Cre recombinase exogène. Cette délétion permet également la transcription du gène LacZ, codant pour la β-galactosidase (β-gal), sous le contrôle des éléments de régulation du gène Gja1. La présence de β-gal confirme le succès de la recombinaison. Une cassette de sélection TK/Néo, destinée aux cellules souches embryonnaires, est également incluse dans la construction.

B. Construction génétique des souris GFAP-CreERT2. La région promotrice de la GFAP humaine dirige l'expression d'une protéine de fusion CreERT2. Cette Cre recombinase est activable par un dérivé estrogénique, permettant ainsi une recombinaison inductible.

C. Construction génétique du modèle Ai14, utilisé comme rapporteur de la Cre. Ces souris reportent une seule copie de la construction génétique insérée au locus Rosa26, modifié pour contenir un promoteur fort CAG. Une cassette STOP, flanquée de sites LoxP, empêche la transcription du gène tdTomato en l'absence de recombinaison Cre-induite. Le gène tdTomato, code pour une protéine fluorescente rouge cytoplasmique. Un élément de régulation transcriptionnelle WPRE est inclus pour améliorer la stabilité de l'ARNm.

Abréviations : **Ai14** : Allèle reporter Cre tdTomato (modèle de souris) ; **CAG** : Promoteur cytomégalovirus-chicken β-actin ; **cr** : coding region, exon 2 contenant la portion codante du gène Gja1 ; **Cre** : Cre recombinase dépourvue de signal d'adressage nucléaire ; **Cx43** : Connexine 43 (Gja1) ; **ERT2** : récepteur aux œstrogènes humain modifié liant des dérivés du tamoxifène. ;

FIGURE 36 SUITE.

Gja1 : Gène codant pour la Connexine 43 ; **GFAP** : Glial Fibrillary Acidic Protein ; **hGFAP** : Promoteur humain de la GFAP ; **LacZ** : Gène codant pour la β-galactosidase contenant une séquence signal de localisation nucléaire ; **LoxP** : Locus of X-over P1 (sites de reconnaissance pour la Cre recombinase) ; **nc** : partie non codante du gène Gja1 ; **pCAG** : promoteur fort contenu dans le locus Rosa26 ; **pCx43** : Promoteur de la Cx43 ; **STOP** : Cassette d'arrêt de la transcription prévenant l'expression de la tdTomato ; **TK/Néo** : Thymidine Kinase/Neomycin (cassette de sélection) ; **WPRE** : Woodchuck Hepatitis Virus Posttranscriptional Regulatory Element (Élément régulateur post-transcriptionnel du virus du l'hépatite du woodchuck).

❒ Souris $Cx43^{LoxP/LoxP}$

Les souris $Cx43^{LoxP/LoxP}$ (gène Cx43 « floxé ») fournies par le Collège de France (B6.129S7-$Gja1^{tm1Dlg}$/J) ont été initialement développées par Theis et al. (2001). La construction génétique insérée dans le génome de ces souris de fond génétique C57BL/6J est illustrée de manière simplifiée dans la **Figure 36**. Chez les souris $Cx43^{LoxP/LoxP}$, la région codante de la Cx43, comprise dans l'exon 2 du gène Gja1, est flanquée de sites LoxP. Ces sites permettent d'induire une délétion conditionnelle sous l'action d'une Cre recombinase exogène. En plus de la délétion de la partie codante du gène de la Cx43, la recombinaison induite par la Cre recombinase permet la transcription du gène LacZ, qui code pour la β-galactosidase (β-gal), une enzyme utilisée comme marqueur pour valider la recombinaison. La présence de β-gal dans les noyaux cellulaires indique que le gène Gja1 a bien été délété. La construction génétique comprend également une cassette de sélection TK/Néo, qui est utilisée pour sélectionner les cellules embryonnaires souches ayant subi une recombinaison génétique correcte pendant la phase de développement des souris transgéniques.

❒ Souris GAC

Nous avons développé la lignée de souris que nous avons nommée GAC (GFAP-Ai14-$Cx43^{LoxP/LoxP}$, **Figure 36**). Cette lignée résulte du croisement de souris $Cx43^{LoxP/LoxP}$, de souris portant un gène rapporteur Ai14 (Souris exprimant la tdTomato après recombinaison homologue par la Cre), et de souris GFAP-CreERT2. Les souris $Cx43^{LoxP/LoxP}$ et les souris GFAP-CreERT2 (provenant initialement du Jackson's Laboratory et nommées B6.Cg-Tg(GFAP-cre/ERT2)505Fmv/J) utilisées pour ces croisements étaient issues d'un fond génétique C57BL/6J et les souris Ai14 d'un fond génétique d'origine Swiss. Ces dernières nous ont été transmises par Rosa Cossart, travaillant à l'INMED (Marseille) et sont connues sous l'appellation $Gt(ROSA)26sor^{tm(CAG-tdTomato)Hze}$.

Les souris GFAP-CreERT2 (Ganat et al., 2006), largement utilisées pour l'étude des cellules gliales, présentent un gène modifié de l'enzyme Cre recombinase sous le contrôle du promoteur de la GFAP. Cette recombinase est modifiée pour ne pas posséder de séquence d'adressage nucléaire, la rendant incapable de pénétrer dans le noyau et d'exercer la recombinaison homologue entre les sites LoxP. Pour un contrôle temporel de son activité, la Cre est fusionnée à un récepteur œstrogénique modifié (ERT2). Dans des conditions basales, les récepteurs aux estrogènes sont retenus dans le cytosol par des protéines chaperonnes, principalement des protéines Hsp90 (protéines de choc thermique 90). Le changement de conformation du récepteur, qui permet la translocation nucléaire du récepteur, se produit uniquement en présence de ligands synthétiques spécifiques, le tamoxifène ou ses dérivés. Lorsque les cellules sont exposées au tamoxifène ou à des molécules apparentées, la protéine de fusion CreERT2, exprimée dans les cellules dont le promoteur GFAP est actif, est transloquée dans le noyau. Elle peut induire la recombinaison homologue.

Les souris Ai14 (Madisen et al., 2010) expriment dans le cytoplasme la protéine fluorescente rouge tdTomato, sous le contrôle de la Cre recombinase. L'expression de ce gène rapporteur dépend d'un locus Rosa26 ubiquitaire modifié, qui contient un promoteur fort CAG. Il est suivi d'une cassette STOP, flanquée de sites LoxP qui empêche la transcription du gène tdTomato en l'absence de recombinaison induite par la Cre recombinase. Un élément de régulation

transcriptionnelle WPRE, inclus dans la construction génétique, améliore la stabilité de transcription de l'ARNm. Les souris GAC présentent la construction Ai14 en une seule copie (souris tdTomato$^{absent/LoxP}$).

Toutes les souris transgéniques utilisées dans le cadre de ce projet ont été génotypées à partir d'un échantillon de la queue de l'animal, maintenues dans un environnement à température contrôlée avec un cycle jour-nuit de 12 h/12 h et nourries avec un régime standard (AO4) disponible en quantité *ad libitum*. Des suivis longitudinaux de la croissance pondérale et de la nourriture consommée par la pesée des restes alimentaires ont été réalisés de façon bihebdomadaire après la chirurgie. Un suivi quotidien a été mis en place au cours de la semaine suivant la chirurgie d'injection icv afin de surveiller étroitement l'état de santé des animaux.

II.2.1.2 - Chirurgie d'injections intraventriculaires

Deux composés alternatifs permettant l'apport ou l'expression de la Cre recombinase ont été administrés de manière stéréotaxique dans le 3V ou le 4V chez des animaux âgés de 5 ou 10 semaines, anesthésiés par une injection intrapéritonéale (ip) de kétamine (120 mg/kg) et de xylazine (16 mg/kg) à un volume de 10 ml/kg.

Après avoir rasé le sommet du crâne, la zone opératoire était désinfectée avec de la povidone iodée. La souris était placée sur un cadre stéréotaxique et maintenue à une température de 37 °C. Une incision d'environ 1,5 cm était réalisée pour exposer la surface du crâne, en particulier le Bregma. Les coordonnées stéréotaxiques étaient mesurées par rapport au Bregma (**Tableau 8**). Le crâne a été perforé aux coordonnées ciblées à l'aide de la pointe d'une aiguille 16G.

Une seringue Hamilton de 10 µL était introduite dans le parenchyme cérébral à l'aide d'un microdescendeur. Après une attente de 3 minutes à l'emplacement d'injection, la solution était injectée, suivie d'une nouvelle période d'attente de 3 minutes. La seringue était retirée du parenchyme par paliers d'environ 1 mm, espacés de 2 minutes chacun. Après avoir appliqué un antiseptique (povidone iodée) sur la zone opératoire, des points de suture étaient réalisés. Avant le réveil de l'animal, un traitement analgésique à base de buprénorphine (0,05 mg/kg, 10 ml/kg) était administré par injection sous-cutanée (sc), accompagné d'une solution réhydratante de NaCl 0,9 % (40 ml/kg, administrée en sc, en plusieurs sites d'injection de 10 ml/kg maximum). Un suivi renforcé était mis en place durant la semaine suivant la chirurgie, avec un gel enrichi pour récupération (Gel Diet Energy, SAFE) mis à disposition dans la cage pendant les 3 premiers jours post-opératoires.

TABLEAU 8 : COORDONNÉES STÉRÉOTAXIQUES PAR RAPPORT AU BREGMA (ÉTUDE 2)

Age / Site	5 semaines	10 semaines
3V	-1,2 mm A/P ; -0 mm M/L (médio-latéral) ; -5,6mm dorso-ventral (D/V)	-0,17 mm A/P ; -0 mm M/L ; -5,6mm D/V (Langlet, Levin, et al., 2013)
4V	-6,0 mm en antéropostérieur ; 0 mm en latéralité ; -4,5 mm en profondeur	-6,0 mm en antéropostérieur ; 0 mm en latéralité ; -4,5 mm en profondeur

Abréviations : **3V** : troisième ventricule ; **4V** : quatrième ventricule ; **A/P** : antéro-postérieur (Axe X) ; **M/L** : médio-latéral (Axe Y) ; **D/V** : dorso-ventral (profondeur, Axe Z)

❒ Induction de l'activité de Cre endogène dépendante du tamoxifène et de ses dérivés

Pour cibler les astrocytes du parenchyme de l'HYPmb ou du CVD, nous avons induit l'expression de la CreERT2, exprimée sous le contrôle du promoteur GFAP, par une injection icv de dérivés de tamoxifène. Le tamoxifène ne peut pas être administré dans les ventricules cérébraux en raison de son hydrophobicité et de sa nécessité d'être métabolisé en composés bioactifs par les enzymes hépatiques. L'endoxifène (endox) ou le 4-hydroxytamoxifène (4-OHT), dont les isomères Z sont des métabolites actifs du tamoxifène sont moins hydrophobes (**Figure 37**).

Nous avons principalement utilisé l'endox, le métabolite terminal du tamoxifène, en raison de son efficacité démontrée pour induire une recombinaison homologue après une administration aiguë par voie icv, au moment de la conception de notre expérience (Benedykcinska et al., 2016). Benedykcinska et al. (2016) avaient également signalé l'absence de recombinaison induite par le 4-OHT injecté dans les ventricules latéraux. De plus, l'endox présente une meilleure stabilité et un potentiel d'induction plus fiable une fois dilué que le 4-OHT (Felker et al., 2016). L'endox (Sigma-Aldrich #E8284 ; poids moléculaire (MW) = 410 g/mol) était préalablement dilué dans une solution contenant 30 % de DMSO, un solvant couramment utilisé pour les composés hydrophobes. Pour l'administration dans le 3V, 5 µL d'endox à 2 mg/mL (soit 5 mM) étaient injectés à un débit de 1 µL/min. Dans le 4V, 10 µL étaient injectés dans les mêmes conditions. Les animaux témoins ont reçu une injection icv de la solution contenant uniquement le DMSO.

Dans une expérience supplémentaire, nous avons également utilisé le 4-OHT. Ce composé possède une affinité plus élevée pour l'ERT2 que l'endox et sa puissance est souvent rapportée comme étant deux fois supérieure (Felker et al., 2016). Le 4-OHT (Sigma-Aldrich #H6278 ; mélange 70 % Z et 30 % R ; MW=387,5 g/mol) était dilué dans de l'éthanol absolu (Et100) et chauffé brièvement dans un bain-marie pour faciliter sa solubilisation. Les injections icv de 4-OHT ont été réalisées chez des souris âgées de 5 semaines, avec une dose de 1,5 µL de 4-OHT à 20 mg/mL injectée à un débit de 300 nL/min, basé sur les paramètres d'injection décrits par Lau et al. (2018). Les animaux témoins ont reçu une injection icv d'Et100.

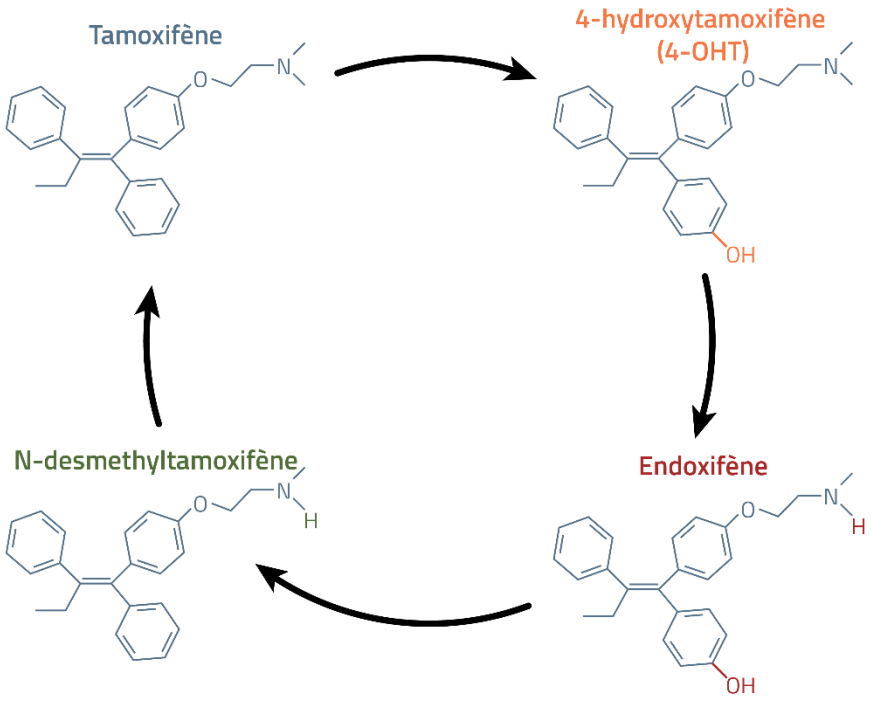


FIGURE 37 : TAMOXIFÈNE ET SES MÉTABOLITES

Le métabolisme du tamoxifène génère des composés qui ont une forte affinité de liaison pour le récepteur des œstrogènes, l'endoxifène et le 4-OHT (4-hydroxytamoxifène).

❒ Apport exogène de la Cre Recombinase

Pour cibler spécifiquement les cellules bordant les ventricules, nous avons utilisé la TAT-Cre (Millipore, #SCR508, MW=41 g/mol). C'est une protéine de fusion qui contient une séquence TAT (Trans-Activator of Transcription, qui facilite la pénétration cellulaire), une séquence de localisation nucléaire (permettant l'adressage de la Cre recombinase à son site d'action) et la Cre recombinase (l'enzyme qui catalyse la recombinaison spécifique entre deux sites loxP de l'ADN). Pour l'administration dans le 3V chez les animaux âgés de 10 semaines, 1,5 µL de solution de protéine recombinante TAT-Cre à 2,5 mg/mL (≈60 mM) dans du NaCl 0,9 % étaient injectés à un débit de 300 nL/min. Dans le 4V, 3 µL de TAT-Cre à 5 mg/mL étaient injectés à 600 nL/min. Les animaux témoins ont reçu une injection icv de NaCl seul. Dans une expérience supplémentaire, nous avons également augmenté les volumes administrés dans le 3V, de souris âgées de 5 semaines : 5 µL de solution de TAT-Cre à 2,5 mg/mL étaient injectés à un débit de 500 nL/min.

II.2.1.3 - Perfusions intracardiaques et analyses histologiques

7 jours, 14 jours, 1 mois ou 3 mois après la chirurgie, les animaux ayant reçu une icv d'endox ou de TAT-Cre ont été anesthésiés par l'injection ip de kétamine (120 mg/kg) et de xylazine (16 mg/kg). Ils ont ensuite été perfusés par voie intracardiaque avec 2,5 mL de PBS 0,1 M (**Tableau 9**) contenant 10 % d'Héparine puis du PBS 0,1 M froid (pH 7,4), suivie d'une solution de paraformaldéhyde (PFA) à 4 % dans du tampon phosphate (*phosphate* buffer, PB) 0,1 M (**Tableau 9**), également à froid. Les cerveaux ont été immédiatement retirés, post-fixés pendant 1 heure à température ambiante dans la solution de PFA à 4 %, rincés toute la nuit dans du PBS, puis cryoprotégés pendant 24 à 48 heures à 4 °C dans une solution de saccharose à 30 % dans du PBS. Les cerveaux ont été congelés par immersion dans de l'isopentane (−40 °C), et des coupes coronales ou sagittales (40 µm d'épaisseur), contenant l'HYPmb ou le CVD ont été réalisées à l'aide d'un cryostat (Leica #CM3050, France) et collectées en série dans du PBS 0,1 M. Après un rinçage dans du PBS, les coupes ont été montées sur des lames gélatinées et recouvertes avec du milieu de montage Mowiol, pour la visualisation de la fluorescence tdTomato.

❒ Immunomarquages

Des immunomarquages supplémentaires pour la β-gal, la Cx43 (lapin), la GFAP (lapin) et la vimentine ont été réalisés sur des coupes en flottaison. Les protocoles spécifiques à chaque protéine sont détaillés dans le **Tableau 9**. Les coupes ont d'abord été incubées pendant 1 heure dans un tampon de saturation composé de PBS, de Triton X-100 et de sérum de chèvre (NGS), parfois supplémenté d'albumine sérique bovine (BSA) (les concentrations sont indiquées dans le **Tableau 9**). Elles ont ensuite été incubées dans la même solution de saturation, cette fois supplémentée de l'anticorps primaire, pendant une nuit à température ambiante. Après trois rinçages au PBS, des anticorps secondaires couplés à des fluorochromes ont été utilisés à une dilution de 1/400 pour une incubation de 2 heures à température ambiante. Enfin, après un dernier rinçage dans du PBS, un marquage nucléaire au Hoechst a été réalisé pour certaines expériences, par incubation de 30 secondes à une dilution de 1/10 000 dans du PBS.

❒ Acquisition d'images et figures

Les images confocales ont été prises grâce à un microscope LSM700, Zeiss (Plateforme PRATIM, TSCharles) et analysées grâce au logiciel Zen. Dans certains cas, afin de permettre la visualisation de l'ensemble de la coupe avec une définition satisfaisante, des mosaïques d'images à l'objectif x10 ont été réalisées. Toutes les images ont été traitées ultérieurement dans Adobe Photoshop CS6, avec uniquement des ajustements de contraste et de luminosité.

TABLEAU 9 : LISTE DES TAMPONS ET DES ANTICORPS UTILISÉS DANS L'ÉTUDE 2

Phosphate Buffered Solution, PBS 0,1 M *Immunohistofluorescences et perfusions intracardiaques*				
Composant	Chlorure de Potassium, **KCl**	Chlorure de sodium, **NaCl**	Dihydrogénophosphate de potassium, **KH_2PO_4**	Hydrogénophosphate de sodium, **Na_2HPO_4**
Concentration dans H_2O distillée	2,7 mM	137 mM	1,8 mM	10 mM
PB 0,1 M *Préparation de Paraformaldéhyde (PFA) 4 %*				
Composant	Hydrogénophosphate de sodium, **Na_2HPO_4**		Dihydrogénophosphate de sodium, **NaH_2PO_4**	
Concentration dans H_2O distillée	80 mM		20 mM	
- *A agiter sur une plaque chauffante (jusqu'à environ 45 °C) avant l'ajout de PFA 4 %* - *Maintien à une température < 60 °C pendant environ 1 h jusqu'à dissolution* - *Filtrage après refroidissement*				

PROTOCOLES D'IMMUNOHISTOFLUORESCENCE						
Protéine cible	**Rinçages** *3 fois*	**Saturation-perméabilisation** *Temps incubation = 1 heure*	**Anticorps primaire** *Temps incubation = 1 nuit*	**Rinçages** *3 fois*	**Anticorps secondaire** *Temps incubation = 2 heures*	**Rinçages** *3 fois*
β-Galactosidase	PBS	+ Sérum Normal de Chèvre (NGS) 5 % + Triton x100 (Tx : triton) 0,3 %	**Poulet α β-Galactosidase** ABCAM, #ab134435 **1/400** PBS + NGS 5 % + Tx 0,3 %	PBS	**Chèvre α-poulet Alexa 488** Invitrogen, #A-11039 **1/400** PBS + NGS 5 % + Tx 0,3 %	PBS
Cx43	PBS	NGS 3 % + Albumine Sérique de Boeuf (BSA) 1 % + Tx 0,3 %	**Lapin α-Cx43** Alomone Labs #AAC-201 **1/3000** NGS 3 % + BSA 1 % + Tx 0,3 %	PBS	**Chèvre α-lapin Alexa 488** Invitrogen, #A-11034 **1/400** NGS 3 % + Tx 0,3 %	PBS
GFAP	PBS	NGS 3 % + Tx 0,3 %	**Lapin α-GFAP** Dako #Z0334 **1/1000** NGS 3 % + Tx 0,3 %	PBS	**Chèvre α-lapin Alexa 488** Invitrogen, #A-11034 **1/400** NGS 3 % + Tx 0,3 %	PBS
Vimentine	PBS	NGS 3 % + Tx 0,3 %	**Poulet α-Vimentine** Millipore #AB5733 **1/2000** NGS 3 % + Tx 0,3 %	PBS	**Chèvre α-poulet Alexa 488** Invitrogen, #A-11039 **1/400** NGS 3 % + Tx 0,3 %	PBS

II.2.1.4 - Cultures primaires d'astrocytes

Des cultures primaires d'astrocytes hypothalamiques ont été préparées à partir de souriceaux de la lignée GAC âgés de 5 jours. Le tissu hypothalamique a été dissocié mécaniquement dans une solution saline dépourvue de Ca^{2+}. La suspension cellulaire obtenue a ensuite été cultivée dans des flasques de 25 cm^2 contenant du milieu DMEM/HAM F12 50/50 à haute teneur en glucose, enrichi avec 10 % de sérum bovin fœtal, 1 % de glutamine, et 1 % de pénicilline/streptomycine. Après une période de croissance, les cultures présentaient une pureté de 90 à 95 % d'astrocytes exprimant le GFAP. Les cellules ont été dissociées à l'aide de trypsine et placées dans des boîtes de 24 puits contenant des lamelles de verre. La recombinaison Cre-LoxP a été induite par l'ajout de TAT-Cre au milieu de culture. Des concentrations croissantes de TAT-Cre, allant de 0,5 µM (≈ 2 ng/mL) à 8 µM (330 ng/mL), ont été testées pendant 1 à 3 heures d'incubation. Les cultures ont ensuite été fixées 48 heures après l'incubation avec TAT-Cre, par une fixation de 30 minutes à la paraformaldéhyde (PFA) à 4 %.

Des immunomarquages de la Cx43 (lapin) et de la GFAP (lapin), ont été réalisés sur des lames gélatinées. Les protocoles spécifiques à chaque protéine sont détaillés dans le **Tableau 9**. Les lames ont d'abord été incubées pendant 1 heure dans un tampon de saturation composé de PBS, Triton X-100, et de sérum de chèvre (NGS), parfois supplémenté d'albumine sérique bovine (BSA). Ensuite, les lames ont été incubées dans cette même solution de saturation, mais enrichie de l'anticorps primaire, pendant une nuit à température ambiante. Après trois rinçages au PBS, des anticorps secondaires couplés à des fluorochromes ont été appliqués à une dilution de 1/400 pour une incubation de 2 heures à température ambiante. Enfin, un marquage nucléaire avec le colorant Hoechst a été réalisé, par incubation de 30 secondes à une dilution de 1/10 000 dans du PBS. Après séchage des lames à l'obscurité, elles ont été recouvertes avec du milieu de montage Mowiol, puis analysées par imagerie confocale (Zeiss LSM 710).

II.2.1.5 - Mesure des niveaux de transcrits de Cx43 chez les souris GAC

Les animaux ont été anesthésiés avec un mélange de kétamine (120 mg/kg) et de xylazine (16 mg/kg), administré par voie intrapéritonéale (ip, à 10 ml/kg), à 5 semaines post-chirurgie, puis mis à mort par décapitation. Les cerveaux ont été extraits, et les régions du cortex préfrontal, de l'HYP, et du CVD ont été collectés, rincés dans du liquide cérébrospinal artificiel (LCSa haut sucrose, **Tableau 7**) froid, puis rapidement immergés dans de l'azote liquide avant d'être stockés à -80 °C. Ces échantillons ont été utilisés pour l'analyse de l'expression des transcrits par RT-qPCR.

❒ Extraction des ARN totaux

Les ARN totaux ont été extraits à partir des tissus décongelés préalablement broyés, en utilisant 1 mL de TRIzol® (500 µL pour les échantillons de CVD ; Sigma-Aldrich, St. Louis, MA, USA), selon les instructions du fabricant. Pour isoler les ARN, 200 µL de chloroforme (100 µL pour le CVD) ont été ajoutés, suivis d'une centrifugation des tubes à 8000 x g pendant 15 minutes à 4 °C. La phase aqueuse contenant l'ARN a été récupérée et mélangée avec un volume égal d'isopropanol, puis les échantillons ont été centrifugés à 8000 x g pendant 10 minutes à 4 °C pour précipiter l'ARN. Le culot d'ARN a été lavé à l'éthanol 75 %, séché à l'air libre, puis resuspendu dans 50 µL (ou 20 µL pour le CVD) d'eau DEPC. La concentration et la pureté de l'ARN extrait ont été déterminées par spectrophotométrie à l'aide d'un Nanodrop, en mesurant la densité optique à 260 et 280 nm.

❒ Transcription inverse et synthèse de l'ADNc

Des aliquots de 1 µg d'ARN total ont été utilisés pour générer les matrices d'ADNc. La réaction de transcription inverse (RT) a été réalisée avec la transcriptase inverse du virus de la leucémie murine de Moloney, en présence d'amorces hexamères aléatoires (Promega, Madison, WI, USA), dans un volume total de 20 µL, contenant 1 µL d'amorces hexamères aléatoires (50 ng/µL,

Promega). La réaction a été incubée à 37 °C pendant 50 minutes, puis inactivée par chauffage à 70 °C pendant 15 minutes.

❒ Réaction de PCR en Temps Réel

L'expression de la Cx43 a été quantifiée par PCR en temps réel en utilisant le système LightCycler® 480 (Roche Applied Science, Penzberg, Allemagne) et le kit SYBR Green I Master Mix (Roche, #04707516001). Les réactions de PCR ont été effectuées dans un volume final de 10 µL, comprenant 0,25 µM de chaque amorce spécifique et les échantillons d'ADNc dilués pour un équivalent de 40 ng d'ARN initial. Les séquences des oligonucléotides utilisées sont détaillées dans le **Tableau 10**. Les conditions thermiques de la PCR étaient les suivantes : une étape d'activation initiale à 95 °C pendant 10 minutes, suivie de 40 cycles de dénaturation à 95 °C pendant 15 secondes, d'hybridation à 60 °C pendant 30 secondes, et d'élongation à 72 °C pendant 10 secondes. La spécificité des produits d'amplification a été vérifiée par analyse de la courbe de fusion après les cycles de PCR, comprenant une étape de dénaturation à 95 °C pendant 5 secondes, suivie d'une incubation à 65 °C pendant 1 minute, puis une augmentation progressive de la température jusqu'à 97 °C, avec 5 acquisitions par degré Celsius à un rythme de 0,11 °C/seconde.

❒ Analyse des données

La génération de produits spécifiques de PCR a été confirmée par analyse de la courbe de fusion. Les valeurs de Ct (*Cycle threshold*) ont été déterminées pour chaque échantillon à l'aide du logiciel fourni avec le LightCycler® 480. L'expression relative des gènes cibles a été calculée en utilisant le gène de la GAPDH comme gène de référence interne. Les comparaisons entre trois groupes ont été effectuées à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA) pour échantillons indépendants. Les valeurs de $p < 0,05$ ont été considérées comme significatives

Gène	Séquence d'amorce	Température de dissociation		Taille des amplicons	Identifiant de l'ARNm
gfap	F	AGAGGAGTGCATCGGTCTAAGTTT	56,9°C	167 pb (paires de bases)	NM_001131020.1 NM_010277.3
	R	GCCGCTCTAGGGACTCGTTC	59,8°C		
mGja1 (Cx43)	F	AGAGCCGAACTCCTTT	55,7°C	247 pb	NM_010288.3
	R	GTTCATCACCAGAGCTGAC	56,1°C		
mGjb6-V2 (Cx30-V2)	F	CTGTCCCGAATTCATTCCC	57,9°C	292 pb	NM_001010937.2
	R	CATCGTCAGGCTTATTCTGAG	55,8°C		
mGjb2 (Cx26)	F	GCGACCCATTTCGGACCAA	58,2°C	159 pb	NM_008125.3
	R	GAGTGTGCCCAATCCATCT	57,3°C		
mPanx1	F	CAGGCTGCCTTTGTGGATTC	56,7°C	145 pb	NM_019482.2
	R	CGGGCAGGTAGGAGTATG	57,2°C		
mGAPDH	F	TTCTCAAGCTCATTTCCGGTATG	54,9°C	143 pb	NM_008084.3
	R	GGATAGGGCCTCTTGGTCGA	56,9°C		

TABLEAU 10 : SÉQUENCES DES OLIGONUCLÉOTIDES UTILISÉES (PRIMERS) POUR LES RT-QPCR DE L'ÉTUDE 2

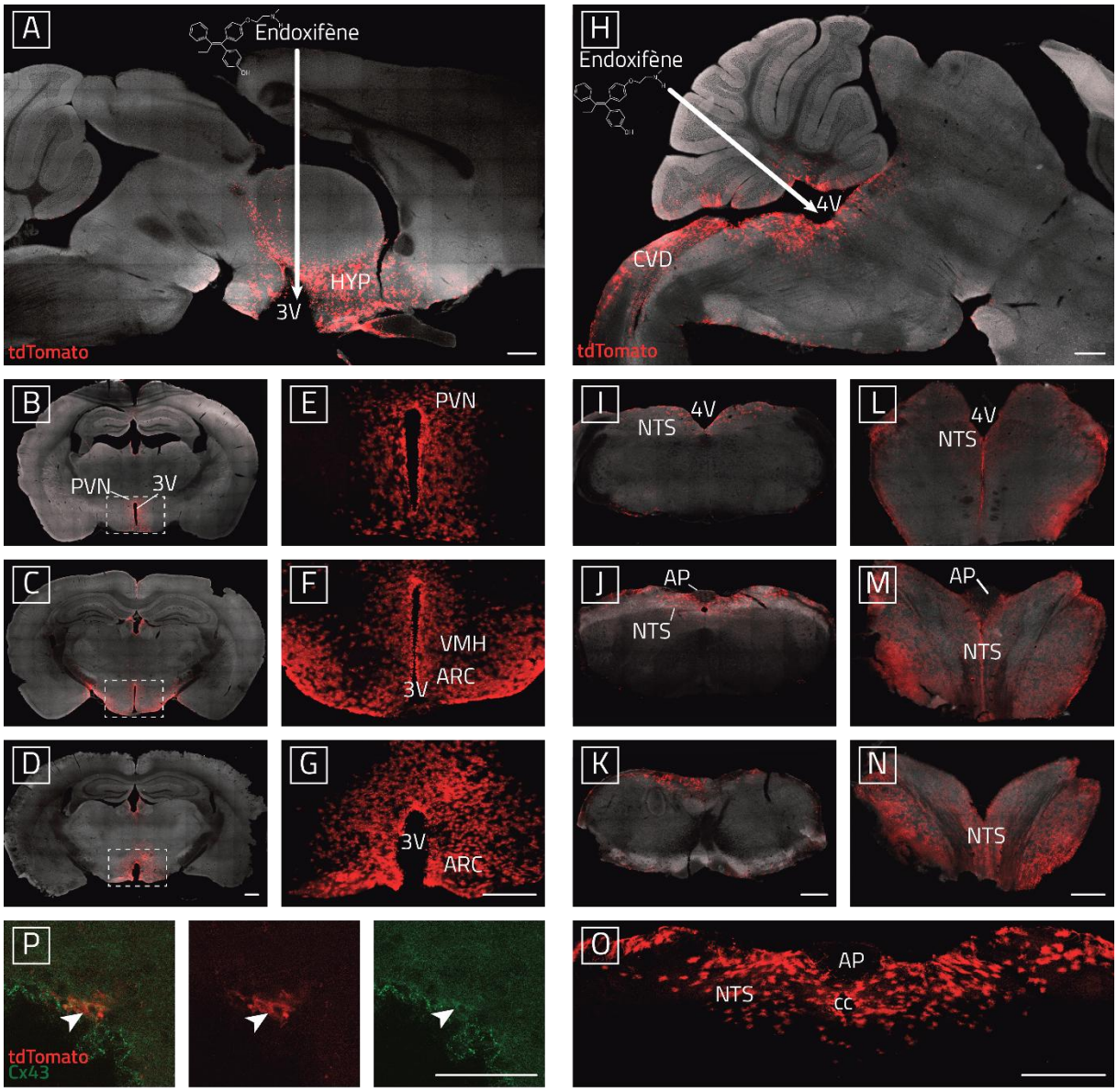


FIGURE 38 : MODÈLE D'INDUCTION DE CREERT2 DANS LES ASTROCYTES PAR DES INJECTIONS ICV D'ENDOXIFÈNE DANS LE 3V OU LE 4V

A. Mosaïque d'imagerie confocale (objectif x10) d'une coupe longitudinale du cerveau, montrant le site d'injection dans le 3V, à proximité de l'hypothalamus de la solution d'endoxifène (5 µL d'endoxifène à 2 mg/mL dans solution de DMSO ; 1 µL/min). Cette injection induit une fluorescence tdTomato dans l'hypothalamus, mais pas dans le reste du parenchyme cérébral.
B-D. Mosaïque d'imagerie confocale (objectif x10) de coupes coronales de souris ayant reçu de l'endoxifène dans le 3V. La fluorescence tdTomato est observée dans la région tubérale de l'hypothalamus, incluant le PVN (**B**), l'ARC et le VMH rostral (**C**) et caudal (**D**).
E-G. Fluorescence de la tdTomato dans le parenchyme hypothalamique. Ces images correspondent à un agrandissement des images **B-D**.
H. Mosaïque d'imagerie confocale (objectif x10) d'une coupe longitudinale du cerveau, montrant le site d'injection, dans la citerne du 4V, de la solution d'endoxifène (10 µL d'endoxifène à 2 mg/mL dans solution de DMSO ; 1 µL/min).
I-N. La fluorescence tdTomato est observée dans le CVD rostral (**I, L**), postrémal (**J, M**) et caudal (**K, N**), visibles sur des coupes coronales (**I-K**) ou dorsales (**L-N**).
A. O. Agrandissement du marquage tdTomato montré en M. L'AP présente peu de cellules tdTomato$^+$, alors que le NTS est largement marqué par la fluorescence.

II.2.2 - Résultats

Pour cibler spécifiquement les sous-populations de cellules gliales de l'HYPmb ou du CVD chez des souris adultes, nous avons utilisé deux composés alternatifs permettant l'apport ou l'expression de la Cre recombinase. L'administration ventriculaire d'endoxifène (endox) permettait de cibler les astrocytes GFAP$^+$ de l'HYPmb et du DVC tandis que l'injection icv de TAT-Cre dans le 3ème ou le 4ème ventricule permettait de toucher principalement les tanycytes et vagliocytes.

L'efficacité de ces outils a été testée en vérifiant l'expression cytoplasmique de la tdTomato dans les cellules ciblées après leur administration dans le troisième ventricule (3V) ou le quatrième ventricule (4V) chez des animaux Ai14 (tdTomato$^{+/LoxP}$) âgés de 10 semaines. Une fois l'expression de tdTomato confirmée, nous avons évalué la capacité de ces outils à induire la délétion de la Cx43 dans les structures d'intérêt par immunohistochimie et réaction de polymérase en chaine quantitative (qPCR). L'expression nucléaire de la β-galactosidase (β-gal) a également été utilisée comme indicateur de la recombinaison dans les cellules gliales ciblées, le gène LacZ ayant été introduit dans le gène floxé de la Cx43.

II.2.2.1 - L'endoxifène permet d'induire une recombinaison homologue dans les astrocytes du parenchyme du CVD et de l'hypothalamus

Pour cibler les cellules exprimant la GFAP dans l'HYPmb et le CVD, nous avons induit l'expression de la CreERT2 sous le contrôle du promoteur GFAP, *via* une icv d'endox dans le 3V ou le 4V chez des animaux âgés de 10 semaines. Plusieurs conditions d'injection ont été testées, notamment des concentrations de 7,5 mM ou 5 mM d'endox avec un volume d'injection de 5 µL. Pour les injections dans le 4V, des volumes de 5 µL et 10 µL ont été évalués. Finalement, nous avons opté pour l'administration d'endox à 5 mM, correspondant à une concentration de 2 mg/mL d'endox dissous dans du DMSO. Nous avons choisi d'injecter 5 µL dans le 3V (**Figure 38, A à G**) et 10 µL dans le 4V (**Figure 38, H à O**), ce dernier étant réalisé dans la citerne du 4V, qui présente un volume plus important.

Ces paramètres d'injection permettent de cibler respectivement les cellules gliales du parenchyme de l'HYPmb et du CVD, ainsi que les cellules gliales situées en bordure des ventricules : 3V (**Figure 38, E à G**) et 4V, (**Figure 38, J et O**). Ces dernières correspondent aux tanycytes et aux vagliocytes. Il est important de noter que les tanycytes β, situés à la frontière du noyau arqué de l'hypothalamus (ARC) et de l'éminence médiane (EM), sont connus pour peu exprimer la GFAP (Rodríguez et al., 2019). Dans nos expériences, bien que quelques tanycytes β aient exprimé la tdTomato, la majorité de la bordure de l'EM n'a pas été marquée, suggérant une recombinaison limitée dans ces cellules (**Figure 38, F**). Nous avons évalué l'expression de la tdTomato à plusieurs intervalles de temps : 7 jours, 14 jours, 1 mois, et 3 mois après l'injection. La **Figure 38** présente les résultats obtenus chez des animaux mis à mort 7 jours après la chirurgie. L'expression de la tdTomato était stable au fil du temps, sans diminution notable de l'intensité du marquage jusqu'à 3 mois post-injection (données non montrées).

FIGURE 38 SUITE.

P. Bordure du 3V visualisée à l'objectif x100, montrant la Cx43 (en vert) dans les cellules tdTomato$^+$. Le marquage de la Cx43 semble être conservé dans les cellules ayant une CreERT2 activée par l'endoxifène.

Abréviations : **3V** : troisième ventricule ; **4V** : quatrième ventricule ; **AP** : *area postrema* ; **ARC** : noyau arqué de l'hypothalamus ; **cc** : canal central ; **CVD** : complexe vagal dorsal ; **HYP** : hypothalamus ; **NTS** : noyau du tractus solitaire ; **PVN** : noyau paraventriculaire de l'hypothalamus.

Barres d'échelles : 500 µm (**B à O**), 50 µm (**P**).

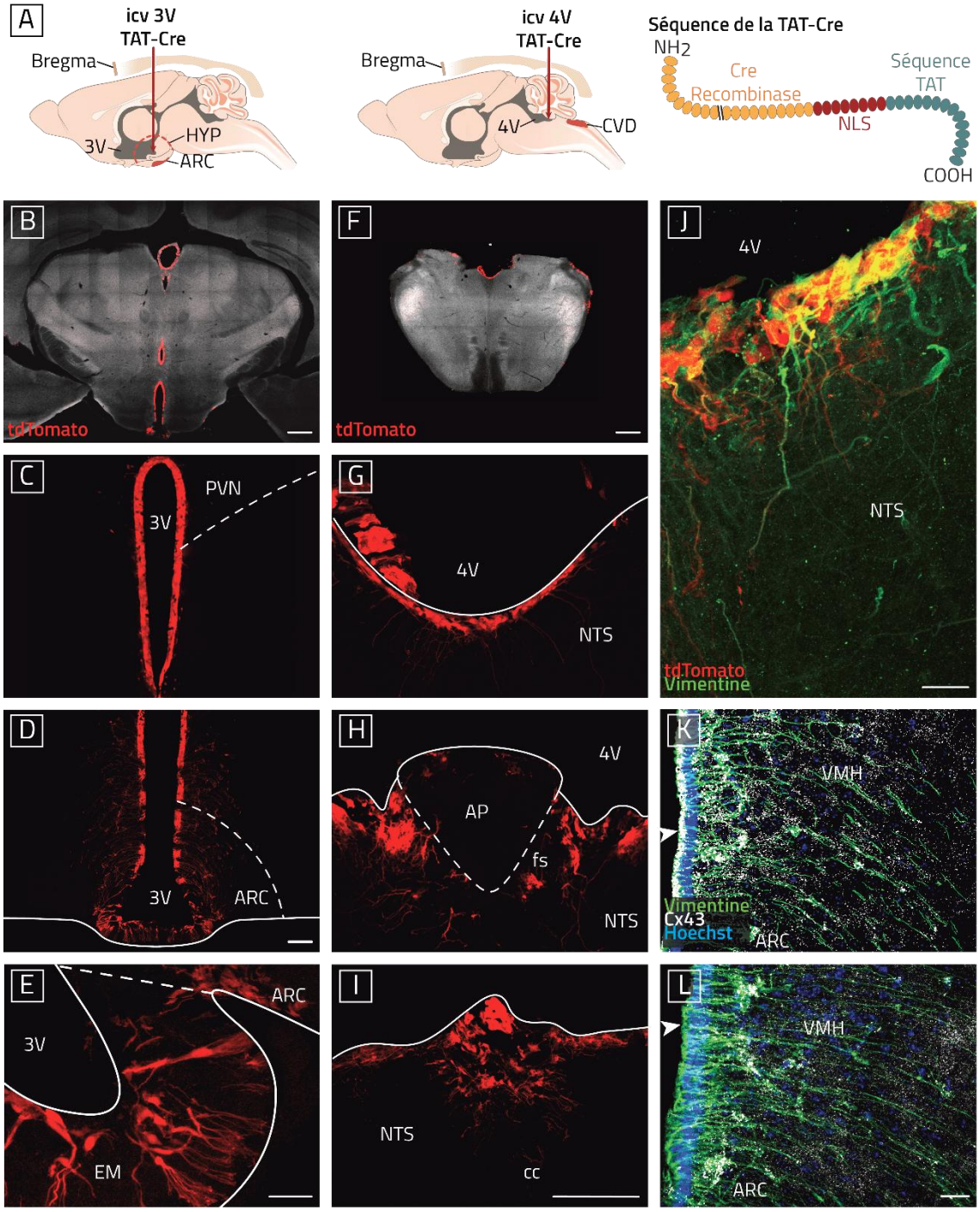


FIGURE 39 : MODÈLE D'INDUCTION DE LA RECOMBINAISON PAR TAT-CRE EN BORDURE DES VENTRICULES CÉRÉBRAUX

A. Schéma illustrant la séquence TAT-Cre, injectée sous contrôle stéréotaxique dans le 3V (1,5 µL de TAT-Cre à 2,5 mg/mL dans du NaCl 0,9 % ; 300 nL/min) ou le 4V (3 µL de TAT-Cre à 5 mg/mL dans du NaCl 0,9 % ; 600 nL/min). La séquence TAT, dérivée du VIH, permet l'internalisation de la Cre Recombinase dans tous les types cellulaires et comprend également une séquence d'adressage nucléaire (NLS).

B. Mosaïque d'imagerie confocale (objectif x10) montrant un marquage tdTomato délimitant le 3V et absent dans le parenchyme cérébral.

C-D. Coupes coronales de souris Ai14 visualisées au microscope confocal (objectif x10) de la région tubérale de l'hypothalamus rostrale (**C.**) et intermédiaire (**D.**). Les lignes pleines délimitent

FIGURE 39 SUITE.

les tissus, et les tirets indiquent l'interface entre les différents noyaux hypothalamiques. La fluorescence tdTomato est observée dans les cellules en bordure du 3V.

E. Visualisation à l'objectif x40 de l'interface entre l'éminence médiane (EM) et le noyau arqué (ARC). Les cellules tdTomato$^+$ sont majoritairement des tanycytes, caractérisés par leurs prolongements vers le parenchyme ou l'éminence médiane.

F. Mosaïque d'imagerie confocale (objectif x10) montrant un marquage tdTomato délimitant la bordure du tissu, à proximité du 4V.

G-I. Coupes coronales de souris Ai14 visualisées au microscope confocal (objectif x10), montrant la fluorescence tdTomato dans les cellules en bordure du 4V. Les lignes pleines représentent les délimitations du tissu et les tirets indiquent l'interface entre les différents noyaux du CVD.

J. Immunohistofluorescence de la vimentine (vert) chez les souris exprimant la tdTomato (rouge) après icv 4V TAT-Cre. Les cellules exprimant la tdTomato sont pour la majorité des vagliocytes vimentine$^+$.

K-L. Bordure du 3V visualisée à l'objectif x63 pour mettre en évidence la Cx43 (blanc) par les tanycytes vimentine$^+$ (vert), chez les souris GAC ayant reçu du NaCl (**K.**) ou de la TAT-Cre (**L.**) dans le 3V. Chez les souris GAC ayant reçu de la TAT-Cre (**L**), l'expression de la Cx43 semble réduite en bordure de ventricule (pointes de flèches), par rapport aux souris ayant reçu du NaCl (**K**). Elle reste néanmoins présente dans le parenchyme, y compris dans les prolongements des tanycytes.

Abréviations : **3V** : troisième ventricule ; **4V** : quatrième ventricule ; **AP** : *area postrema* ; **ARC** : noyau arqué de l'hypothalamus ; **cc** : canal central ; **CVD** : complexe vagal dorsal ; **DMH** : noyau dorsomédian de l'hypothalamus ; **EM** : éminence médiane ; **fs** : *funiculus separens* ; **HYP** : hypothalamus ; **NLS** : séquence signal d'adressage nucléaire ; **NTS** : noyau du tractus solitaire ; **PVN** : noyau paraventriculaire de l'hypothalamus ; **VMH** : noyau ventromédian de l'hypothalamus ; **VL** : ventricule latéral.

Barres d'échelles : 500 µm (B et F), 50 µm (C, D, E, G, H, I) ou 25 µm (J, K, L).

II.2.2.2 - La TAT-Cre permet de cibler les cellules bordant les ventricules cérébraux

Les cellules épendymogliales, en raison de leur localisation stratégique à proximité des ventricules cérébraux, sont particulièrement accessibles aux interventions *via* le liquide cérébrospinal (LCS). Les tanycytes bordent le 3V, tandis que les vagliocytes sont situés près du 4V. Nous avons tiré parti de ce positionnement pour introduire de manière exogène la Cre recombinase par infusion icv de TAT-Cre, une approche déjà validée pour le ciblage des tanycytes dans des études antérieures (Langlet, 2020; Langlet, Levin, et al., 2013; Parkash et al., 2015) et les vagliocytes du CVD (Guillebaud et al., 2020).

En nous appuyant sur les travaux de Langlet et al. (2013), concernant l'administration de TAT-Cre dans le 3V, nous avons mis au point des injections de TAT-Cre chez des souris Ai14 et GAC âgées de 10 semaines. Une solution de 2,5 mg/mL (≈60 mM) de TAT-Cre a été injectée dans des conditions strictement contrôlées, à faible débit et en petits volumes, permettant ainsi de respecter les conditions physiologiques de diffusion du LCS et de cibler spécifiquement les cellules en bordure des ventricules, sans affecter le parenchyme environnant.

Nous avons confirmé que l'administration de TAT-Cre dans le 3V induisait une expression de la tdTomato principalement localisée à la bordure du 3V (**Figure 39, B à E**), dans nos conditions expérimentales. Cette expression a été observée dès 7 jours post-injection (**Figure 39**). La

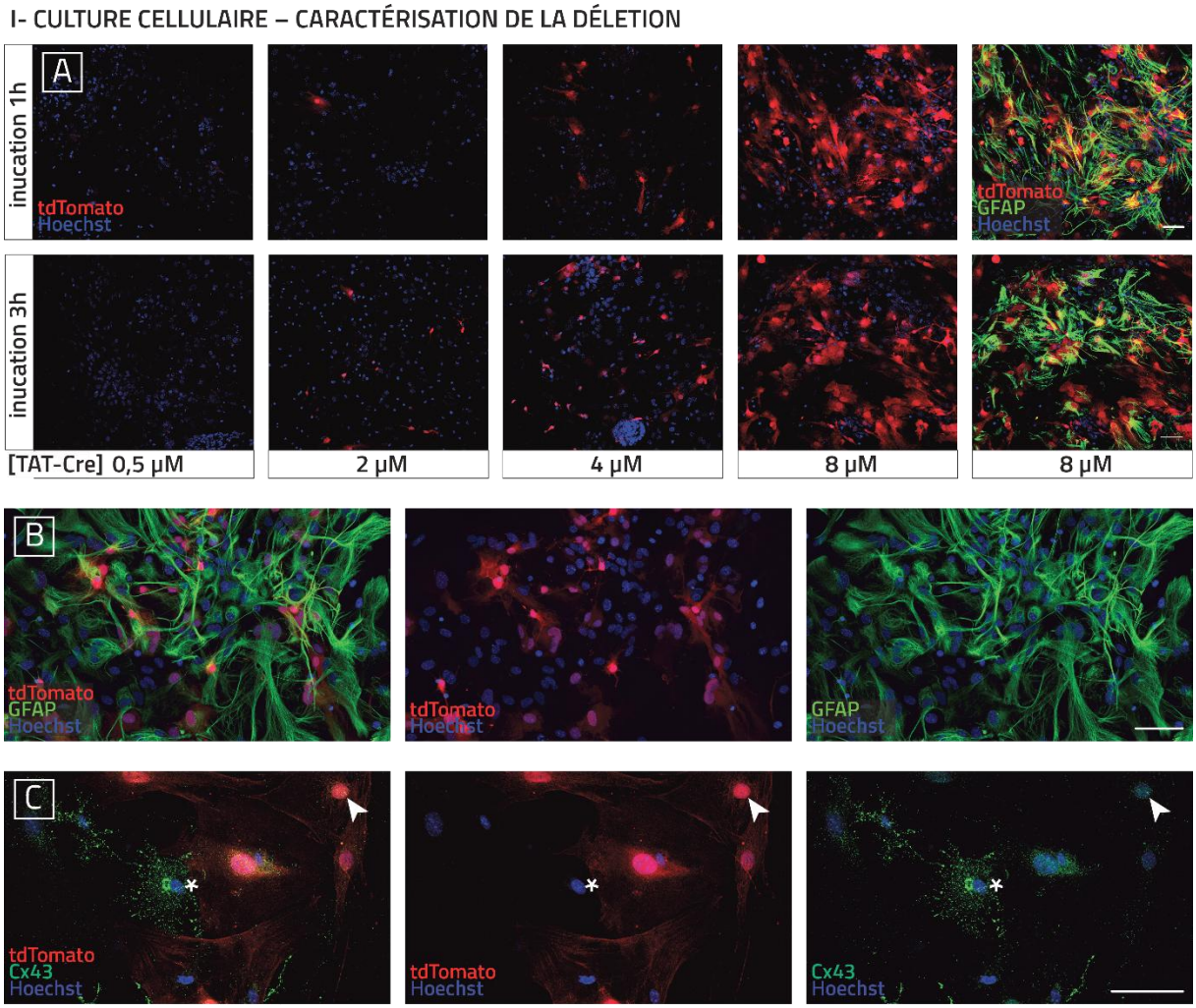


FIGURE 40 : DÉLÉTION DE LA CX43 ET EXPRESSION CHEZ LES SOURIS GAC

I- Caractérisation de la délétion sur des cultures primaires d'astrocytes hypothalamiques.
A. Images confocales de cultures primaires d'astrocytes hypothalamiques issues de souris GAC traitées avec des concentrations croissantes de TAT-Cre pendant 3 h.

B. Images représentatives de l'expression de la tdTomato après un traitement de 3 h avec 8 µM de TAT-Cre.

C. Images confocales de cultures primaires d'astrocytes hypothalamiques dérivées de souris GAC traitées avec 8 µM TAT-Cre. Les astrocytes exprimant la tdTomato montrent une absence de marquage pour la Cx43 (absence de signal vert, pointes de flèche), tandis que les astrocytes fortement marqués pour la Cx43 n'expriment pas la tdTomato (astérisque).

Abréviations : **Cx43** : Connexine 43 ; **GFAP** : Glial Fibrillary Acidic Protein ; **TAT-Cre** : Protéine de fusion utilisée pour induire une recombinaison Cre/Lox dans les cellules ciblées ;

Barre d'échelle : 50 µM

fluorescence tdTomato a persisté au moins jusqu'à 3 mois après l'injection icv (données non montrées), et était visible dans les longs prolongements tanycytaires irradiant vers le noyau arqué et l'éminence médiane et caractérisés par l'expression de vimentine (**Figure 39, K à L**). Bien que l'induction ait également touché quelques cellules épendymaires non tanycytaires, majoritairement les cellules du parenchyme n'exprimaient pas le gène gain de fonction tdTomato.

De manière similaire, l'administration de TAT-Cre dans le 4V a permis de cibler sélectivement les cellules gliales en bordure de ventricule, le long de l'axe rostro-caudal du CVD, sans affecter les régions plus profondes du parenchyme (**Figure 39, F à J**). Dans nos conditions d'injection, dès 7 jours post-injection (**Figure 39**), une proportion importante de cellules exprimant la tdTomato était présente dans le *funiculus separens*, à la frontière entre l'AP et le NTS, avec une morphologie caractéristique des vagliocytes. Ces cellules étaient également positives pour la GFAP et la vimentine, un marqueur des vagliocytes (**Figure 39, J**).

Ce protocole ouvre la possibilité d'invalider spécifiquement un gène d'intérêt portant des séquences LoxP dans ces cellules épendymogliales.

II.2.2.3 - Délétion de la Cx43 par la TAT-Cre ou d'endoxifène dans l'hypothalamus ou le CVD

Pour confirmer la validité du modèle génétique GAC et sa capacité à déléter la Cx43, nous avons utilisé des cultures primaires d'astrocytes hypothalamiques traitées avec des concentrations croissantes de TAT-Cre, allant de 0,5 à 8 µM (**Figure 40, A et B**). L'expression de la tdTomato a été observée à partir d'une concentration de 2 µM après une incubation de 3 heures, avec une proportion plus élevée de cellules exprimant la tdTomato à la concentration de 8 µM. Dans ces conditions, nous avons constaté une absence d'expression de la Cx43 dans la majorité des cellules exprimant la tdTomato, attestant du succès de la délétion génique *in vitro*, et confirmant la validité du modèle génétique GAC (**Figure 40, A**).

Nous avons ensuite réalisé des RT-qPCR sur des échantillons d'HYP prélevés chez des souris GAC un mois après l'administration d'endox dans le 3V (**Figure 40 D**). Cependant, aucune réduction significative de l'expression du gène Gja1 n'a été détectée. Cette absence de diminution pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs non exclusifs : une dissection trop large de la région d'intérêt analysée, une administration inadéquate de l'endox chez certains animaux ou une recombinaison insuffisante rendant difficile une diminution statistiquement significative.

Nous avons appris tardivement que les souris $Cx43^{LoxP/LoxP}$ utilisées étaient celles développées par Theis et al. (2001) et qu'elles comportaient un gène rapporteur LacZ. Pour tester si l'expression de la tdTomato était cohérente avec celle du gène LacZ, nous avons réalisé des IHC dirigées contre la β-gal, l'enzyme codée par LacZ, chez des animaux ayant reçu soit de la TAT-Cre, soit de l'endox (**Figure 40, E**), à 10 semaines et 1 mois avant la mise à mort. De manière surprenante, nous avons constaté un faible pourcentage de co-localisation de la tdTomato et du marquage nucléaire de la β-gal. Les cellules positives pour la tdTomato étaient plus nombreuses que celles exprimant la β-gal, bien que tous les noyaux $\beta\text{-gal}^+$ étaient associés à une fluorescence cytoplasmique rouge. Cette observation était cohérente chez les animaux ayant reçu de l'endox ou de la TAT-Cre, indépendamment de la région ciblée, que ce soit suite à une injection dans le 3V ou le 4V. Nous n'avons pas quantifié le degré de superposition entre la tdTomato et la β-gal, ni effectué un comptage exhaustif des noyaux $\beta\text{-gal}^+$ dans les différentes conditions. Ce comptage était superflu au regard du nombre limité de cellules $\beta\text{-gal}^+$ dans toutes les conditions, avec un nombre particulièrement faible dans la condition TAT-Cre, qui cible un ensemble de cellules plus restreint. Par conséquent, l'expression du gène rapporteur tdTomato ne permet pas d'estimer précisément l'efficacité de la délétion de la Cx43 lorsque la Cre est induite chez les animaux GAC âgés de 10 semaines.

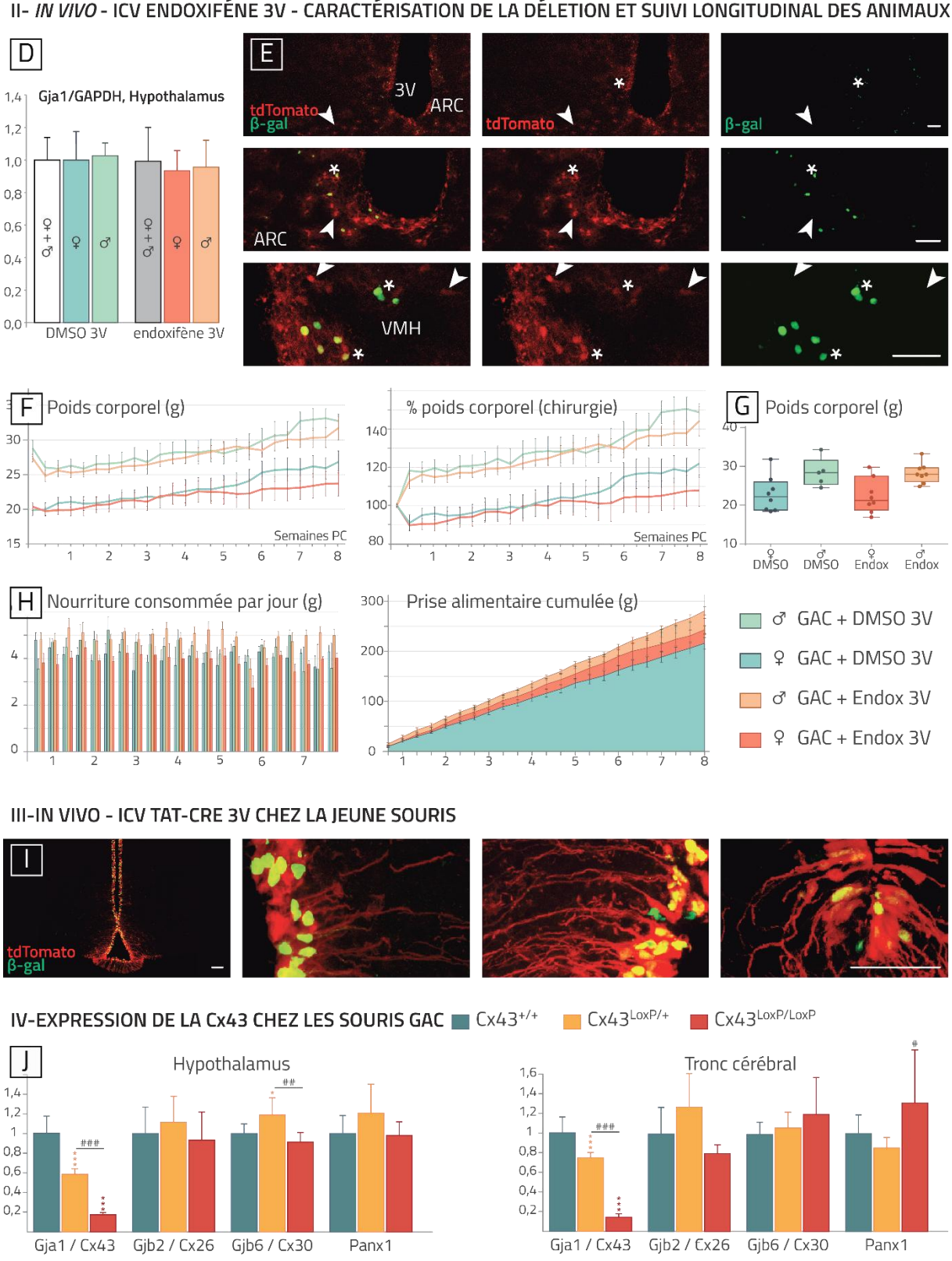


FIGURE 40 : DÉLÉTION DE LA CX43 ET EXPRESSION CHEZ LES SOURIS GAC_SUITE

II- Caractérisation de la délétion après icv d'endoxifène dans le 3V

D. Quantification de l'expression relative du gène Gja1 (codant pour Cx43) par RT-qPCR, normalisée par GAPDH dans l'hypothalamus de souris GAC un mois après injection d'endoxifène ou de DMSO dans le 3V (5 µL d'endoxifène à 2 mg/mL dans une solution de DMSO ; 1 µL/min). Les données sont présentées sous forme de moyenne ± SEM.

FIGURE 40 SUITE.

Groupes : **Cx43$^{LoxP/LoxP}$** traitées à l'endoxifène, n = 8 femelles, 6 mâles ; **Cx43$^{LoxP/LoxP}$** traitées au DMSO, n = 5 femelles, 3 mâles.
Comparaisons : Analyse statistique avec un ANOVA suivie d'un test post-hoc de Tukey. Pas de différence significative.

E. Visualisation par immunofluorescence de la β-galactosidase (β-gal, vert) et de la tdTomato (rouge) dans l'hypothalamus d'une souris ayant reçu une injection d'endoxifène dans le 3V à l'âge de 10 semaines (5 µL d'endoxifène à 2 mg/mL dans une solution de DMSO ; 1 µL/min). Certaines cellules tdTomato$^+$ présentent un marquage nucléaire pour la β-gal (astérisque), tandis que d'autres cellules tdTomato$^+$ n'affichent pas ce marquage (pointe de flèche).

F-H. Suivi longitudinal des souris GAC pendant 8 semaines après la chirurgie d'injection d'endoxifène ou de DMSO dans le 3V à 10 semaines d'âge (5 µL d'endoxifène à 2 mg/mL dans une solution de DMSO ; 1 µL/min).

Groupes : souris Cx43$^{LoxP/LoxP}$ traitées à l'endoxifène, n = 8 femelles, 8 mâles ; souris Cx43$^{LoxP/LoxP}$ traitées au DMSO, n = 8 femelles, 5 mâles.
F. Croissance pondérale post-chirurgie. Le graphique de gauche montre l'évolution du poids corporel en grammes, tandis que celui de droite présente les variations de poids en pourcentage par rapport au poids mesuré le jour de la chirurgie.

G. Boîte à moustache représentant la médiane, les quartiles et les valeurs extrêmes des poids corporels des souris GAC 5 semaines après la chirurgie d'injection d'endoxifène ou de DMSO dans le 3V. Ce graphique met en évidence la variabilité des poids corporels parmi les différents groupes.

H. Prise alimentaire mesurée par la pesée des restes alimentaires trois fois par semaine. Le graphique de gauche montre la consommation alimentaire quotidienne (en grammes), tandis que celui de droite illustre la prise alimentaire cumulée sur les 8 semaines de suivi.

III- Caractérisation de la délétion après icv de TAT-Cre dans le 3V
I. Visualisation de la β-gal (vert) et de la fluorescence tdTomato (rouge) chez des souris ayant reçu une injection de TAT-Cre dans le 3V (5 µL à 2,5 mg/mL dans du NaCl 0,9 %, 500 nL/min). Le nombre de cellules β-gal$^+$ est plus élevé que dans le panel E.

IV- Expression endogène de la Cx43

J. Quantification relative des ARN des connexines (Cx43, Cx30, Cx26) et des pannexines (Panx1) chez les souris GAC (Cx43$^{LoxP/LoxP}$), comparées aux souris hétérozygotes (Cx43$^{LoxP/+}$) et aux souris WT (Cx43$^{+/+}$), dans l'hypothalamus (panel de gauche) et le tronc cérébral (panel de droite).

Groupes : n = 10 animaux par groupe.

Comparaisons : Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. Comparaisons statistiques effectuées par ANOVA suivie d'un test post-hoc de Tukey. * par rapport aux souris Cx43$^{+/+}$: $p < 0,05$: * ; $p < 0,01$: ** ; $p < 0,001$: ***; # par rapport aux souris Cx43$^{LoxP/LoxP}$: $p < 0,05$: # ; $p < 0,01$: ##; $p < 0,001$: ###.

Abréviations : **3V** : troisième ventricule ; **4V** : quatrième ventricule ; **ARC** : noyau arqué de l'hypothalamus ; **β-gal** : β-galactosidase, une enzyme utilisée comme marqueur de recombinaison homologue ; **Cx43** : Connexine 43 ; **GFAP** : Glial Fibrillary Acidic Protein ; **DMSO** : Diméthylsulfoxyde ; **Endox** : Endoxifène ; **Gja1** : gène codant pour la connexine 43 ; **Gjb2** : gène codant pour la connexine 26 (Cx26) ; **Gjb6** : gène codant pour la connexine 30 (Cx30) ; **icv** : Injection intracérébroventriculaire ; Panx1 : Pannexine 1 ; **PC** : Post-chirurgie ; **TAT-Cre** : Protéine de fusion utilisée pour induire une recombinaison Cre/Lox dans les cellules ciblées ; **VMH** : noyau ventromédian de l'hypothalamus;.

Barre d'échelle : 50 µm

L'expression de la Cx43 et du rapporteur LacZ sont sous le contrôle du promoteur endogène Cx43 alors que l'expression de la Td Tomato dépend d'un promoteur CAG ubiquitaire. Nous avons fait l'hypothèse que la faible expression de la β-gal pouvait être due à la faiblesse du promoteur Cx43 chez la souris adulte (14 semaines lors des IHC). Pour tester cette hypothèse, nous avons administré de la TAT-Cre dans le 3V, chez des animaux GAC âgés de 5 semaines. Au cours de ce protocole, nous avons également augmenté les volumes injectés, pour favoriser la recombinaison homologue. Nous avons vérifié l'induction de la recombinaison génétique par la visualisation de la fluorescence tdTomato et un marquage contre la β-gal 1 mois après la chirurgie (**Figure 40, I**). Le chevauchement entre la tdTomato et la β-gal était plus important, suggérant que l'âge des animaux et/ou le volume d'injection peut impacter l'efficacité de la recombinaison. Chez les souris de 5 semaines, nous avons également testé l'efficacité d'un autre métabolite actif du tamoxifène, le 4-hydroxytamoxifène (4-OHT, **Figure 37**). En effet, il a été proposé que le tamoxifène et ses dérivés sont moins efficaces pour induire une délétion chez les souris plus âgées (Feil et al., 2009) et l'affinité du 4-OHT pour le ERT2 est supérieure à celle de l'endox et sa puissance est souvent rapportée comme deux fois supérieure à celle de l'endox (Felker et al., 2016). Le 4-OHT était administré chez des animaux de 5 semaines mais de manière similaire aux inductions de la Cre à 10 semaines par l'endox, le chevauchement entre la tdTomato et la β-gal n'était toujours pas systématique (données non illustrées).

Ces résultats suggèrent que la Cre (inductible ou non) pourrait recombiner préférentiellement les deux sites LoxP de la construction Ai14 par rapport aux trois sites LoxP de la construction $Cx43^{LoxP/LoxP}$. Theis et al. (2001) ont d'ailleurs rapporté que l'insertion d'un marqueur de sélection supplémentaire dans la construction génétique pourrait potentiellement réduire l'efficacité de l'expression du gène ciblé. Ils ont décrit une « haplo-insuffisance subtile » associée à l'allèle $Cx43^{LoxP}$, chez des souris $Cx43^{LoxP/+}$. L'allèle reste fonctionnel mais est associé à une diminution globale de l'expression génique (testée par western blot). Nous avons voulu vérifier si cette réduction de l'expression de Cx43 était également présente chez les souris GAC. Pour cela, nous avons comparé les niveaux de transcrits de Cx43 par RT-qPCR chez des souris possédant les deux copies du gène Cx43 floxé ($Cx43^{LoxP/LoxP}$), des souris sauvages C57BL/6J ($Cx43^{+/+}$), et des souris hétérozygotes pour la construction génétique ($Cx43^{LoxP/+}$). Nos résultats ont révélé une réduction massive de l'expression de la Cx43 chez les souris $Cx43^{LoxP/LoxP}$ (**Figure 40, J rose**). L'allèle floxé exprimait moins de 20 % du niveau observé pour l'allèle sauvage. Les souris hétérozygotes montraient une expression correspondant à 60 % de celle des souris homozygotes sauvages. 50 % pourraient provenir de l'allèle sauvage, et 10 % de l'allèle floxé. Cette diminution de l'expression a été observée de manière homogène dans l'HYP (**Figure 40, J, panel de gauche**), le CVD (**Figure 40, J, panel de droite**), et le cortex (données non illustrées). Chez les souris $Cx43^{LoxP/LoxP}$, la réduction de l'expression dépassait les 80 % des ARN de Cx43 avant recombinaison. Nous avons testé les niveaux d'expression d'autres connexines astrocytaires par qPCR, et aucune compensation d'expression majeure n'a été observée (**Figure 40, J**). La connexine 30 (Cx30) était régulée à la hausse dans l'HYP mais pas de manière significative dans le CVD. Par opposition, les niveaux de transcrits de la pannexine 1 était augmentés dans le CVD, mais pas dans l'HYP.

En parallèle de ces dernières expériences de validation du modèle, nous avions réalisé un suivi de la croissance pondérale ainsi que des mesures de routine de la prise alimentaire en pesant les restes de nourriture chez les souris GAC nourries *ad libitum* et ayant reçu de l'endox ou de la TAT-Cre dans le 3V ou le 4V. Les données présentées concernent les souris ayant reçu de l'endox ou du DMSO dans le 3V (**Figure 40,F-H).** Pour les autres groupes, les données ne sont pas présentées, mais les effectifs sont indiqués dans le **Tableau 11**. Comme nous pouvions nous y attendre au regard du faible taux d'expression de la Cx43 dans les souris GAC et du faible taux de recombinaison, aucun effet significatif du génotype sur la croissance pondérale ou la prise alimentaire n'a été observé. Toutefois, une grande variabilité du poids corporel et de la consommation alimentaire a été constatée au sein de chaque groupe (**Figure 40, F**). Il est difficile d'attribuer cette variabilité à la réduction de l'expression basale de la Cx43 ou à celle induite par les injections d'endox ou de TAT-Cre, notamment en raison du fond génétique mixte C57BL/6 et

Swiss. Des croisements supplémentaires et une dérivation génétique étaient nécessaires pour obtenir une lignée consanguine offrant une plus grande stabilité du poids corporel, nécessaire pour étudier l'effet de la diminution d'expression de la Cx43 basale et induite.

	Suivis de poids corporel 3X par semaine					
Groupe	n total par groupe	n à 2 semaines	n à 4 semaine PC	n à 8 semaine PC	n à 12 semaine PC	n à 14 semaine PC
♀ endox 3V	**8**	8	8	8	8	6
♀ DMSO 3V	**8**	8	8	6	5	3
♂ endox 3V	**8**	8	8	8	6	5
♂ DMSO 3V	**5**	5	5	**3**	**2**	**1**
♀ endox 4V	**8**	8	8	**2**	**0**	**0**
♀ DMSO 4V	**8**	8	8	**0**	**0**	**0**
♂ KO endox 4V	**5**	5	5	**2**	**0**	**0**
♂ DMSO 4V	**6**	6	6	4	**0**	**0**
♀ TAT-Cre 3V	**6**	6	**0**	**0**	**0**	**0**
♀ NaCl 3V	**4**	4	**0**	**0**	**0**	**0**
	Suivis de poids corporel 3X par semaine					
Groupe	n total par groupe	n total par groupe	n total par groupe	n total par groupe	n total par groupe	n total par groupe
♀ endox 3V	**8**	**8**	**8**	**8**	**8**	**8**
♀ DMSO 3V	**8**	**8**	**8**	**8**	**8**	**8**
♂ endox 3V	**8**	**8**	**8**	**8**	**8**	**8**
♂ DMSO 3V	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
♀ endox 4V	**8**	**8**	**8**	**8**	**8**	**8**
♀ DMSO 4V	**8**	**8**	**8**	**8**	**8**	**8**
♂ KO endox 4V	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
♂ DMSO 4V	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**
♀ TAT-Cre 3V	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**
♀ NaCl 3V	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**

TABLEAU 11 : EFFECTIFS UTILISÉS POUR SUIVIS LONGITUDINAUX DES SOURIS GAC

Conclusion Étude 2

Nous avons pris la décision de ne pas poursuivre nos recherches sur le modèle GAC pour trois raisons principales : 1) l'absence de recouvrement entre la tdTomato et la β-gal, ainsi que le nombre limité de cellules positives pour le rapporteur LacZ ; 2) la diminution de l'expression de la Cx43 chez les souris GAC avant la recombinaison par la Cre, suggérant un potentiel hypomorphisme pouvant entraîner des compensations dans la communication gliale dès la naissance ; 3) la mixité du fond génétique et les difficultés de gestion des reproductions durant la période COVID, exacerbées par le déménagement de notre équipe.

Ce choix difficile, pris au cours de ma 2e année de thèse, nous a contraints à changer notre stratégie pour cibler la Cx43. Nous avons alors opté pour l'interférence ARN afin d'altérer l'expression de la Cx43 chez des souris sauvages. Par souci de temps, nous avons concentré nos travaux sur le CVD, la structure étudiée historiquement par notre équipe. Ce choix nous a également permis d'améliorer notre approche stéréotaxique pour cibler le CVD avec une plus grande précision.

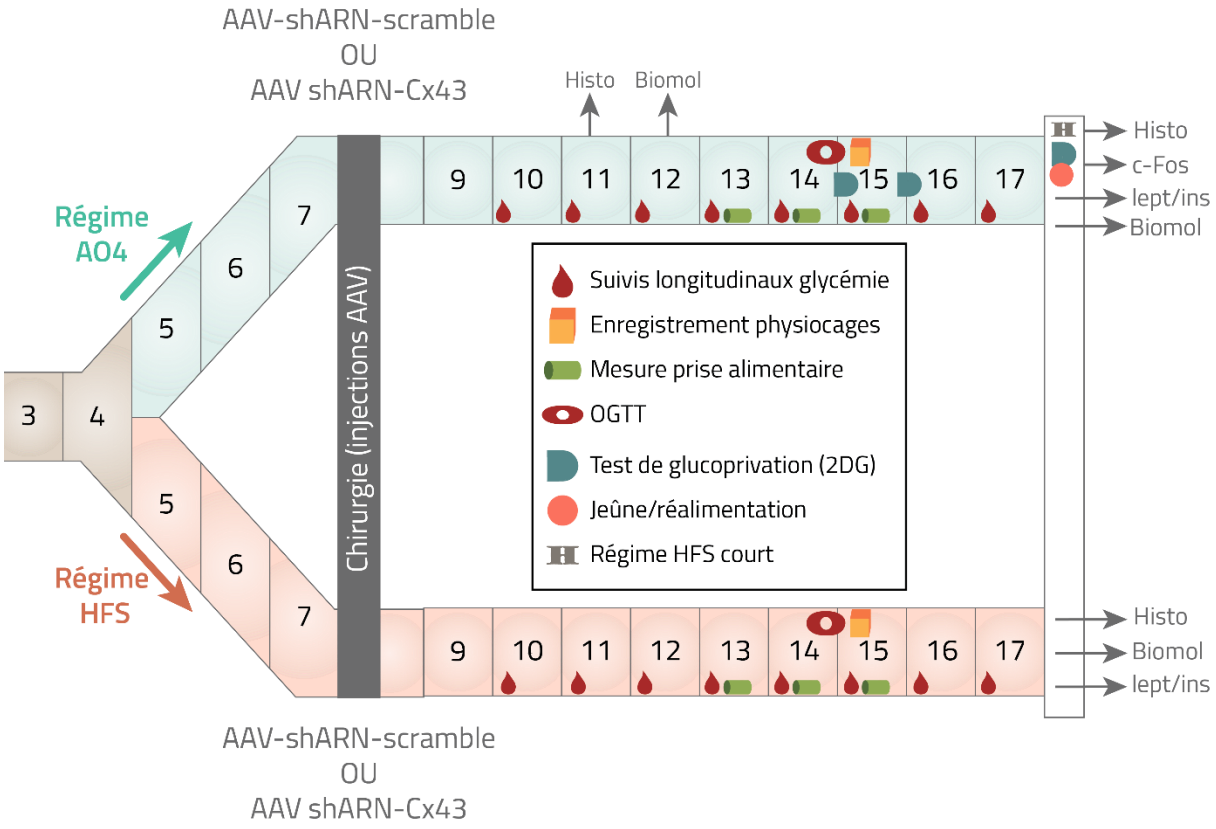


FIGURE 41 : SCHÉMATISATION DES PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX

Les souris utilisées dans ce projet ont été nourries avec un régime standard (AO4) ou un régime riche en graisses et sucres (HFS). Les animaux ont été pesés au moins deux fois par semaine tout au long de l'étude. À l'âge de 8 semaines, toutes les souris ont reçu des injections d'AAV-shARN-Scramble ou d'AAV-shARN-Cx43. Les souris ont été suivies jusqu'à la 9e semaine post-chirurgie (soit jusqu'à l'âge de 17 semaines). Pendant cette période, des suivis longitudinaux ont été effectués, ainsi qu'une série de protocoles destinés à caractériser leur phénotype métabolique. Les icônes dans le schéma représentent ces protocoles, comprenant des suivis réguliers de la glycémie, des mesures de la prise alimentaire (*via* la méthode de pesée des restes), des périodes d'hébergement dans des cages métaboliques, ainsi que des tests de tolérance au glucose par voie orale (OGTT) et des tests de glucoprivation (2DG). Les procédures terminales sont indiquées dans les rectangles blancs.

Abréviations : **2DG** : Test de glucoprivation induite par le 2-deoxy-D-glucose ; **Biomol** : Biologie moléculaire ; **c-Fos** : Analyse histologique de l'activité cellulaire par immunomarquage du marqueur d'activité précoce c-Fos ; **HFS** : Régime enrichi en graisses et en sucres ; **Histo** : Histologie ; **Ins** : Dosages plasmatiques d'insuline ; **Lept** : Dosages plasmatiques de leptine ; **OGTT** : Tests de tolérance au glucose par voie orale

II.3 - Étude 3 : Effets de la diminution de Cx43 par interférence ARN dans les astrocytes du CVD sur le contrôle de la balance énergétique

Dans cette dernière partie de mon projet, nous avons réduit l'expression de la Cx43 dans les astrocytes du CVD en utilisant l'interférence ARN. Pour ce faire, nous avons administré des vecteurs viraux exprimant des shARN spécifiques de la Cx43 dans le parenchyme du NTS. Cette approche ciblée nous a permis de diminuer efficacement l'expression de la Cx43 dans les astrocytes GFAP$^+$ de cette région dès la 3e semaine post-injection, persistant jusqu'à au moins 9 semaines post-chirurgie.

Pour déterminer l'impact fonctionnel de cette réduction de l'expression de la Cx43 dans le CVD, nous avons étudié le contrôle de la balance énergétique chez des souris soumises à un régime standard ou à un régime obésogène riche en graisses et en sucres. Nous avons effectué des suivis longitudinaux de la croissance pondérale, de la prise alimentaire et de la glycémie sur plusieurs semaines. En complément de ces suivis, nous avons réalisé une série de procédures plus spécifiques pour approfondir l'étude du métabolisme énergétique et de la régulation de la glycémie chez les souris.

II.3.1 - Matériels et Méthodes

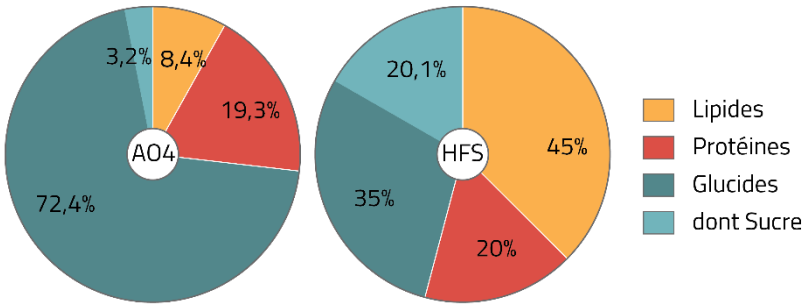
II.3.1.1 - Modèles murin utilisé et régime alimentaire

Toutes les souris utilisées dans cette étude étaient des mâles adultes C57BL/6J, provenant des laboratoires Charles River (L'Abresle, France). Elles ont été maintenues dans notre animalerie dans des conditions environnementales contrôlées, avec un cycle lumière-obscurité de 12 heures (de 7h00 à 19h00) et une température ambiante comprise entre 23 °C et 28 °C. Avant la chirurgie, les souris étaient hébergées par groupes de 3 ou 4, puis placées individuellement dans des cages pour la suite du projet. Les animaux avaient un accès libre à l'eau et à la nourriture, sauf lors des protocoles nécessitant une période de jeûne. Les souris étaient nourries soit avec un régime standard (granulés AO4, SAFE, Augy, France), soit avec un régime enrichi en graisses et en sucres (régime HFS, Ssniff #E15744-34, Soest, Allemagne). La composition détaillée de ces régimes alimentaires est présentée dans le **Tableau 12**. Le régime HFS a été introduit chez des souris âgées de 5 semaines, soit 3 semaines avant l'intervention chirurgicale d'injection des AAV.

II.3.1.2 - Vecteurs viraux adéno-associés (AAV)

Nous avons conçu et fait produire deux vecteurs viraux adéno-associés (AAV/DJ8) permettant d'exprimer, sous la dépendance du promoteur du gène GFAP, une protéine fluorescente EGFP, ainsi qu'un shARN inactif (AAV-DJ/8-GFAP::EGFP/shARN-Scramble) ou trois shARN dirigés contre la Cx43 (AAV-DJ/8-GFAP::EGFP/shARN-Cx43 ; VectorBuilder, Neu-Isenburg, Germany, **Figure 42**, **Tableau 13**). Ces vecteurs sont respectivement appelés AAV-shARN-Scramble et AAV-shARN-Cx43. Ils ont été utilisés à $2x10^{11}$ copies de génome/mL dans du NaCl 0,9 % stérile.

distribution de l'énergie provenant des macronutriments (%KJ).



Composition en macronutriments					
	Protéines	Lipides (graisses)	Extrait Non Azoté (carbohydrates) :		
			Tout	**Sucres** simples	**Amidon**
DIO – 45 kJ % fat (Lard) :	22.0 %	Total : 23.6 % dont 5.9 % acide palmitique 2.4 % l'acide stéarique	40.0 %	21.1 %	5.8 %
SAFE® A04	16.0 %	3.1 %	60.4 %	3.2 %	43.5 %

Valeur Énergétique			
	Énergie brute	**Énergie métabolisable**	**Distribution énergétique**
DIO – 45 kJ % fat (Lard) :	22.5 MJ/kg (5 377 kcal/kg)	19.3 MJ/kg (4 615 kcal/kg)	45 % des lipides, 20 % des protéines, 35 % des glucides (carbohydrates)
SAFE® A04	14.0 MJ/kg (3 339 kcal/kg)	13.2 MJ/kg (3 145 kcal/kg)	19.3 % des protéines, 8.4 % des lipides, 72.4 % des glucides (carbohydrates)

TABLEAU 12 : COMPOSITION DES RÉGIMES ALIMENTAIRES UTILISÉS DANS L'ÉTUDE 3.

II.3.1.3 - Approche trans-atlanto-occipitale d'injection des AAV

Le protocole d'injection dans le TCc a été mis au point en collaboration avec le Dr Bruno Lebrun et adapté des travaux de Brierley et collaborateurs (2021). Les vecteurs viraux ont été administrés sous contrôle stéréotaxique dans le CVD chez des souris de 8 semaines, analgésiées (buprénorphine 0,05 mg/kg, sc (sous cutané) 10 ml/kg, 30 minutes minimum avant incision) et anesthésiées avec un mélange de kétamine et de xylazine (Kétamine/Xylazine 110/12 mg/kg, ip 10 ml/kg). La peau à l'arrière de la tête et du cou a été rasée et une anesthésie locale a été réalisée au niveau du scalpe (lidocaïne 0,1 % sc 2 mg/kg max). La souris a été placée dans un cadre stéréotaxique, avec un angle de 90 ° entre la tête et le cou. Dans des conditions aseptiques, la peau a été incisée sur environ 5 mm et les muscles du cou écartés pour exposer la membrane atlanto-occipitale et l'obex comme point de repère anatomique. Cette membrane a ensuite été incisée avec la pointe d'une aiguille 30 G. Une micropipette en verre étiré avec un diamètre à la pointe d'environ 40 µm, remplie avec de l'huile minérale et contenant l'AAV (Wiretrol II 1-5 µL, étirée avec Sutter Instrument P77) était descendue au moyen d'un microdescendeur dans le parenchyme du NTS gauche ou droit. Les coordonnées du NTS ont été déterminées à partir de l'obex : rostro-caudal +0,1 mm ; médio-latéral ± 0,4 mm ; dorso-ventral -0,35 mm. Après deux minutes d'attente, 300 nl de solution de vecteur viral ont été injectés par paliers de 50 nl séparées de 30 secondes à un débit de 10 nl/sec, puis l'aiguille a été maintenue en place pendant deux minutes après l'injection. La plaie a été refermée avec un ou deux points de suture. La souris a reçu une injection d'anti-inflammatoire (carprofène 5 mg/kg sc 10 ml/kg) et une solution de réhydratation (NaCl 0,9 % sc 40 ml/kg réparti en plusieurs sites d'injection de maximum 10 ml/kg) puis a été transférée dans une cage de récupération chauffée, jusqu'au réveil complet de l'animal. Un traitement analgésique a été administré pendant 3 jours après la chirurgie.

II.3.1.4 - Suivis longitudinaux

Toutes les souris incluses dans cette étude ont été pesées au moins deux fois par semaine après l'injection des AAV. Pour les cohortes nourries avec un régime HFS, ce suivi a débuté dès l'introduction du régime. Dans la cohorte sous régime standard, les animaux ont été pesés une fois par semaine avant la chirurgie. Un suivi quotidien a été mis en place pendant les deux semaines post-chirurgie, afin de suivre de près l'état de santé des animaux et les signes potentiels de complications.

Entre la 5e et la 9e semaine post-chirurgie, les souris ont été soumises à divers tests pour évaluer leur métabolisme énergétique, comme décrit dans la **Figure 41**. Ces tests incluaient des protocoles d'habituation, durant lesquels le suivi des animaux était rapproché pour vérifier l'adaptation aux différentes procédures. Durant les périodes sans tests spécifiques, certaines cohortes ont fait l'objet de mesures régulières de consommation alimentaire, calculées *via* la méthode de pesée des restes. Par ailleurs, des mesures hebdomadaires de la glycémie ont été effectuées sur certaines cohortes. Ces mesures étaient prises à partir d'échantillons sanguins recueillis à la pointe de la queue, puis appliqués sur des bandelettes pour analyse directe à l'aide d'un glucomètre (Accu-Chek Performa Nano, Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN, USA).

II.3.1.5 - Calorimétrie indirecte et cages métaboliques

A la 6e ou la 7e semaine post-chirurgie, les souris étaient logées individuellement dans les cages métaboliques Oxylet Physiocage (Panlab/Harvard apparatus, Cornella, Espagne), à une température de 25 °C à 27 °C. Le premier cycle jour-nuit de 24 heures permettait aux souris de s'acclimater à l'environnement. Les paramètres de l'équilibre énergétique ont été mesurés pendant les 48 heures suivantes. Les physiocages sont équipées d'un capteur d'absorption laser pour mesurer les niveaux d'O_2, d'un capteur infrarouge pour le CO_2, de capteurs de poids pour une évaluation continue de la consommation de nourriture et d'eau et d'un transducteur de poids permettant la détection des mouvements de l'animal. L'analyseur O_2/ CO_2 a été calibré avec des standards de gaz purifiés (gaz haut en oxygène et en CO_2 avec 50,2 % d'O_2 et 3,99 % de CO_2; gaz

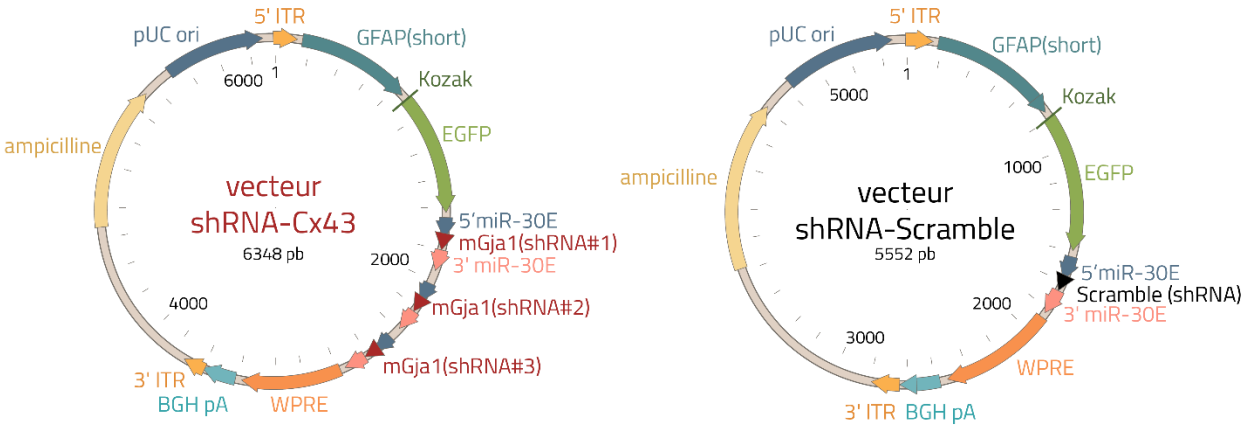


FIGURE 42 : COMPOSITION DES VECTEURS SHARN-CX43 ET SHARN-SCRAMBLE

Les cartes plasmidiques montrent les deux vecteurs d'interférence par shARN utilisés dans l'étude 3. Ces vecteurs permettent d'étudier l'effet du knockdown de *Gja1* (gène codant pour la Cx43) dans des astrocytes grâce à l'expression spécifique de shARN sous le contrôle d'un promoteur GFAP, comparé à un vecteur témoin «shARN-Scramble ».
Le vecteur shARN-Cx43 (à gauche, 6348 pb) contient trois séquences d'interférence dirigées contre le gène *Gja1*, insérées entre les portions 5' et 3' du miR-30E humain, pour générer des shARN matures. Le promoteur spécifique aux astrocytes GFAP (court) contrôle l'expression de l'EGFP et des shARN. Le vecteur comprend également des éléments de base comme l'ITR 5' et 3', la séquence Kozak pour l'initiation de la traduction, un élément WPRE pour renforcer l'expression du transgène et la résistance à l'ampicilline pour la sélection bactérienne.
Le vecteur shARN-Scramble (à droite, 5552 pb) est un vecteur témoin contenant une séquence shARN non spécifique (Scramble) au lieu des séquences ciblant *Gja1*. Il conserve les mêmes éléments de base que le vecteur shARN-Cx43, notamment le promoteur GFAP et l'EGFP.

Abréviations : **3' ITR** : Répétition terminale inversée 3' de l'AAV qui permet la récupération du virus à partir du plasmide recombinant et la réplication du génome viral ; **5' ITR** : Répétition terminale inversée 5' de l'AAV, Permet la récupération du virus à partir du plasmide recombinant et la réplication du génome viral ; **5' miR-30^{E}** : permet de former un shARN mature et de déclencher le knockdown ; **Ampicilline** : gène de résistance à l'ampicilline qui permet de sélectionner les bactéries (E.coli) ayant incorporé le vecteur ; **BGH pA :** Signal de polyadénylation de l'hormone de croissance bovine qui permet la terminaison de la transcription et la polyadénylation de l'ARNm transcrit par l'ARN polymérase Pol II. ; **GFAP (short)** : Promoteur spécifique aux astrocytes ; **EGFP** : Protéine fluorescente verte et optimisée à partir d'une variante de la GFP sauvage de la méduse *Aequorea victoria ;* **Kozak** : Séquence d'initiation de la traduction de Kozak ; **pUC ori** : Origine de réplication pUC qui facilite la réplication du plasmide dans E. coli et assure un nombre élevé de copies du plasmide ; **WPRE** : Élément régulateur post-transcriptionnel qui améliore la stabilité du virus et renforce l'expression des transgènes.

faible en oxygène et en CO_2 avec 20,02 % d'O_2 et 0 % de CO_2), les souris ont été pesées et les mangeoires ont été réapprovisionnées tous les jours à la fin de la phase claire.

❒ **Mesure et analyses du quotient respiratoire et des dépenses énergétiques par calorimétrie indirecte**

Le quotient respiratoire et les dépenses énergétiques (DE) ont été mesurés par calorimétrie indirecte avec un calorimètre à circuit ouvert indirect présent dans les Oxylet Physiocage. L'air ambiant circulait à travers chaque chambre à un débit de 400 ± 10 ml/min. Les niveaux d'O_2 et de CO_2 étaient mesurés pendant des périodes d'échantillonnage avec une mesure par seconde pendant 3 minutes toutes les 30 minutes. Les données ont ensuite été analysées avec le logiciel METABOLISM V2.2.01, Panlab en partie par Bruno Lebrun. La consommation d'oxygène (VO_2) et la production de dioxyde de carbone (VCO_2) étaient exprimées en ml/min/$kg^{0,75}$. Le quotient respiratoire a été déterminé par le rapport VCO_2/VO_2. Les quotients respiratoires sont indicatifs des voies énergétiques préférées par les animaux. Ils permettent de déduire les DE de chaque animal (kcal/jour/$kg^{0,75}$) calculées selon la formule : $EE = VO_2 \times 1,44 \times [3,815 + (1,232 \times \text{quotient respiratoire})]$. Les valeurs moyennes de VO_2, VCO_2, du quotient respiratoire et des dépenses ont été comparées pour chaque groupe pendant la phase sombre (début à 19h00, Zeitgeber Time 12 (ZT12)) et la phase claire (début à 7h00, ZT).
Les comparaisons entre les groupes ont été effectuées à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA) à mesures répétées.

❒ **Mesure de la prise alimentaire, de la prise hydrique et analyse de la microstructure des repas**

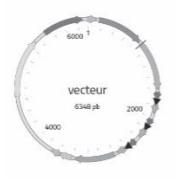
La prise alimentaire et hydrique des souris nourries avec le régime AO4 a été mesurée toutes les 30 secondes. Les mesures ont ensuite été alignées sur le cycle circadien, avec un début de mesure correspondant au temps ZT12 (début de la phase sombre). Un "bout" a été défini comme une période de consommation alimentaire à chaque intervalle de temps où la pesée augmentait d'au moins 0,2 g (deux fois la résolution de la balance) par rapport à la pesée précédente, afin d'éliminer les artéfacts. Les bouts étaient séparés par au moins une mesure avec l'absence de consommation. Les repas étaient définis comme comportant un ou plusieurs bouts et étant séparé du repas suivant par un intervalle de temps d'au moins 5 minutes (Rathod & Di Fulvio, 2021).

II.3.1.6 - Tests de tolérance au glucose par voie orale (OGTT)

Tests de tolérance au glucose par voie orale (OGTT) permet d'évaluer la régulation de la glycémie en réponse à un bolus de glucose, et de détecter des anomalies telles que l'intolérance au glucose. Ce test a été réalisé entre 6e et la 7e semaine post-chirurgie, chez des animaux préalablement habitués à la manipulation et à l'administration *per os* durant 8 jours.

Avant chaque OGTT, les animaux ont été soumis à un jeûne de 14 heures (eau disponible *ad libitum*). Une solution de D-glucose (1,5 g/kg de poids corporel, dissoute dans de l'eau de boisson) a été administrée par voie orale. Les mesures de la glycémie ont été réalisées en collectant une goutte de sang à partir de la pointe de la queue, directement appliquée sur une bandelette de test pour la détection du glucose, à l'aide d'un glucomètre (Accu-Chek Performa Nano, Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN, USA). Les prélèvements de sang ont été effectués juste avant l'administration du glucose puis à 5, 20, 60, 90, 120, et 240 minutes après le bolus de glucose.

Les données de glycémie ont été analysées à l'aide du logiciel GraphPad Prism. L'aire sous la courbe (AUC) pour chaque animal a été calculée en utilisant la méthode du trapèze, afin de quantifier la réponse glycémique globale au bolus de glucose. Dans le premier ensemble d'expériences, où deux groupes expérimentaux étaient comparés (ShARN-Scramble et ShARN-Cx43), les AUC (aires sous la courbe) ont été comparées à l'aide d'un test t de Student non apparié. Pour les autres OGTT, comprenant quatre groupes (ShARN-Scramble, ShARN-Cx43, sous régime standard AO4 ou enrichi en graisse et en sucre HFS), une ANOVA à deux facteurs a été réalisée pour comparer les AUC entre les groupes avec un tests post-hoc de Tukey.



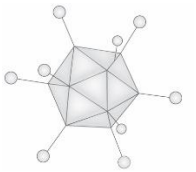
	ShRNA-Cx43	ShRNA-Scramble
Nom du vecteur	pAAV[3miR30]-GFAP(short)>EGFP:{mGja1[shRNA#1]}:{mGja1[shRNA#3]}:{mGja1_shRNA}:WPRE	pAAV[miR30]-GFAP(short)>EGFP:Scramble[miR30-shRNA#1]:WPRE
Taille du vecteur	6348 bp	5552 bp
Séquences ciblées par le shRNA	GCCTGATGACCTGGAGATTTAA ACAATTCCTCCTGCCGCAATTA GAACAGTCTGCCTTTCGCTGTA	ACCTAAGGTTAAGTCGCCCTCG
		
	AAV-DJ/8	**AAV-DJ/8**
Taille du génome viral	3751 bp	2955 bp

TABLEAU 13 : AAV ET VECTEURS SHARN-CX43 ET SHARN-SCRAMBLE.

II.3.1.7 - Test de glucoprivation induite par le 2DG

Pour induire une glucoprivation, un analogue non métabolisable du glucose, le 2-deoxy-D-glucose (2DG, Thermo Scientific Chemicals #111980250), a été administré. Après une période de jeûne de 5 heures, la moitié des souris recevait une injection intrapéritonéale de 2DG (0,3 g/kg, 10 mL/kg), tandis que l'autre moitié recevait une injection de solution saline (NaCl 0,9 %, 10 mL/kg). Afin de prévenir l'accoutumance et la diminution de la réponse à la glucoprivation (N. M. Sanders & Ritter, 2000), les souris ont subi trois tests de glucoprivation, où elles recevaient alternativement du NaCl ou du 2DG. Chaque test était précédé d'un protocole d'habituation à la contention et aux injections intrapéritonéales, de 6 jours avant le premier test, puis de 3 jours avant les tests suivants.

Le premier test, réalisé à la 6e semaine post-chirurgie, visait à évaluer les contrerégulations glycémiques des souris après glucoprivation. Des mesures de la glycémie ont été prises juste avant l'administration de 2DG, puis à intervalles réguliers : 5, 20, 60, 90, 120, et 240 minutes après l'injection.

Le deuxième test, à la 7e semaine post-chirurgie, avait pour objectif d'étudier les effets du 2DG sur la prise alimentaire, qui est connue pour augmenter de manière drastique dans les 3 heures suivant l'injection. Avant l'administration de 2DG, la nourriture était réintroduite dans des coupelles en fond de cage. La prise alimentaire et le poids corporel étaient mesurés à 4 reprises au cours des 3 heures suivant l'injection.

Enfin, le troisième test a eu lieu à la fin de la 9e semaine post-chirurgie et visait à évaluer la réponse neurale à la glucoprivation à l'aide d'un immunomarquage du marqueur d'activité précoce, c-Fos. Les souris étaient mises à mort par perfusion intracardiaque 2 heures après l'administration de 2DG ou de NaCl, et les échantillons étaient ensuite traités pour analyse histologique (voir *perfusions intracardiaques, prélèvements et analyses histologiques*).

II.3.1.8 - Paradigme de jeûne-réalimentation

À la fin de la 9e semaine post-chirurgie, un protocole de jeûne-réalimentation a été mis en place pour évaluer la réponse au jeûne d'animaux maintenus sous régime standard et ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble ou l'AAV-shARN-Cx43. 6 heures après le début de la phase claire (13 h 00), les souris ont été pesées et mises à jeun, tout en conservant un accès *ad libitum* à l'eau. Après 24 heures de jeûne, la moitié des souris a été mise à mort pour des analyses immunohistochimiques. Pour l'autre moitié, une quantité connue de nourriture a été réintroduite après 21 heures de jeûne, permettant de mesurer l'hyperphagie consécutive au jeûne. Après 3 heures de réalimentation, les souris et la nourriture restante ont été pesées, puis les souris ont été mises à mort par perfusion intracardiaque de paraformaldéhyde. La réponse neurale a été évaluée par immunomarquage de c-Fos (voir *perfusions intracardiaques, prélèvements et analyses histologiques*).

II.3.1.9 - Exposition à un régime court enrichi en graisse et en sucre

Au cours de la 9e semaine post-chirurgie, des souris, initialement maintenues sous régime standard (AO4), ont été exposées à un régime enrichi en graisses et en sucres (HFS) pendant 12 heures ou 5 jours. La nourriture a été placée dans des coupelles disposées au fond des cages pour faciliter l'accès et la collecte précise des restes alimentaires. À chaque mesure, la litière était fouillée pour récupérer d'éventuels fragments de nourriture. Le poids corporel des animaux a été enregistré toutes les 24 heures, et la prise alimentaire a été suivie de manière rapprochée.

Première nuit de mesure : toutes les souris ont été maintenues sous régime AO4, et la prise alimentaire a été mesurée aux heures suivantes : 18h30, 21h30, 00h30 et 6h30.

Seconde nuit (nuit NC vs. HFS 12 h) : Pour une partie des souris, les granulés AO4 ont été remplacés par des granulés HFS. La prise alimentaire a été mesurée aux mêmes intervalles horaires (18h30, 21h30, 00h30 et 6h30).

Une partie des souris (groupe HFS 12 h ou NC) a été mise à mort au début de la phase claire par perfusion intracardiaque pour analyse histologique (voir perfusions intracardiaques, prélèvements et analyses histologiques). Pour les autres animaux, la mesure de la prise alimentaire a été poursuivie pendant quatre jours supplémentaires. Durant les jours 2, 3 et 4, la prise alimentaire a été mesurée toutes les 12 heures, à 6h30 et 18h30.

Cinquième nuit (NC vs. HFS 5 jours) : La prise alimentaire a de nouveau été mesurée à des intervalles rapprochés : 18h30, 21h30, 00h30 et 6h30. À l'issue de l'exposition au régime, les souris ont été mises à mort par perfusion intracardiaque (voir *perfusions intracardiaques, prélèvements et analyses histologiques*)

II.3.1.10 - Perfusion intracardiaque, prélèvements et analyses histologiques

Les animaux ont reçu une analgésie à la buprénorphine (0,05 mg/kg), puis ont été anesthésiés par injection intrapéritonéale de kétamine (120 mg/kg) et de xylazine (16 mg/kg). Pour les analyses de l'activation neuronale par marquage c-Fos, les animaux recevaient une analgésie par administration d'un anti-inflammatoire non stéroïdien, le carprofène (5 mg/kg), au lieu de la buprénorphine. Pour certains groupes d'animaux, un prélèvement de sang intracardiaque (voir *Dosages plasmatiques*) a été réalisé juste avant la perfusion intracardiaque. La perfusion a été effectuée avec 2,5 mL de PBS 0,1 M (**Tableau 14**) contenant 10 % d'héparine, suivie de PBS 0,1 M froid (pH 7,4), puis d'une solution de paraformaldéhyde (PFA) à 4 % dans du PB 0,1 M (**Tableau 14**), également froide. Les cerveaux ont été immédiatement retirés et post-fixés pendant 1 heure à température ambiante dans la solution de PFA à 4 %. Ils ont ensuite été rincés toute la nuit dans du PBS, puis cryoprotégés pendant 24 à 48 heures à 4 °C dans une solution de saccharose à 30 % dans du PBS. Les cerveaux ont été congelés par immersion dans de l'isopentane à - 40 °C, puis des coupes coronales ou sagittales de 40 µm d'épaisseur, contenant le CVD, ont été réalisées à l'aide d'un cryostat (Leica CM3050, France) et collectées en série dans du PBS 0,1 M.

Des immunomarquages pour la Cx43 (anticorps de lapin), la GFAP (anticorps de souris), l'EGFP (anticorps de souris), c-Fos (anticorps de lapin), Iba1 (anticorps de chèvre) , tyrosine hydroxylase (TH, anticorps de souris) ont été réalisés sur des coupes en flottaison. Les protocoles spécifiques à chaque protéine sont détaillés dans le **Tableau 14**.

❒ Acquisition d'images et figures

Les images confocales ont été prises grâce à un microscope LSM700, Zeiss (Plateforme PRATIM, St Charles, Marseille) et du logiciel Zen. Dans certains cas, afin de permettre la visualisation de l'ensemble de la coupe avec une définition satisfaisante, des mosaïques d'images à l'objectif x10 ont été réalisées. Toutes les images ont été traitées ultérieurement dans Adobe Photoshop CS6, avec uniquement des ajustements de contraste et de luminosité.

❒ Quantification de l'immunoreactivite Cx43

Les images fluorescentes du marquage Cx43 ont été acquises sur un microscope confocal (Zeiss LSM 710) en mode Z-stack pour avoir accès à l'intégralité de marquage Cx43 de la coupe. Les réglages du laser 594 et du détecteur ont été conservés à l'identique pour toutes les images. Les images ont été acquises aux différents niveaux antéro-postérieurs du CVD pour les animaux des groupes AAV-shARN-Scramble (n=7) et AAV- shARN Cx43 (n=12). Une projection des différents plans focaux d'une même préparation a ensuite été réalisée à l'aide du logiciel ZEISS ZEN. La quantification de l'immunoréactivité Cx43 a ensuite été réalisée à l'aide du logiciel ImageJ Fidji (https://imagej.net/software/fiji/). Dans ImageJ Fidji, les canaux de couleurs ont été séparés puis les images converties en niveaux de gris avant d'être enregistrées au format TIF 8 bits. La luminosité et le contraste sont ajustés. L'image est ensuite convertie en image binaire en utilisant la fonction *Image | Adjust | Threshold.* L'intensité du marquage Cx43 est enfin quantifiée dans la zone délimitant les régions du CVD à l'aide de la fonction *Analyse/Analyse Particules.* Les résultats

sont exprimés en pourcentage du marquage Cx43 observé chez les animaux AAV-shARN-Scramble.

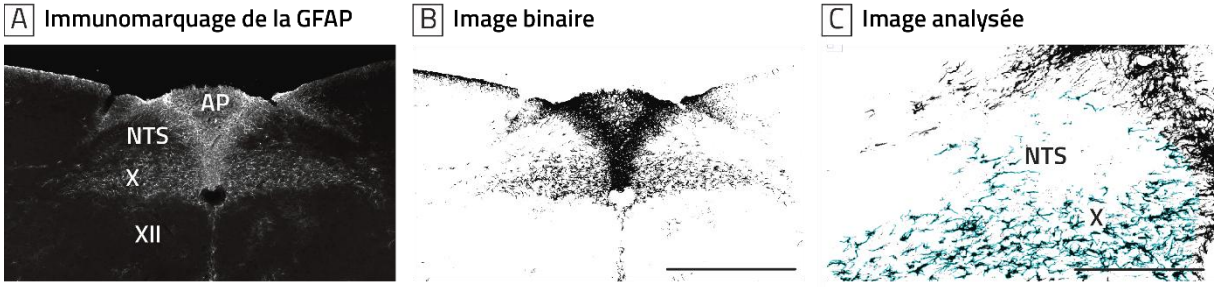
❒ Analyse GFAP

FIGURE 43 : ANALYSE DE LA MORPHOLOGIE DES ASTROCYTES

A. Les images fluorescentes du marquage GFAP ont été acquises sur un microscope confocal (Zeiss LSM 710) en mode Z-stack pour avoir accès à l'intégralité de l'arborisation astrocytaire. Les réglages du laser 488 et du détecteur ont été conservés à l'identique pour toutes les images. Une projection des différents plans focaux d'une même préparation a ensuite été réalisée pour obtenir une image. Pour évaluer le marquage de la GFAP dans les différentes conditions, une analyse a été réalisée à l'aide du logiciel Image J (NIH, USA). Étant donné que la coloration GFAP est d'intensité plus élevée dans les corps cellulaires que la plupart des prolongements, la luminosité et le contraste ont été ajustés pour permettre la visualisation de l'ensemble des prolongements astrocytaires.

B. Les informations de couleur ont été supprimées, le contraste a été inversé et les images binarisées, faisant apparaître les cellules et leurs prolongements en noir.

C. À l'aide des fonctions de filtre de seuil et de taille, les particules sombres et petites (<14 µm2) ont été exclues de l'analyse. Ainsi, le nombre de cellules GFAP$^+$ dans chaque région d'intérêt et la surface totale couverte par les cellules GFAP$^+$ (µm2) dans ces régions ont été mesurés à l'aide la fonction « Analyse » d'Image J.



❒ Analyse morphologique des cellules microgliales

FIGURE 44 : ANALYSE DE LA MORPHOLOGIE DES CELLULES MICROGLIALES

L'analyse de la morphologie des cellules microgliales a été réalisée à l'aide d'ImageJ Fidji (https://imagej.net/software/fiji/) et des plugins AnalyseSkeleton (2D/3D) et Neuroanatomy selon un protocole décrit par Young et Morrison (2018). Ces deux plugins fournissent une analyse rapide de la ramification des microglies au sein de photomicrographies.

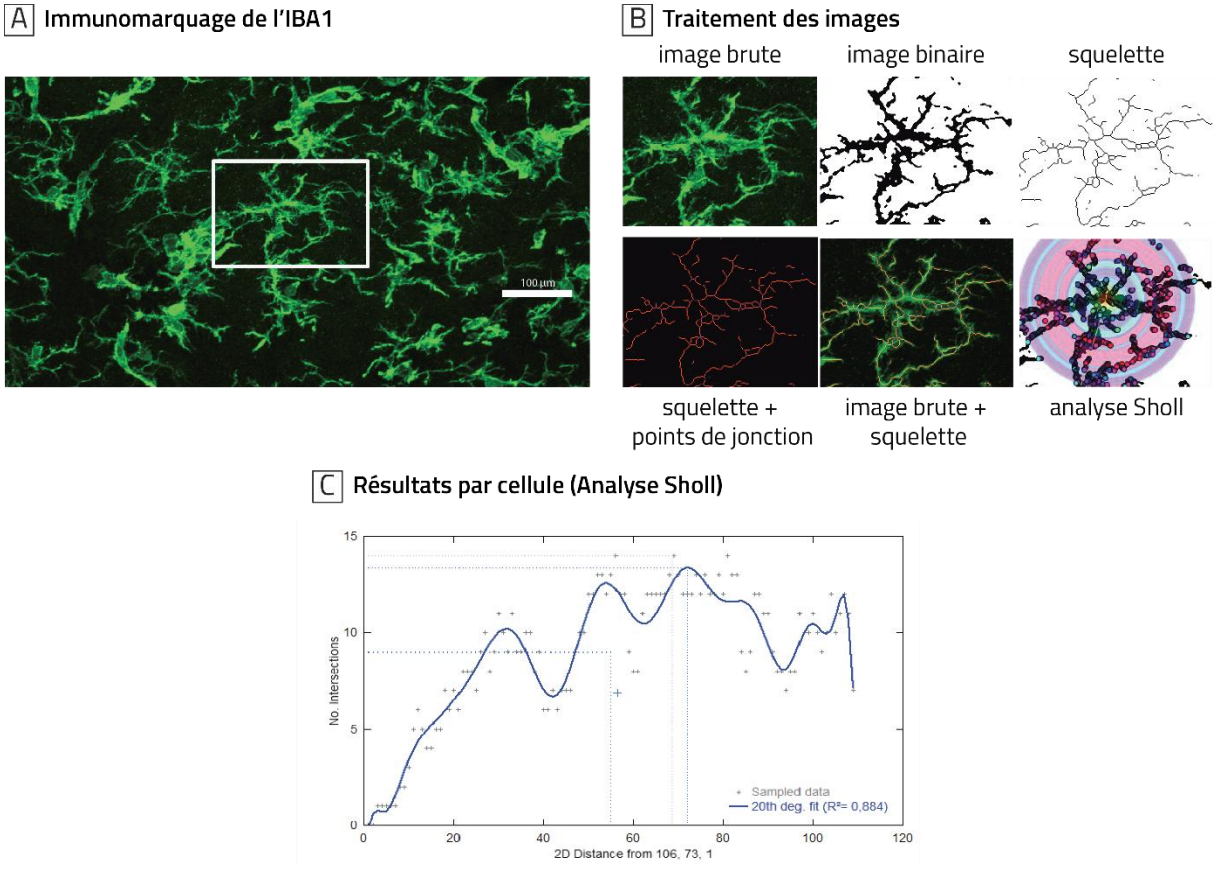
A. Pour cela une pile de 8 images (Z-stack) sur une épaisseur de 15 µm du marquage Iba1 a été acquise sur un microscope ZEISS LSM 710 à l'objectif 40. Les réglages du microscope sont conservés à l'identique pour tous les animaux imagés. Les 8 images ont ensuite été « aplaties » grâce à la fonction *Maximal Intensity Projection* du logiciel ZEISS ZEN.

B. Dans ImageJ Fidji, les canaux de couleurs ont été séparés puis les images converties en niveaux de gris avant d'être enregistrées au format TIF 8 bits. La luminosité et le contraste sont ajustés afin d'observer l'ensemble des prolongements microgliaux avec la fonction *Image | Adjust | Threshold*. L'image est ensuite convertie en image binaire en utilisant la fonction *Process | Binary |Convert to Mask*. Une étape de suppression du bruit est réalisée en utilisant la fonction *Process | Noise |Despeckle*. *I*. A ce stade les fonctions *Process | Noise | Remove Outliers* et *Process | Binary | Close* peuvent être utilisées pour nettoyer l'image. La fonction *Process | Noise | Remove Outliers* permet de connecter deux pixels sombres s'ils sont séparés par 2 pixels maximum et la fonction *Close* permet quant à elle de supprimer les valeurs aberrantes.

FIGURE 44 SUITE.

Le « squelette » de chaque cellule est ensuite généré grâce au plugin/Skeleton/Skeletonize (2D/3D) puis analysé grâce à la fonction *AnalyseSkeleton(2D/3D)*. Cette analyse permet d'accéder à plusieurs informations sur l'arborisation de la cellule telles que : le nombre de prolongements, le nombre de jonctions, la longueur moyenne des prolongements, la longueur totale des prolongements ou encore la surface de l'arborisation.

C. Afin de compléter l'étude de l'arborisation, nous avons réalisé une analyse Sholl qui reste une approche de choix pour quantifier la densité de l'arborisation des cellules microgliales permettant de déterminer le nombre d'intersections dans les prolongements (Chen et al., 2024). Pour cela, le plugin Neuroanatomy/Sholl/Sholl Analysis (From image) est appliqué à l'image binaire.



Phosphate Buffered Solution, PBS 0,1 M *Immunohistofluorescences et perfusions intracardiaques*				
Composant	Chlorure de Potassium, **KCl**	Chlorure de sodium, **NaCl**	Dihydrogénophosphate de potassium, **KH_2PO_4**	Hydrogénophosphate de sodium, **Na_2HPO_4**
Concentration dans H_2O distillée	2,7 mM	137 mM	1,8 mM	10 mM

PB 0,1 M *Préparation de Paraformaldéhyde (PFA) 4 %*		
Composant	Hydrogénophosphate de sodium, **Na_2HPO_4**	Dihydrogénophosphate de sodium, **NaH_2PO_4**
Concentration dans H_2O distillée	80 mM	20 mM

- *A agiter sur une plaque chauffante (jusqu'à environ 45 °C) avant l'ajout de PFA 4 %*
- *Maintien à une température < 60 °C pendant environ 1 h jusqu'à dissolution*
- *Filtrage après refroidissement*

PROTOCOLES D'IMMUNOHISTOFLUORESCENCE						
Protéine cible	**Rinçages** *3 fois*	**Saturation-perméabilisation** *Temps incubation = 1 heure*	**Anticorps primaire** *Temps incubation = 1 nuit*	**Rinçages** *3 fois*	**Anticorps secondaire** *Temps incubation = 2 heures*	**Rinçages** *3 fois*
Cx43	PBS	Sérum Normal de Chèvre (NGS) 3 % + Albumine Sérique de Boeuf (BSA) 1 % + Triton x100 (Tx) 0,3 %	**Lapin α-Cx43** Alomone Labs #AAC-201 **1/3000** NGS 3 % + BSA 1 % + Tx 0,3 %	PBS	**Chèvre α-lapin Alexa 594** Invitrogen Life #A-11012 **1/400** NGS 3 % + BSA 1 % +Tx 0,3 %	PBS
c-Fos	PBS	NGS 3 % + Tx 0,3 %	**Lapin α-c-Fos** Millipore -#ABE457 **1/3000** NGS 3 % + Tx 0,3 %	PBS + Tx 0,3 %	**Chèvre α-lapin Alexa 594** Invitrogen Life #A-11012 **1/400** NGS 3 % + Tx 0,3 %	PBS
EGFP	PBS	NGS 3 % + Tx 0,3 %	**Souris α-GFP** ABCAM #ab-38689P **1/1000** NGS 3 % + Tx 0,3 %	PBS	**Chèvre α-lapin Alexa 488** Invitrogen Life #A-11029 **1/400** NGS 3 % + Tx 0,3 %	PBS
GFAP	PBS	NGS 3 % + Tx 0,3 %	**Souris α-GFAP** Sigma Aldrich #G3893 **1/1000** NGS 3 % + BSA 1 % + Tx 0,3 %	PBS	**Chèvre α-lapin Alexa 405** Invitrogen Life #A-11012 **1/400** NGS 3 % + BSA 1 % + Tx 0,3 %	PBS
IBA1	PBS	Sérum de Cheval (HS) 3 % + Tx 0,3 %	**Chèvre α-IBA1** ABCAM -#ab5076 **1/500** NGS 3 % + Tx 0,3 %	PBS	**Âne α-chèvre Alexa 594** Invitrogen Life #A-11058 **1/400** HS 3 % + Tx 0,3 %	PBS
TH	PBS	NGS 3 % + Tx 0,3 %	**Souris α-TH** Millipore # MAB377 **1/1000** NGS 3 % + Tx 0,3 %	PBS	**Chèvre α-lapin Alexa 405** Invitrogen Life #A-11012 **1/400** NGS 3 % + BSA 1 % + Tx 0,3 %	PBS

TABLEAU 14 : LISTE DES TAMPONS ET DES ANTICORPS UTILISÉS DANS L'ETUDE 3.

II.3.1.11 - Mesure des niveaux de transcrits de Cx43 chez les souris GAC

Les animaux ont été anesthésiés avec un mélange de kétamine (120 mg/kg) et de xylazine (16 mg/kg), administré par voie intrapéritonéale (ip, à 10 ml/kg), à 9 semaines post-chirurgie, puis mis à mort par décapitation. Les cerveaux ont été extraits, et le CVD a été collecté, rincé dans du liquide cérébrospinal artificiel (LCSa, **Tableau 7**) froid, puis rapidement immergés dans de l'azote liquide avant d'être conservées à -80 °C. Ces échantillons ont été utilisés pour l'analyse de l'expression des transcrits par RT-qPCR.

❒ Extraction des ARN totaux

Les ARN totaux ont été extraits à partir des tissus décongelés, préalablement broyés, en utilisant 500 µL de Tri-Reagent® (Molecular Research Center #TR118), conformément aux instructions du fabricant. Pour isoler les ARN, 100 µL de chloroforme ont été ajoutés, suivis d'une centrifugation à 8000 x g pendant 15 minutes à 4 °C. La phase aqueuse contenant l'ARN a été récupérée et mélangée avec un volume égal d'isopropanol, puis centrifugée à 8000 x g pendant 10 minutes à 4 °C pour précipiter l'ARN. Le culot d'ARN a été lavé avec de l'éthanol à 75 %, séché à l'air libre, puis resuspendu dans 20 µL d'eau exempte de DNase et RNase. La concentration et la pureté de l'ARN extrait ont été déterminées par spectrophotométrie à l'aide d'un Jenway (GenovaNano), en mesurant la densité optique à 260 et 280 nm.

❒ Transcription inverse et synthèse de l'ADNc

1 µg d'ARN total ont été utilisés pour générer les échantillons d'ADNc. Les ARN ont été préalablement dénaturés par incubation à 65 °C pendant 5 minutes. La transcription inverse (RT) a été réalisée avec la M-MuLV Reverse Transcriptase, en présence d'amorces hexamères aléatoires et d'oligod(T)20 fournies dans le kit OneScript® OZY012, dans un volume total de 20 µL. La réaction a été inactivée par chauffage à 85 °C pendant 5 minutes.

❒ Réaction de PCR en Temps Réel

L'expression des connexines et de la pannexine a été quantifiée par PCR en temps réel à l'aide du système Cycler QuantStudio 7 (Applied Biosystems, Waltham, Massachusetts, États-Unis) et du kit SYBR Green Master Mix (Powerup, #A25742). Les réactions ont été réalisées dans un volume final de 10 µL, comprenant 1 µM de chaque amorce spécifique et des échantillons d'ADNc dilués, équivalents à 10 ng d'ARN initial. Les séquences des oligonucléotides utilisées sont présentées dans le **Tableau 15**.

Les conditions thermiques (*fast cycling mode*) étaient les suivantes : une étape d'activation initiale à 95 °C pendant 20 secondes, suivie de 40 cycles comprenant une dénaturation à 95 °C pendant 1 seconde et une hybridation à 60 °C pendant 30 secondes. La spécificité des produits a été confirmée par analyse des courbes de fusion, réalisée après les cycles de PCR : dénaturation à 95 °C pendant 15 secondes, incubation à 60 °C pendant 1 minute, puis augmentation progressive de la température jusqu'à 95 °C, avec 5 acquisitions par degré Celsius à un rythme de 0,05 °C/seconde.

❒ Analyse des données

La génération de produits spécifiques de PCR a été confirmée par analyse des courbes de fusion. Les valeurs de Ct (*Cycle threshold*) ont été déterminées pour chaque échantillon à l'aide du logiciel QuantStudio™ Real-Time PCR v1.7.2. L'expression relative des gènes cibles a été calculée en utilisant le gène de la tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein zeta (YWHAZ) comme gène de référence interne. Les comparaisons entre les 4 groupes ont été réalisées à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA) pour échantillons indépendants, suivie d'un test post-hoc de Tukey. Une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme significative.

.

Gène	Séquence d'amorce		Site ciblé	Température de qPCR	Taille des amplicons	Identifiant de l'ARNm
ywhaz	F	ACATCTGCAACGATGTACTGTCT	Exon 3-4	60,0°C	166 pb	NM_001253805
	R	TGCTGTGACTGGTCCACAAT	Exon 4			
mGja1-F4 (Cx43)	F	GGTGGACTGCTTCCTCTCAC	817-836 (Exon 2)	60,0°C	151 pb	NM_010288.3
	R	ATCGCTTCTTCCCTTCACGC	948-967 (Exon 2)			
mGjb6-F2 (Cx30)	F	GGCCAACTGAGAAAACGGTG	1247-1266 (Exon 3)	60,0°C	56 pb	NM_008125.3 P000002.166.f ou r
	R	GCAAATCACGGATGCGGAAA	1283-1302 (Exon 3)			
mGjb2-F3 (Cx26)	F	GCGACCCATTTCGGACCAA	697-718 (Exon 2)	60,0°C	159 pb	NM_008125.3
	R	GAGTGTGCCCCAATCCATCT	799-820 (Exon2)			
Gjc1-F1 (Cx45)	F	TTGGGTAACAGGAGTTCTGGTGAA	789-812 (Exon 2)	60,0°C	145 pb	NM_008122.2
	R	GTGAGCCAGATCTTCCCTACA	892-912 (Exon 3)			
Pan1-F3	F	CAGGCTGCCTTTGTGGATTC	667-686 (Exon 2)	60,0°C	143 pb	NM_019482
	R	CGGGCAGGTACAGGAGTATG	792-811 (Exon 3)			

TABLEAU 15 : SEQUENCES DES OLIGONUCLEOTIDES UTILISEES (PRIMERS) POUR LES RT-QPCR DE L'ETUDE 3

II.3.1.12 - Dosages plasmatiques

Les échantillons sanguins ont été prélevés par voie intracardiaque avant la perfusion (*voir Perfusion intracardiaque, prélèvements et analyses histologiques*) à l'aide de seringues héparinées équipées d'aiguilles 16G. Le sang recueilli a été placé dans des microtubes contenant 10 µL d'héparine comme anticoagulant, puis centrifugé pendant 15 minutes à 3 000 × g à 4 °C pour obtenir le plasma. Les concentrations plasmatiques de leptine et d'insuline ont été mesurées avec des dosages immuno-enzymatiques effectués à l'aide de kits ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*)

❒ Dosage de la leptine plasmatique

Les taux plasmatiques de leptine ont été mesurés à l'aide d'un kit ELISA en sandwich spécifique de la leptine de souris (Crystal Chem, USA), conformément aux instructions du fabricant. Les puits de la microplaque sur lesquels sont déposés les échantillons plasmatiques étaient préalablement sensibilisés avec un anticorps anti-leptine de lapin. Les échantillons plasmatiques et les standards de leptine à différentes concentrations (0 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,8 ; 1,6 ; 3,2 ; 6,4 et 12,8 ng/mL) ont été déposés en double dans les puits correspondants (2 puits/échantillon/standard). La leptine de souris contenue dans le plasma est simultanément liée à l'anticorps anti-leptine de lapin fixés (coatés) sur les puits de la microplaque et à l'IgG anti-leptine de l'antisérum de cobaye ajouté à chaque puits. Après une incubation pendant la nuit à 4 °C, les puits ont été lavés pour éliminer les anticorps non liés. Un anticorps anti-IgG de cobaye conjugué à la peroxydase de raifort a ensuite été ajouté, suivi d'une incubation de 3 heures à 4 °C. Après élimination de l'excès d'anticorps conjugué par lavage, la détection a été réalisée en ajoutant la solution de substrat TMB (3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine) et en incubant pendant 30 minutes à température ambiante dans l'obscurité. La réaction enzymatique a été stoppée par addition d'une solution d'arrêt, puis la densité optique a été mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaques à 450 nm et 630 nm (Epoch, BioTek, USA). Les taux de leptine pour chaque échantillon ont été déterminés à partir de la courbe standard de la leptine DO (450-630).

❒ Dosage de l'insuline plasmatique

Les taux plasmatiques d'insuline ont été mesurés à l'aide d'un kit ELISA commercial en sandwich (Crystal Chem, USA) conformément aux instructions du fabricant. Les puits de la microplaque étaient sensibilisés avec un anticorps anti-insuline de cobaye dans lesquels sont déposés les échantillons plasmatiques (en double). Des standards d'insuline de souris, à des concentrations différentes, étaient déposés en même temps pour avoir une gamme étalon (0 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 1,6 ; 3,2 ; 6,4 et 12,8 ng/ml, en double). Après une incubation de 2 heures à 4 °C, les puits ont été lavés pour éliminer les substances non liées. Un anticorps anti-insuline conjugué à la peroxydase de raifort a été ajouté, suivi d'une incubation de 30 minutes à température ambiante. Après plusieurs lavages, la détection de la peroxydase liée a été effectuée en ajoutant la solution de substrat TMB et en incubant pendant 40 minutes à température ambiante dans l'obscurité. La réaction a été arrêtée par la solution stop. La densité optique a été lue par un lecteur de plaque à 450 et 630 nm. Les taux d'insuline pour chaque échantillon en ng/ml ont été calculés à partir de la courbe standard établie

II.3.2 - Résultats

II.3.2.1 - L'injection des AAV-shARN par l'approche atlantooccipitale permet de réduire l'expression de la Cx43 dans les astrocytes du CVD

Notre objectif principal était d'évaluer le rôle de la Cx43, exprimée par les cellules gliales du CVD, dans le contrôle de l'homéostasie énergétique chez la souris. Pour inhiber l'expression de la Cx43 dans ces cellules chez des souris adultes et en évaluer l'impact sur l'homéostasie énergétique, nous avons utilisé des ARN interférents sous forme de short hairpin ARN (shARN). Ces ARN en épingle à cheveux ont été conçus spécifiquement pour cibler la Cx43 (shARN-Cx43) ou pour servir de contrôle inactif (shARN-Scramble). Les cellules gliales forment une population hétérogène, et notre approche visait à cibler spécifiquement la majorité des cellules gliales du CVD, en particulier celles exprimant la GFAP, qui constitue un marqueur clé des astrocytes et des vagliocytes dans cette région. Pour cela, nous avons utilisé des vecteurs viraux portant les séquences d'interférence ARN, sous le contrôle du promoteur GFAP. Ce promoteur permet également l'expression de l'EGFP, servant de marqueur d'incorporation des vecteurs. De plus, les vecteurs shARN-Scramble et shARN-shCx43 ont été encapsulés dans des AAV-DJ8, un vecteur viral adéno-associé hybride, formé par la combinaison de séquences capsidiques provenant de plusieurs sérotypes d'AAV (notamment AAV2 et AAV8). Les vecteurs AAV-DJ8 sous le contrôle du promoteur GFAP sont reconnus pour leur efficacité accrue dans la transduction des cellules gliales, et plus particulièrement des astrocytes (Chauhan et al., 2024; Hammond et al., 2017).

Nous avons également développé une technique chirurgicale utilisant l'approche atlanto-occipitale pour cibler précisément le NTS en prenant comme point de repère anatomique l'obex. Les injections ont été effectuées directement dans le parenchyme du NTS sous contrôle stéréotaxique. Nous avons réalisé des injections unilatérales (données non montrées) et bilatérales d'une solution d'AAV dans le NTS pour visualiser l'incorporation de nos vecteurs viraux et évaluer leur capacité à réduire sélectivement l'expression de la Cx43 dans les cellules gliales GFAP$^+$ du CVD, dans un délai compatible avec l'analyse de l'impact sur l'homéostasie énergétique. Dans nos conditions d'injection, la fluorescence EGFP était visible tout au long de l'axe rostro-caudal du NTS et du DMNX, à partir de la 3e semaine post-injection (non illustré), et maintenue jusqu'à la 9e semaine post-injection (**Figure 45**, **B à E**). La transduction dans la partie rostrale du NTS (rNTS) était néanmoins plus variable (**Figure 45, B, D et H**). Ce délai de 3 semaines est cohérent avec la littérature, qui rapporte qu'il est généralement nécessaire pour l'incorporation et l'expression des vecteurs viraux. L'EGFP était associé aux cellules gliales exprimant la GFAP et localisées dans le parenchyme du NTS et du DMNX, confirmant ainsi le tropisme glial des AAV et leur expression par les astrocytes (**Figure 45, C et E**). En revanche, l'AP est restée intacte dans la plupart des cas, et les vagliocytes, situés à l'interface entre l'AP et le NTS, étaient rarement positifs pour l'EGFP. En réalisant un immunomarquage pour la Cx43, nous avons observé une réduction importante de l'expression de cette protéine dans les régions présentant une fluorescence EGFP à la suite de l'injection de l'AAV-shARN-Cx43 mais pas à la suite de l'injection de l'AAV-shARN-Scramble, indiquant que l'expression des vecteurs viraux était associée à un knockdown (KD) de la Cx43 (**Figure 45**, **I**). Pour compléter la caractérisation de cette réduction d'expression, nous avons réalisé des analyses de RT-qPCR pour quantifier l'expression des ARNm de la Cx43 ainsi que d'autres connexines gliales et de la pannexine 1 (**Figure 45**, **J**). À 9 semaines post-chirurgie, ces analyses ont révélé une diminution d'environ 50 % de l'expression de la Cx43. Cette réduction peut sembler faible comparée aux observations faites par immunomarquage, mais pourrait s'expliquer par le fait que la région disséquée était plus large que la zone ayant incorporé les AAV, étant donné la taille réduite du CVD. Nous avons également observé que la réduction de l'expression de la Cx43 était associée à une tendance à la diminution de l'expression de la Cx30 (p=0,0527) de la pannexine 1 (p=0,0828). Le KD de la Cx43 n'était pas associé à des compensations dans l'expression de la Cx45 et de la Cx26 (**Figure 45**, **J**).

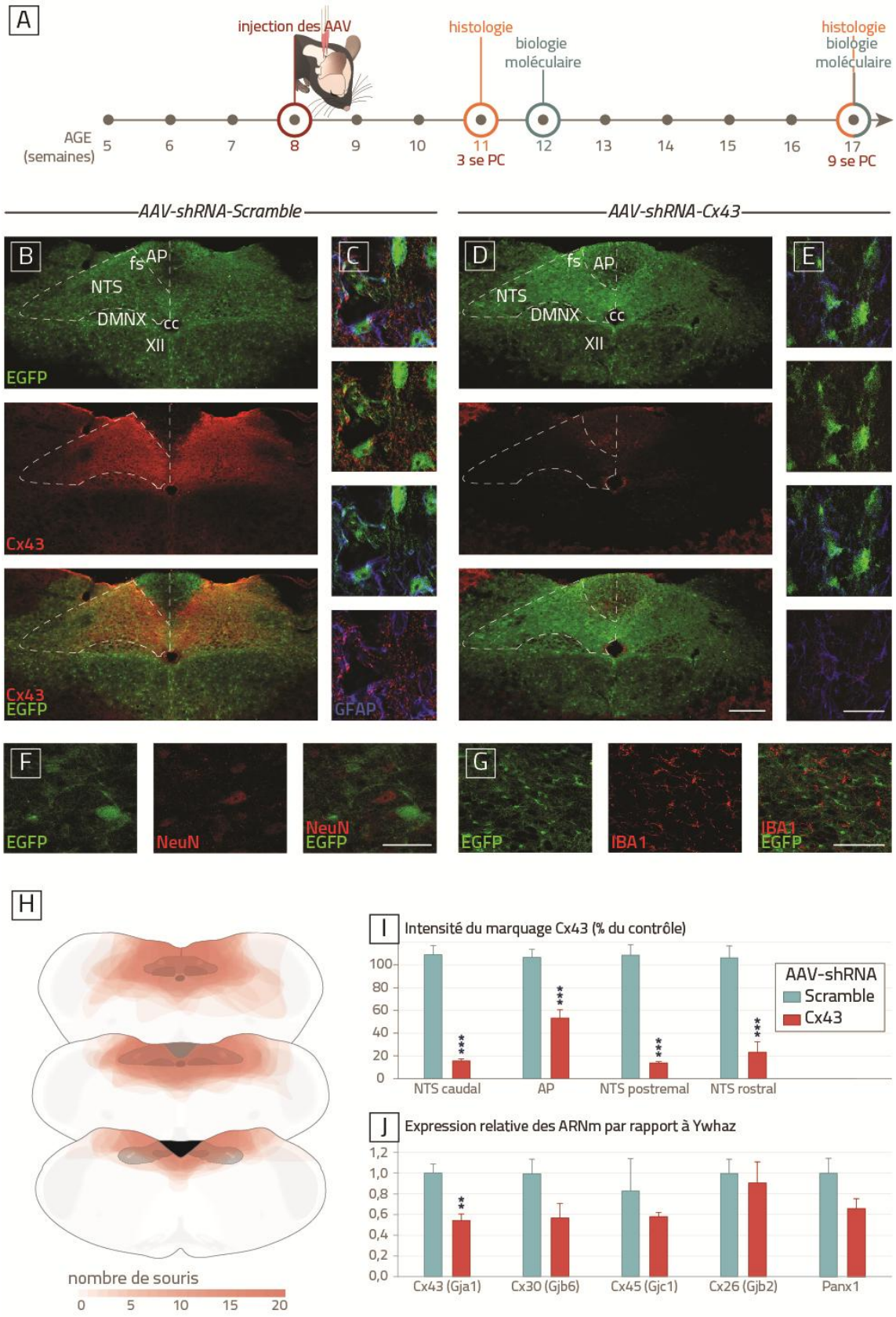


FIGURE 45 : KNOCK-DOWN DE LA CX43 DANS LE CVD.

A. *Timeline* expérimentale.
B-H. Diffusion dans le CVD du vecteur AAV chez des souris C57BL/6J, 9 semaines après l'administration d'AAV-shARN-scramble et d'AAV-shARN-Cx43.

FIGURE 45 SUITE.

B. Images confocales représentatives de l'immunoréactivité de l'EGFP (vert) et de la Cx43 (rouge) dans le CVD postrémal de souris ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble ($2x10^{11}$ GC/mL, 300 nl/site, 6x50 nl à 10 nl/sec). L'EGFP est utilisé comme marqueur de transduction virale et d'expression des vecteurs AAV dans les cellules gliales. Les images montrent une expression robuste de l'EGFP dans les régions ciblées.
C. Agrandissement des images du NTS postrémal montrées en B. illustrant l'expression locale de l'EGFP (vert) dans les cellules $GFAP^+$ (bleu), confirmant la transduction efficace des astrocytes. L'immunoréactivité de la Cx43 est observée dans les prolongements des astrocytes $GFAP^+$.
D. Images confocales représentatives de la fluorescence EGFP (vert) et de l'immunoréactivité de la Cx43 (rouge) chez des souris ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43 ($2x10^{11}$ GC/mL, 300 nl/site, 6x50 nl à 10 nl/sec). Les zones transduites montrent une réduction marquée de l'expression de la Cx43, visible par une zone sombre associée à l'expression de l'eGFP (protéine fluorescente verte).
E. Agrandissement des images du NTS postrémal en D. montrant l'expression de l'EGFP dans les cellules $GFAP^+$ (bleu) et une faible immunoréactivité de la Cx43 (rouge).
F. Images confocales représentatives de la fluorescence EGFP (vert) et de l'immunoréactivité de NeuN (rouge, marquant les neurones). L'expression des vecteurs viraux est absente dans les cellules neuronales, comme le montre l'absence de colocalisation entre EGFP et NeuN.
G. Images confocales représentatives de la fluorescence EGFP (vert) et de l'immunoréactivité de Iba1 (rouge, marquant les microglies). L'expression des vecteurs viraux est absente dans les cellules microgliales, comme le montre l'absence de colocalisation entre EGFP et Iba1.
H. Superposition des régions transduites 9 semaines après la chirurgie (les zones les plus colorées représentent les régions communes à toutes les souris, n = 20). Les cerveaux qui n'ont pas correctement intégré les AAVs ne sont pas représentés. Ces cerveaux ont été retirés des analyses après un examen a posteriori. Le protocole d'injection cible massivement le NTS et le DMNX, et les portions les plus rostrales du NTS restaient parfois non transduites. L'AAV diffuse également dans le noyau hypoglosse (XII), mais peu dans l'AP.
I. Quantification de l'intensité du marquage de la Cx43 le long de l'axe longitudinal du NTS et dans l'AP, 9 semaines après la chirurgie d'injection des AAV. Les données sont présentées sous forme de moyenne ± SEM, exprimées en pourcentage par rapport aux souris traitées avec l'AAV-shARN-Scramble.
Groupes : AAV-shARN-Scramble: n = 7; AAV-shARN-Cx43: n = 9.
Comparaisons : Analyse statistique avec un test de Student, * par rapport aux souris ayant reçu la solution d'AAV-shARN-Scramble : $p < 0,05$: * ; $p < 0,01$: ** ; $p < 0,001$: ***.
J. Quantification par RT-qPCR des niveaux d'expression des connexines (Cx43, Cx26, Cx30, Cx45) et de la pannexine 1 dans le CVD, normalisée par YwHAz, à 9 semaines post-chirurgie. Les données sont présentées sous forme de moyenne ± SEM.
Groupes : AAV-shARN-Scramble : n = 6 ; AAV-shARN-Cx43 : n = 5.
Comparaisons : Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. Analyse statistique avec un test de Student non apparié. * par rapport aux souris ayant reçu la solution d'AAV-shARN-Scramble : $p < 0,05$: * ; $p < 0,01$: ** ; $p < 0,001$: ***. Diminution significative chez les souris AAV-shARN-Cx43, par rapport aux souris AAV-shARN-Scramble, des niveaux d'ARNm de **Cx43 (**) : p = 0,0034**. Pas de différence significative pour les autres connexines et la pannexine 1 [Cx30 : p = 0,0527 ; Cx45 : p = 0,4841 ; Cx26 : p = 0,6984 ; Panx1 : p = 0,0828].

Barres d'échelles : 200 µm (**B** et **D**), 20 µm (**C**, **E**, **G**).

Abréviations : **XII** : noyau hypoglosse (noyau de la XIIe paire de nerfs crâniens) ; **AP** : Area postrema ; **cc** : canal central ; **Cx43** : Connexine 43 ; **DMNX** : noyau moteur du nerf vague ; **EGFP** : Protéine fluorescente verte qui témoigne de la transduction par les AAV ; **fs** : *funiculus separens* ; **GFAP** : Glial Fibrillary Acidic Protein ; **Gja1** : gène codant pour la connexine 43 ; **Gjb2** : gène codant pour la connexine 26 (Cx26) ; **Gjb6** : gène codant pour la connexine 30 (Cx30) ; **Gjc1** : gène codant pour la connexine 45 (Cx45) **Iba1** : ionized calcium-binding adaptor molecule 1, marqueur des microglies ; **NeuN** : marqueur nucléaire spécifique des neurones ; **Panx1** : Pannexine 1 ; **NTS** : noyau du tractus solitaire.

II.3.2.2 - La réduction de l'expression de la Cx43 n'altère pas le phénotype métabolique chez des souris maintenues sous régime AO4

Pour déterminer l'impact de la délétion de la Cx43 sur le contrôle de la balance énergétique, nous avons effectué un suivi longitudinal de la croissance pondérale des animaux ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble ou l'AAV-shARN-Cx43 pendant 9 semaines post-chirurgie. Aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les deux groupes concernant la croissance pondérale (**Figure 46**, **B** et **C**). De plus, l'estimation de la prise alimentaire journalière, évaluée par la pesée des restes alimentaires, était similaire entre les groupes AAV-shARN-Scramble et AAV-shARN-Cx43 (**Figure 46**, **E** et **F**).

Pour examiner plus en détail la prise alimentaire (PA) et la microstructure des repas, les souris ont été hébergées pendant trois jours dans des cages métaboliques à la 6e ou 7e semaine post-injection. Ces cages permettent de mesurer de manière continue la PA et la consommation hydrique (non illustrée ici). Globalement, la microstructure des repas n'a pas été fortement impactée par la réduction de l'expression de la Cx43 dans le CVD. En effet, chez les souris ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43, la PA totale pendant les périodes diurne ou nocturne (**Figure 46**, **G** et **H**) n'était pas significativement affectée, ni la taille des repas (**Figure 46**, **I**), la durée des repas (**Figure 46**, **J**) ou la vitesse de consommation (**Figure 46**, **M**). Cependant, une augmentation significative du nombre de repas durant la période nocturne a été observée chez les souris dont l'expression de la Cx43 était diminuée, par rapport aux souris ayant reçu l'AAV-shARN-scramble ($p<0,0001$, **Figure 46**, **K**). Ce résultat pourrait suggérer que la diminution de la Cx43 entraîne une réduction de la satiété ou une augmentation de la sensation de faim entre les repas. Toutefois, cette interprétation doit être nuancée, car l'intervalle entre deux repas (**Figure 46**, **L**) et le ratio de satiété (défini comme le temps entre deux repas divisés par la taille du repas précédent, **Figure 46**, **N**) sont restés inchangés. En d'autres termes, bien que les souris aient consommé un plus grand nombre de repas, la sensation de satiété après chaque repas ne semble pas avoir été altérée. Ainsi, l'augmentation du nombre de repas pourrait être liée à une légère diminution de la taille des repas (**Figure 46**, **I**).

Les cages métaboliques sont également équipées d'un système de calorimétrie indirecte pour la mesure des échanges respiratoires. Ces mesures permettent de déterminer le quotient respiratoire ($QR = VCO_2/VO_2$), qui reflète l'utilisation relative des substrats énergétiques, ainsi que les dépenses énergétiques (DE) des animaux. Les enregistrements ont révélé une augmentation de la consommation d'oxygène (VO_2, **Figure 46**, **O** et **P**) associée à une diminution du QR pendant la phase nocturne chez les animaux ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43 (**Figure 46**, **S** et **T**). Ces résultats suggèrent une utilisation accrue des lipides comme source d'énergie lors d'une diminution de l'expression de la Cx43 dans le CVD. En effet, par rapport à l'oxydation des glucides, le métabolisme des lipides consomme plus d'oxygène pour une quantité donnée de CO_2 produite. Pendant la phase diurne, la VO_2 (**Figure 46**, **O** et **P**) était également augmentée chez les animaux ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43, mais sans modification significative du QR (**Figure 46**, **S** et **T**). Les DE étaient également supérieures en phase claire (**Figure 46**, **U** et **V**), ce qui suggère une augmentation globale du métabolisme sans changement notable des substrats énergétiques utilisés.

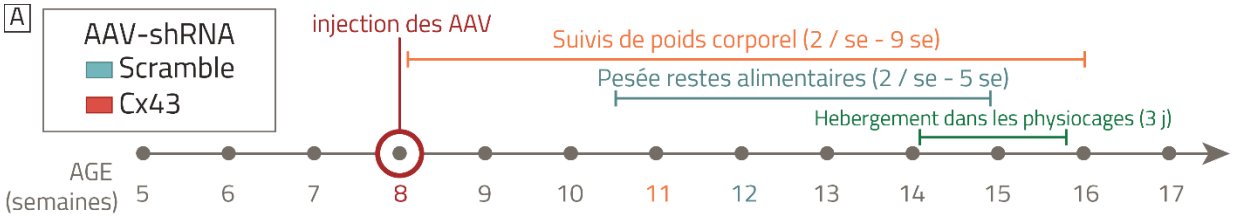
Dans une seconde cohorte d'animaux, également à la 6e ou 7e semaine post-injection, des OGTT ont été réalisés pour évaluer la capacité des souris à métaboliser le glucose et à réguler leur glycémie après un bolus glucidique. La nature de l'AAV injecté n'a pas eu d'effet sur la tolérance au glucose : les deux groupes (AAV-shAR-Scramble et AAV-shARN-Cx43) présentant une augmentation de la glycémie induite par le glucose pendant les 20 premières minutes suivant l'administration *per os*, suivie d'un retour progressif à la normoglycémie (**Figure 47**, **B** et **C**). Ces résultats indiquent que la réduction d'expression de la Cx43 dans le CVD ne perturbe pas la régulation de la glycémie après une charge orale de glucose chez les souris sous régime standard AO4.

Nous avons également cherché à déterminer si la réponse à une privation glucidique était modifiée par la diminution de l'expression de la Cx43 dans le CVD. Ces contre-régulations sont connues pour recruter des réseaux neuronaux du CVD, et les astrocytes de cette région ont été décrits comme des cellules glucosensibles, capables d'activer les réseaux neuronaux impliqués dans ces réponses d'urgence (Marty et al., (2007); Rogers et al., (2020), **section I.3.2.4.3**, p 128). La glucoprivation a été induite par des injections systémiques de 2-deoxy-D-glucose (2DG, 0,3 g/kg, ip., 10 mL/kg). Trois tests indépendants de glucoprivation ont été réalisés pendant la phase claire, visant à mesurer les réponses glycémique, comportementale (prise alimentaire) et cellulaire au 2DG. Ces tests ont été effectués respectivement à la 6e, 7e et 9e semaine post-chirurgie. Après l'injection de 2DG, la glycémie a fortement augmenté chez les souris, comme attendu dans un état de glucoprivation. Cette réponse était similaire chez les animaux ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble et l'AAV-shARN-Cx43 (**Figure 47**, **D** et **E**), indiquant que l'inhibition de la Cx43 n'a pas modifié la réponse glycémique à la glucoprivation. La PA est connue pour augmenter drastiquement au cours des trois heures suivant l'administration d'analogues du glucose. Dans nos conditions expérimentales, l'hyperphagie était conservée dans les deux groupes d'animaux (**Figure 47**, **F** et **G**). Pour étudier les réponses cellulaires à la glucoprivation, nous avons réalisé un immunomarquage du marqueur d'activité c-Fos sur des tissus issus de souris mises à mort 2 h après l'administration de 2DG ou de NaCl (**Figure 47**, **H** à **N**). Là encore, aucune différence significative n'a été observée entre les groupes ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble ou l'AAV-shARN-Cx43, ce qui suggère que l'inhibition de la Cx43 n'affecte pas la réponse neuronale à la glucoprivation et que la détection d'une pénurie de glucose est conservée lorsque l'activité des HC et le couplage par les JC des astrocytes est altérée. Nous avons également réalisé un immunomarquage supplémentaire contre la TH, marquant les neurones catécholaminergiques connus pour intervenir dans la réponse à la glucoprivation. Bien que nous n'ayons pas effectué de comptage spécifique des noyaux c-Fos$^+$ appartenant aux neurones TH, l'activation de cette population cellulaire semblait équivalente pour les deux groupes d'animaux (**Figure 47**, **J** et **N**).

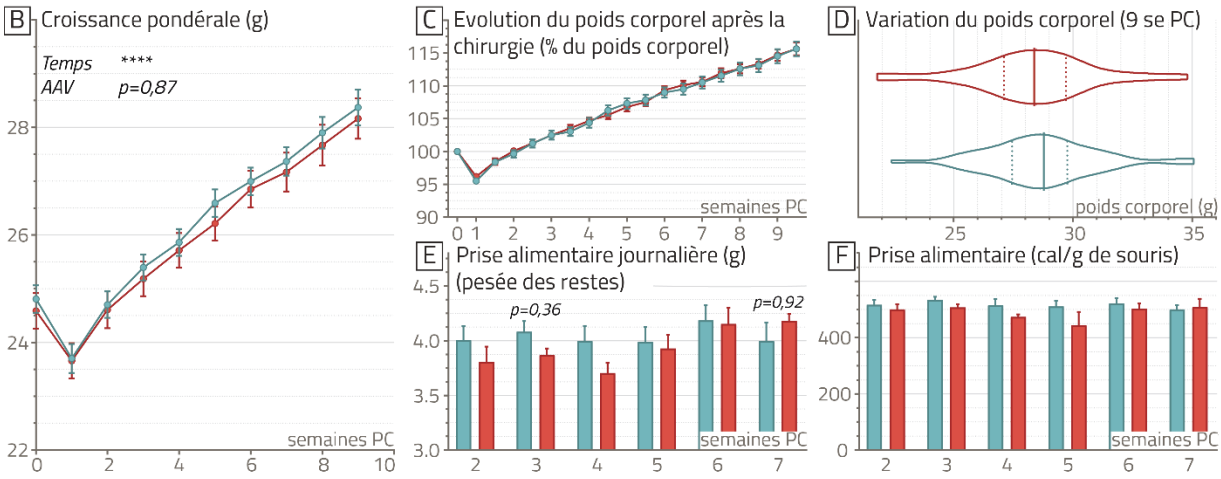
Chez les cohortes utilisées pour les enregistrements dans les cages métaboliques et les OGTT, deux tests terminaux supplémentaires ont été réalisés à la 9e semaine post-chirurgie. Le premier test visait à évaluer les réponses comportementales et neuronales à un jeûne de 24 heures (paradigme de jeûne/réalimentation), et le second protocole visait à étudier l'évolution de la PA des animaux lors de l'introduction d'un régime enrichi en graisses et en sucres (HFS), maintenu pendant 12 heures ou cinq jours.

Le protocole de jeûne-réalimentation permet d'évaluer le tonus orexigène induit par le jeûne, ainsi que l'intégration des signaux de satiété après une période de réalimentation de 3 heures. La PA (mesurée par pesée des restes) des souris réalimentées après 21 heures de jeûne n'a pas été différente entre les groupes AAV-shARN-Scramble et AAV-shARN-Cx43 (**Figure 48**, **I-J**). De plus, la variation du poids corporel induite par le jeûne était similaire dans les deux groupes (**Figure 48**, **K**). Cependant, l'immunomarquage de c-Fos (**Figure 48**, **B-G**). a révélé une augmentation significative du nombre de cellules c-Fos$^+$ chez les souris réalimentées ayant reçu les AAV-shARN-Cx43, par rapport aux souris réalimentées du groupe AAV-shARN-Scramble, restreinte aux portions postrémales (p= 0,0307) et rostrales (p= 0,0479) du NTS (**Figure 48**, **H**). Dans l'AP et le NTS caudal, l'activation cellulaire induite par la réalimentation après le jeûne était identique pour les deux groupes. Ces résultats suggèrent que le KD de la Cx43 pourrait modifier la réponse neuronale dans des sous-régions spécifiques du NTS en réponse à la réalimentation. La sensibilité aux signaux de rassasiement pourrait être accrue lors d'une altération de la communication gliale *via* la Cx43.

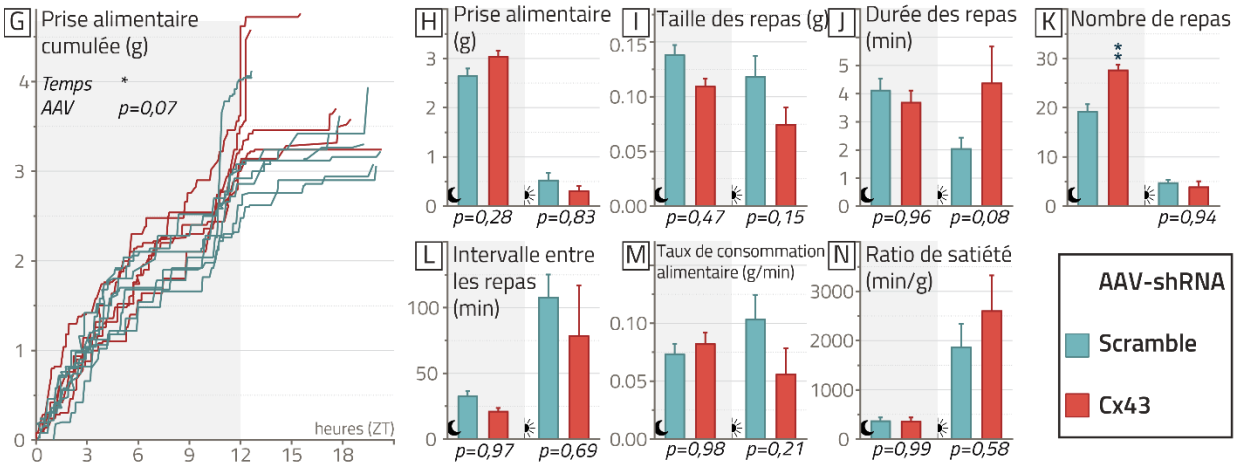
Il a été montré que des souris initialement nourries avec un régime standard, puis exposées à un régime HFS, développent une phase d'hyperphagie suivie d'une adaptation homéostatique au régime au bout de 3 à 5 jours d'exposition. L'implication des astrocytes dans cette réponse précoce n'est pas encore démontrée, mais plusieurs travaux ont rapporté un changement morphologique des cellules gliales après seulement 12 heures sous régime HFS dans le CVD (Clyburn et al., 2021, 2023; MacDonald et al., 2020).



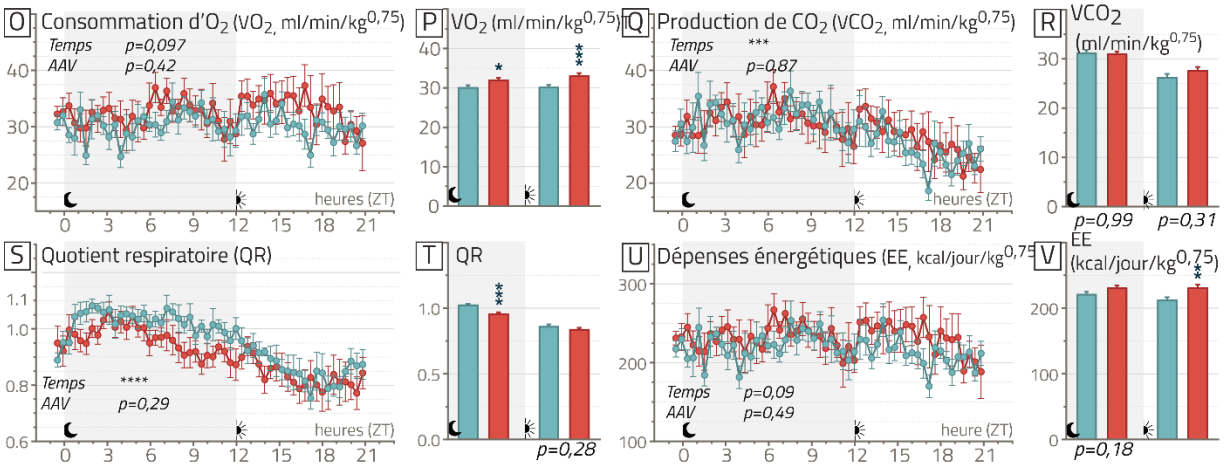
I-SUIVIS LONGITUDINAUX DE POIDS CORPOREL ET DE PRISE ALIMENAIRE



II-CAGES MÉTABOLIQUES - PRISE ALIMENTAIRE ET MICROSTRUCTURE DES REPAS



III-CAGES MÉTABOLIQUES - CALORIMÉTRIE INDIRECTE



Nous avons donc réalisé un protocole court d'exposition au régime HFS, au cours duquel les souris ont fait l'objet de suivis rapprochés de leur PA pendant la période nocturne, après 12 heures ou 5 jours de régime HFS (**Figure 48**, **L** à **N**). Comme attendu chez les souris témoins ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble, la PA était supérieure au cours des 12 premières heures de régime qu'après 5 jours de régime HFS (**Figure 48**, **L**). La PA en grammes n'était pas significativement modifiée entre les souris maintenues sous régime standard (NC) et celles nourries avec le régime enrichi (**Figure 48**, **M**), mais la densité calorique diffère entre les deux régimes, ce qui a conduit à une augmentation importante de l'apport calorique chez les souris HFS. Néanmoins, l'exposition prolongée au régime HFS a conduit à une adaptation similaire dans les deux groupes, avec une diminution progressive de la consommation alimentaire au fil des jours. Ces observations suggèrent que la réduction de l'expression de la Cx43 n'affecte pas de manière significative l'adaptation précoce à un régime hypercalorique, ni la dynamique de la PA au cours de l'exposition à ce régime.

FIGURE 46 : CROISSANCE PONDÉRALE ET ANALYSES DES PARAMÈTRES MESURÉS DANS LES PHYSIOCAGES CHEZ DES SOURIS MAINTENUES SOUS RÉGIME STANDARD AO4

A. *Timeline* expérimentale.

I- Suivis longitudinaux de poids corporel et de prise alimentaire (B-F). Croissance pondérale et prise alimentaire après la chirurgie chez des souris maintenues sous régime standard AO4, ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble (bleu) ou l'AAV-shARN-Cx43 (rouge) dans le CVD ($2x10^{11}$ GC/mL, 300 nl/site, 6x50 nl à 10 nl/sec). Tous les animaux inclus dans cette étude ont fait l'objet d'une analyse post-mortem pour valider l'incorporation des AAV dans l'intégralité du CVD.
B-D. *Groupes* : AAV-shARN-Scramble (n = 44); AAV-shARN-Cx43 (n = 48).
B. Croissance pondérale (g) pendant 9 semaines post-chirurgie. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM (standard error of the mean) avec deux mesures par semaine.
Comparaisons : Analyse statistique effectuée avec une ANOVA à mesures répétées et un test post-hoc de Bonferroni. Aucune différence significative n'a été observée entre les groupes à chaque temps post-chirurgie ($p > 0,9999$).
C. Évolution du poids corporel exprimée en pourcentage par rapport au poids initial le jour de la chirurgie. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM avec deux mesures par semaine.
Comparaisons : Analyse statistique effectuée avec une ANOVA à mesures répétées et un test post-hoc de Bonferroni. Aucune différence significative entre les groupes à chaque temps post-chirurgie ($p > 0,9999$).
D. Répartition des poids corporels au sein des groupes à la 9e semaine post-chirurgie. La ligne pleine représente la médiane, et les lignes pointillées indiquent l'intervalle interquartile. *Comparaisons* : Analyse statistique effectuée avec un T-test apparié. Aucune différence significative n'a été observée ($p = 0,36$).
E-F. Estimation de la prise alimentaire quotidienne par la méthode de pesée des restes alimentaires. La prise alimentaire n'a pas été mesurée chez les animaux participant à d'autres tests métaboliques.
Groupes : AAV-shARN-Scramble (n = 7 à 15) ; AAV-shARN-Cx43 (n = 9 à 15).
E. Prise alimentaire journalière en grammes.
Comparaisons : ANOVA à mesures répétées et test post-hoc de Sidak. Aucune différence significative n'a été observée à différents temps post-chirurgie (S2 : $p = 0,89$; S3 : $p = 0,36$; S4 : $p = 0,47$; S5 : $p = 0,99$; S6 : $p > 0,99$; S7 : $p = 0,9249$).
F. Prise alimentaire quotidienne exprimée en calorie par gramme de poids corporel.

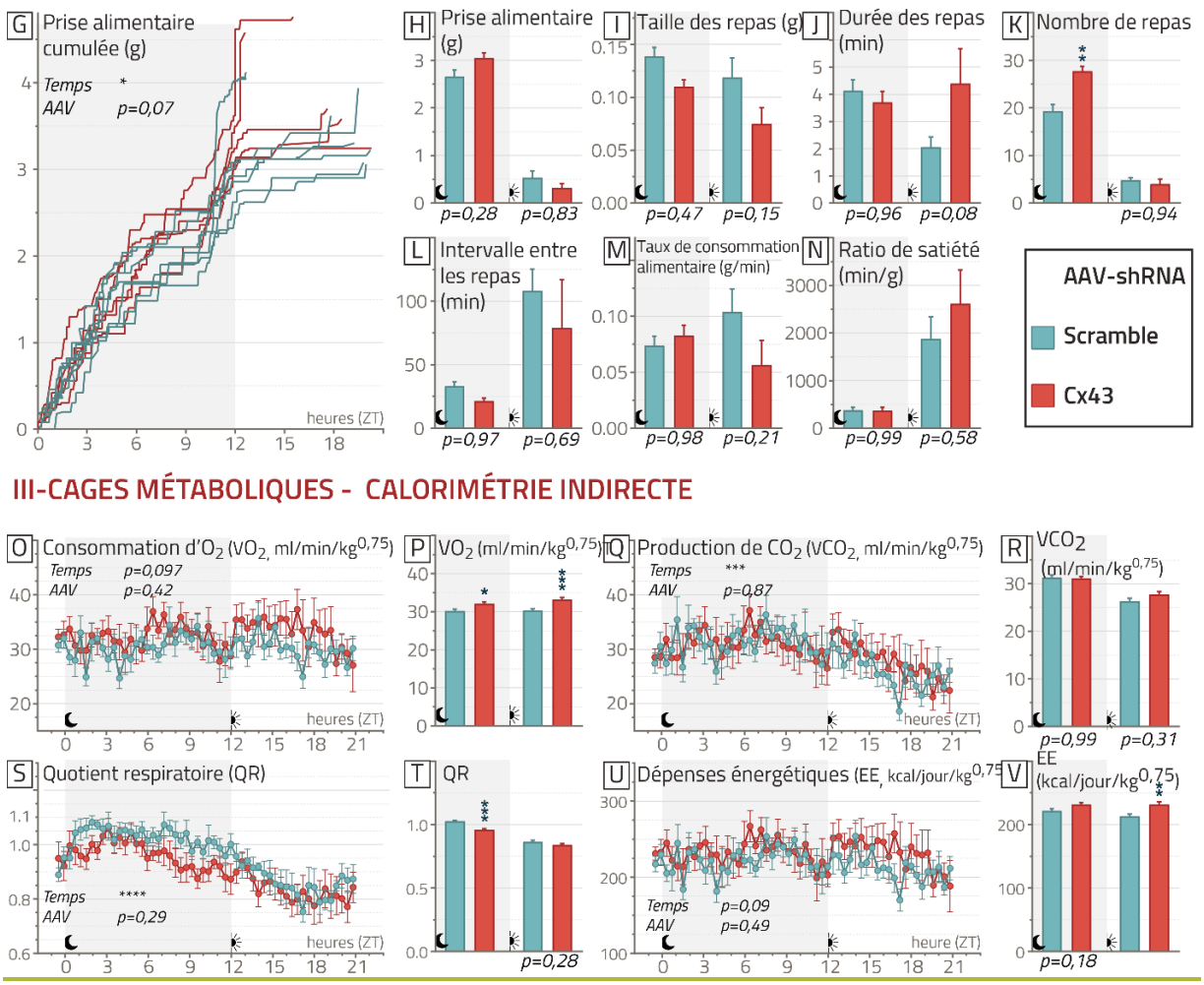


FIGURE 46 SUITE.

II- Prise alimentaire et microstructure des repas (G-N). Mesures de la prise alimentaire et analyse de la microstructure des repas enregistrées dans des physiocages, 6 ou 7 semaines après l'administration de l'AAV-shARN-Scramble ou de l'AAV-shARN-Cx43 ($2x10^{11}$ GC/mL, 300 nl/site, 6x50 nl à 10 nl/sec). Les animaux ont fait l'objet d'une analyse post-mortem permettant de valider l'incorporation des AAV dans l'intégralité du CVD. La prise alimentaire est mesurée sur environ 21 heures du cycle jour/nuit. Les heures sont exprimées en Zeitgeber Time (ZT), où ZT0 correspond au début de la période diurne (7 h 00) et ZT12 au début de la période nocturne (19 h 00). Les périodes nocturnes sont grisées et indiquées par une icône « lune », tandis que les périodes diurnes sont signalées par une icône « soleil ».
Groupes : AAV-shARN-Scramble (n = 7); AAV-shARN-Cx43 (n = 5).

G. Consommation alimentaire cumulée (en grammes) des animaux inclus dans l'analyse de la microstructure des repas.
Les paramètres de la microstructure des repas sont présentés sous forme de moyenne ± SEM au cours de la période nocturne et de la période diurne. Ils comportent :
H. La prise alimentaire totale en grammes.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs [Effet AAV : p = 0,53 ; **Effet Nuit/jour (****) : p < 0,0001 ; Interaction (*) : p = 0,04***]*. Test post-hoc de Tukey [Nuit - effet AAV (ns) : p= 0,28 ; Jour - effet AAV (ns) : p= 0,83].
I. La taille moyenne des repas en grammes.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs *[**Effet AAV (*) : 0,017** ; Effet Nuit/jour (ns) : p = 0,07]. Test post-hoc de Tukey [Nuit - effet AAV (ns) : p= 0,47 ; Jour - effet AAV (ns) : p= 0,15].

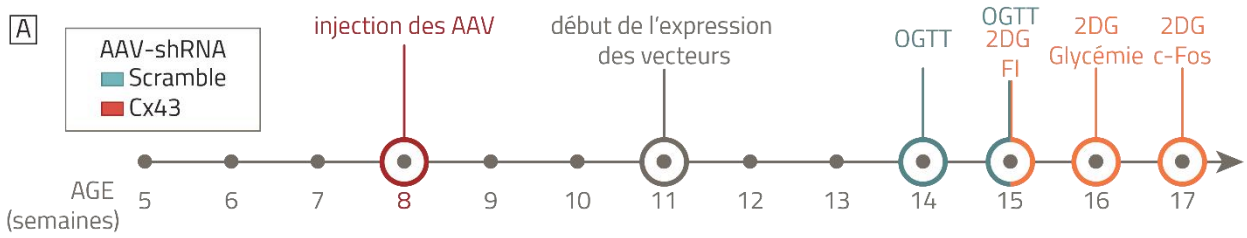
FIGURE 46 SUITE.

J. La durée des repas en minutes.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs [Effet AAV (ns) : p = 0,15 ; Effet Nuit/jour (ns) : p = 0,29]. Test post-hoc de Tukey [Nuit - effet AAV (ns) : p= 0,96 ; Jour - effet AAV (ns) : p= 0,08].
K. Le nombre de repas.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs [***Effet AAV (**) : p = 0,0028*** ; ***Effet Nuit/jour (****) : p < 0,0001*** ; ***Interaction (***) : p = 0,0006***]. Test post-hoc de Tukey [**Nuit - effet AAV (****) : p<0,0001** ; Jour - effet AAV (ns) : p= 0,94].
L. L'intervalle entre deux repas en minutes.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs [Effet AAV (ns) : p = 0,29 ; ***Effet Nuit/jour (**) : p = 0,002***].
M. Le taux de consommation alimentaire en grammes par minute.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs [Effet AAV (ns) : p = 0,26 ; Effet Nuit/jour (ns) : p =0,91].
N. Le ratio de satiété en minutes par gramme.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs [Effet AAV (ns) : p = 0,37 ; ***Effet Nuit/jour (*) : p = 0,02***].

III- Mesures des échanges gazeux et estimation du quotient respiratoire et des dépenses énergétiques par calorimétrie indirecte (O-V), par calorimétrie indirecte dans des cages métaboliques. Les souris traitées avec l'AAV-shARN-Scramble (bleu) ou l'AAV-shARN-Cx43 (rouge) ont fait l'objet d'une analyse post-mortem pour valider l'incorporation des AAV dans l'intégralité du CVD.
Groupes : AAV-shARN-Scramble (n = 7); AAV-shARN-Cx43 (n = 7).

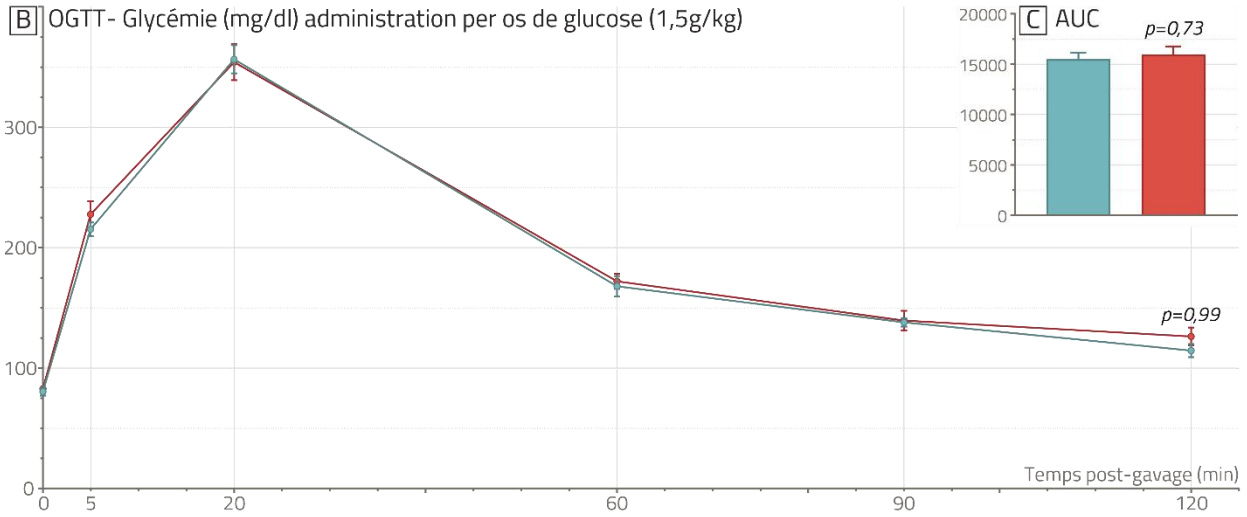
O. Consommation d'oxygène ($\dot{V}O_2$, ml/min/kg^{75}) au cours du temps d'enregistrement. *Comparaisons* : ANOVA à mesures répétées. Aucune différence significative entre les groupes à aucun moment temps (p = 0,42).
P. Consommation d'oxygène ($\dot{V}O_2$, ml/min/kg) moyennée sur les périodes nocturne et diurne. *Comparaisons* : ANOVA à deux facteurs [***Effet AAV (***) : p < 0,0001*** ; Effet Nuit/jour (ns) : p = 0,22]. Test post-hoc de Tukey [**Nuit - effet AAV (*) : p=0,03** ; **Jour - effet AAV (***) : p= 0,0007**].
Q. Production de dioxyde de carbone ($\dot{V}CO_2$, ml/min/kg^{75}) au cours du temps d'enregistrement. *Comparaisons* : ANOVA à mesures répétées. Aucune différence significative entre les groupes (p = 0,87). ***Effet du temps (***) : p = 0,0001]***
R. Production de dioxyde de carbone ($\dot{V}CO_2$, ml/min/kg^{75}) moyennée sur les périodes nocturne et diurne. *Comparaisons* : ANOVA à deux facteurs [Effet AAV (ns) : p = 0,27 ; ***Effet Nuit/jour (****) : p < 0,0001***].
S. Quotient respiratoire ($\dot{V}CO_2$ / $\dot{V}O_2$) au cours du temps d'enregistrement.
Comparaisons **:** ANOVA à mesures répétées [Effet AAV (ns) : p = 0,45 ; ***Effet Nuit/jour (****) : p < 0,0001***].
T. Quotient respiratoire ($\dot{V}CO_2$ / $\dot{V}O_2$) moyenné sur les périodes nocturne et diurne.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs [***Effet AAV (****) : p < 0,0001 ; Effet Nuit/jour (****) : p < 0,0001 ; Interaction (*) : p = 0,02***]. Test post-hoc de Tukey [**Nuit - effet AAV (***) : p= 0,0002** ; Jour - effet AAV (ns) : p= 0,28].
U. Dépenses énergétiques totales (kcal/jour/kg^{0,75}) au cours du temps d'enregistrement. *Comparaisons* **:** ANOVA à mesures répétées [Effet AAV (ns) : p = 0,49 ; Effet Nuit/jour (ns) : p = 0,09].
V. Dépenses énergétiques totales (kcal/jour/kg^{0,75}) moyennées sur les périodes nocturne et diurne.
Comparaisons **:** ANOVA à deux facteurs [***Effet AAV (****) : p < 0,0001*** ; Effet Nuit/jour (ns) : p = 0,22]. Test post-hoc de Tukey [Nuit - effet AAV (ns) : p= 0,18 ; **Jour - effet AAV (**) : p= 0,0029**].

Abréviations : *p < 0,05 ; **p < 0,01 ; ***p < 0,001 par rapport au groupe AAV-shARN-Scramble ; **PC** : post-chirurgie ; **ZT** : Zeitgeber Time ; **$\dot{V}O_2$** : consommation d'oxygène ; **$\dot{V}CO_2$** : production de dioxyde de carbone.



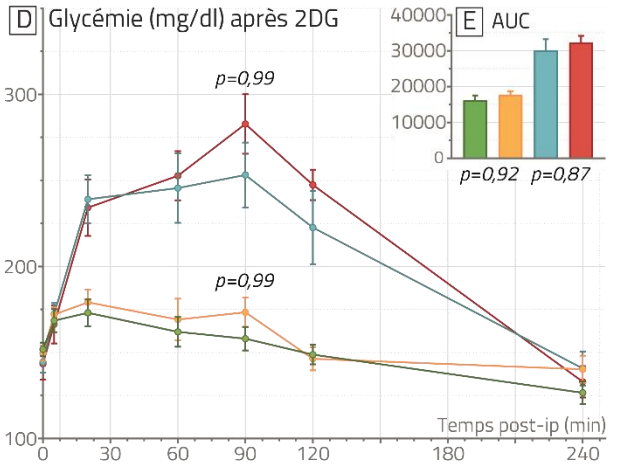
I-TEST DE TOLÉRANCE ORALE AU GLUCOSE (OGTT)

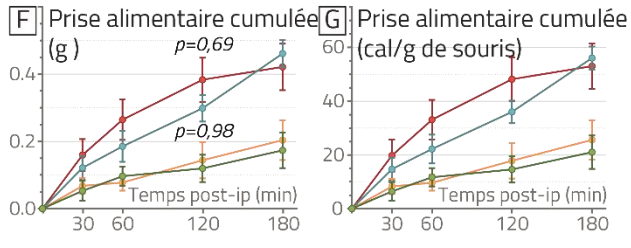
AAV-shRNA-Cx43 AAV-shRNA-Scramble

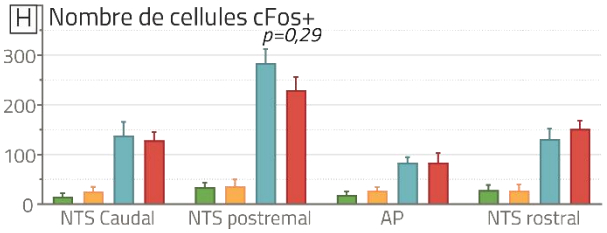


II-EFFET D'UNE GLUCOPRIVATION INDUITE PAR LE 2DG

AAV-shRNA-Scramble-NaCl AAV-shRNA-Cx43-NaCl AAV-shRNA-Scramble-2DG AAV-shRNA-Cx43-2DG







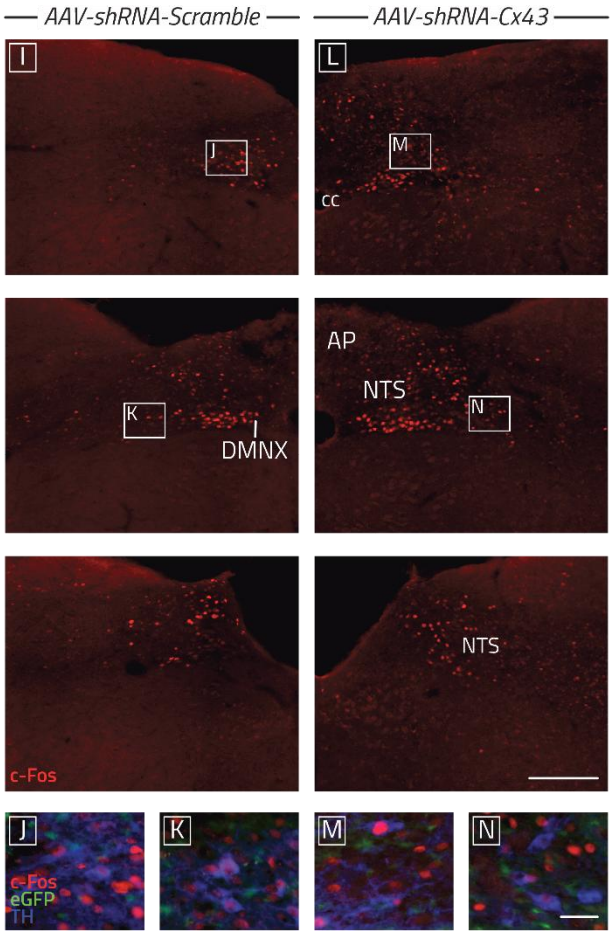


FIGURE 47 : TESTS MÉTABOLIQUES CHEZ DES SOURIS MAINTENUES SOUS RÉGIME STANDARD AO4.

A. *Timeline* expérimentale. Les souris utilisées ont reçu l'AAV-shARN-Scramble ou l'AAV-shARN-Cx43 dans le CVD ($2x10^{11}$ GC/mL, 300 nl/site, 6x50 nl à 10 nl/sec). Tous les animaux inclus dans les analyses de tests métaboliques ont fait l'objet d'une analyse post-mortem pour valider l'incorporation des AAV dans l'intégralité du CVD.

I- Tests de tolérance au glucose par voie orale (OGTT, B-C).
Groupes: AAV-shARN-Scramble (n = 5); AAV-shARN-Cx43 (n = 8).

B. Évolution de la glycémie (mg/dl) au cours du test de tolérance au glucose. Les mesures de glycémie sont représentées en fonction du temps après l'administration *per os* de glucose (1,5 g/kg).
Comparaisons : ANOVA à mesures répétées [Effet AAV (ns) : p = 0,56 ; ***Effet du temps (****) : p < 0,0001***]. Test post-hoc de Bonferroni [pour tous les temps de mesure, effet AAV (ns) : p>0,99)].

C. Aire sous la courbe (AUC) des niveaux de glucose mesurés pendant le test de tolérance au glucose par voie orale.
Comparaisons : T-test non apparié. Pas de différence significative entre les groupes (p= 0,73).

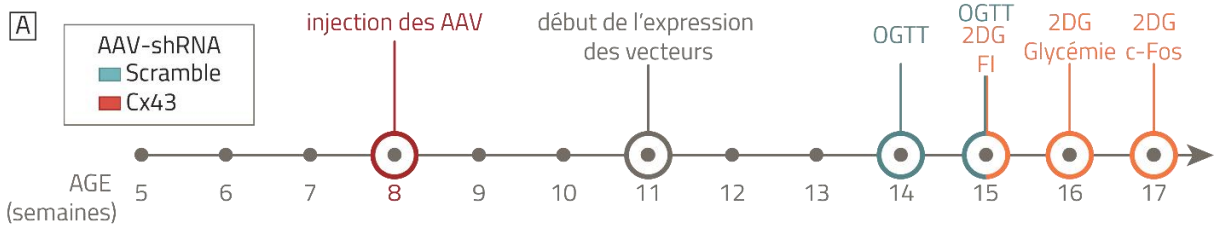
II- Glucoprivation induite par le 2-deoxy-D-glucose (2DG)

D. Évolution de la glycémie (mg/dl) au cours du challenge de glucopénie. Les mesures de glycémie sont représentées en fonction du temps après l'administration *ip* de 2DG (0,3 g/kg, 10 mL/kg) ou de NaCl (0,9 %, 10 mL/kg).
Groupes : AAV-shARN-Scramble_NaCl (n=10) ; AAV-shARN-Cx43_NaCl (n=7) ; AAV-shARN-Scramble_2DG (n =7) ; AAV-shARN-Cx43_2DG (n =6).
Comparaisons : ANOVA à mesures répétées [***Effet AAV (****) : p < 0,0001 ; Effet du temps (****) : p < 0,0001*** ; ***Interaction*** *(****) : p < 0,0001*]. Test post-hoc de Bonferroni [Scramble_NaCl vs. Cx43_NaCl : Aucune différence significative n'a été observée entre les groupes à chaque temps post ip (>0,9999). Scramble_2DG vs. Cx43_2DG. Aucune différence significative n'a été observée entre les groupes à chaque temps post ip (>0,9999). ***Scramble_NaCl vs. Scramble_2DG* : différence significative à partir de +20 minutes (min) post-injection**].

E. Aire sous la courbe (AUC) des niveaux de glucose mesurés pendant le test de 2DG.
Comparaisons : ANOVA unilatéral (one-way). Test post-hoc de Tukey [Scramble_NaCl vs. Cx43_NaCl (ns) : p= 0,93 ; ***Scramble_NaCl vs. Scramble_2DG (****) : p <0,0001*** ; Scramble_2DG vs. Cx43_2DG (ns) : p=0,86].

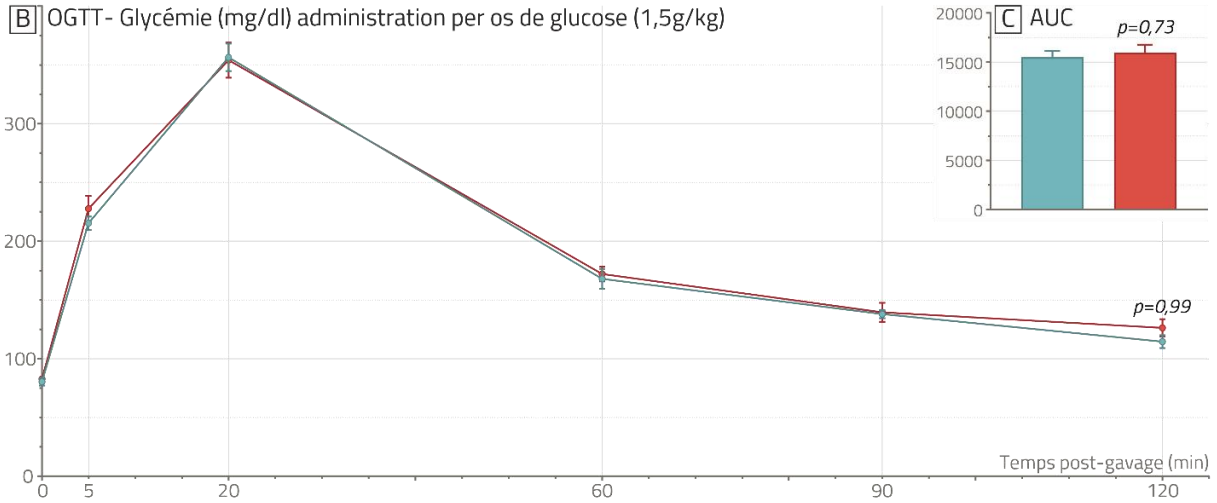
F. Prise alimentaire cumulée (g) au cours des 3 heures suivant l'administration de 2DG (0,3 g/kg, 10 mL/kg) ou de NaCl (0,9 %, 10 mL/kg).
Groupes : AAV-shARN-Scramble_NaCl (n=6) ; AAV-shARN-Cx43_NaCl (n=5) ; AAV-shARN-Scramble_2DG (n =8) ; AAV-shARN-Cx43_2DG (n =6).
Comparaisons : ANOVA à mesures répétées [***Effet AAV (**) : p = 0,005; Effet du temps (****) : p < 0,0001*** ; ***Interaction*** *(***) : p = 0,0004,*]. Test post-hoc de Tukey [Scramble_NaCl vs. Cx43_NaCl : Aucune différence significative n'a été observée entre les groupes à chaque temps post ip (0,96 < p < 0,98) ; Scramble_2DG vs. Cx43_2DG. Aucune différence significative n'a été observée entre les groupes à chaque temps post ip (0,70 (+120min) < p < 0,96 ; ***Scramble_NaCl vs. Scramble_2DG* (*) à + 120 min (p= 0,038) ; (**) à + 180 min (p= 0,007)].**

G. Prise alimentaire cumulée au cours des 3 heures suivant l'administration de 2DG (0,3 g/kg, 10 mL/kg) ou de NaCl (0,9%, 10 mL/kg) et exprimée en calorie par gramme de poids corporel.



I-TEST DE TOLÉRANCE ORALE AU GLUCOSE (OGTT)

AAV-shRNA-Cx43 AAV-shRNA-Scramble



II-EFFET D'UNE GLUCOPRIVATION INDUITE PAR LE 2DG

AAV-shRNA-Scramble-NaCl AAV-shRNA-Cx43-NaCl AAV-shRNA-Scramble-2DG AAV-shRNA-Cx43-2DG

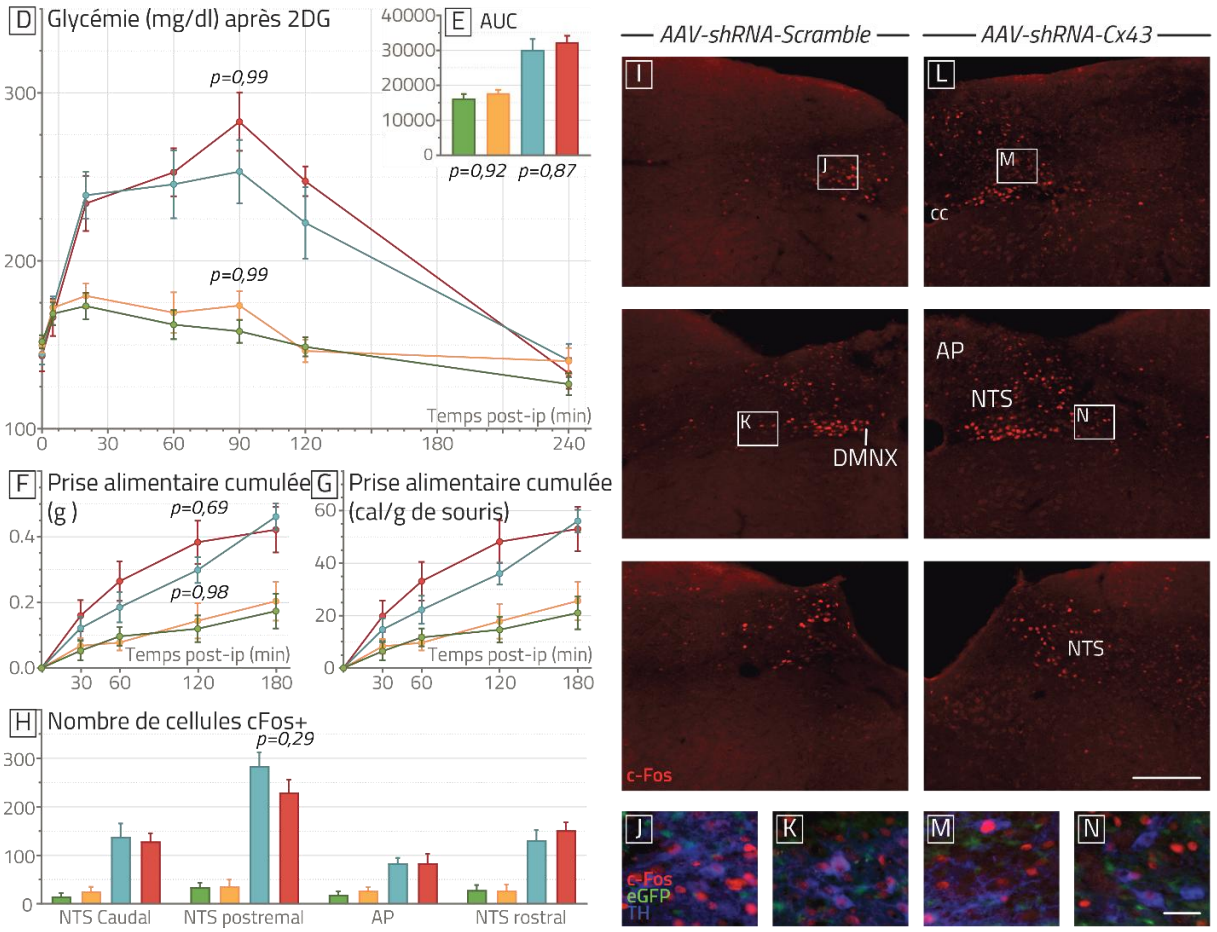


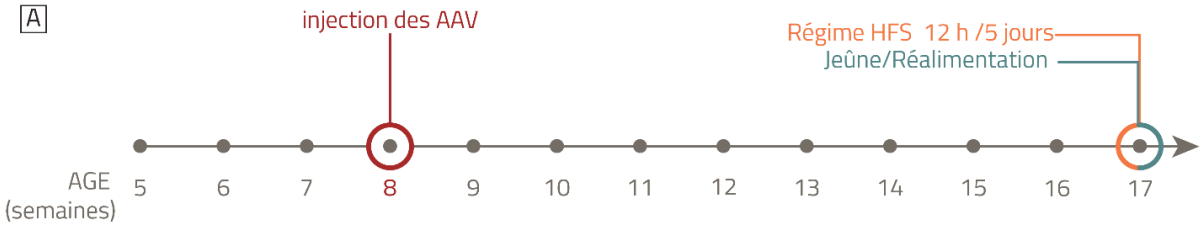
FIGURE 47 SUITE.

H. Nombre de cellules c-Fos$^+$ dans le NTS caudal, postrémal, rostral et dans l'AP chez des souris perfusées 2 heures après l'injection de NaCl ou de 2DG (0,3 g/kg, 10 mL/kg). *Groupes*: AAV-shARN-Scramble_NaCl (n=6) ; AAV-shARN-Cx43_NaCl (n=5) ; AAV-shARN-Scramble_2DG (n =8) ; AAV-shARN-Cx43_2DG (n =4).
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs avec un test post-hoc de Tukey. NTS caudal : Effet du 2DG (****) : p < 0,0001 [AAV-shARN-Scramble (***) : p=0,0004 ; AAV-shARN-Cx43 (**) : p= 0,006]. ; Effet de l'AAV (ns) : p= 0,9683 [NaCl (ns) : p= 0,9741 ; 2DG (ns) : p= 0,9880]. NTS postrémal : Effet du 2DG (****) : p < 0,0001 [AAV-shARN-Scramble (****) : p <0,0001 ; AAV-shARN-Cx43 (****) : p <0,0001]. ; Effet de l'AAV (ns) : p= 0,2118 [NaCl (ns) : p >0,9999 ; 2DG (ns):p= **0,2911**]. NTS rostral : Effet du 2DG (****) : p < 0,0001 [AAV-shARN-Scramble (***) : p = 0,0009 ; AAV-shARN-Cx43 (***) : p = 0,0006]. ; Effet de l'AAV (ns) : p= 0,5571 [NaCl (ns) : p >0,9999 ; 2DG (ns):p= 0,8261]. AP : Effet du 2DG (****) : p < 0,0001 [AAV-shARN-Scramble (**) : p = 0,0020 ; AAV-shARN-Cx43 (*) : p = 0,0230] ; Effet de l'AAV (ns) : p= 0,7288 [NaCl (ns) : p=0,9402 ; 2DG (ns):p= >0,9999].

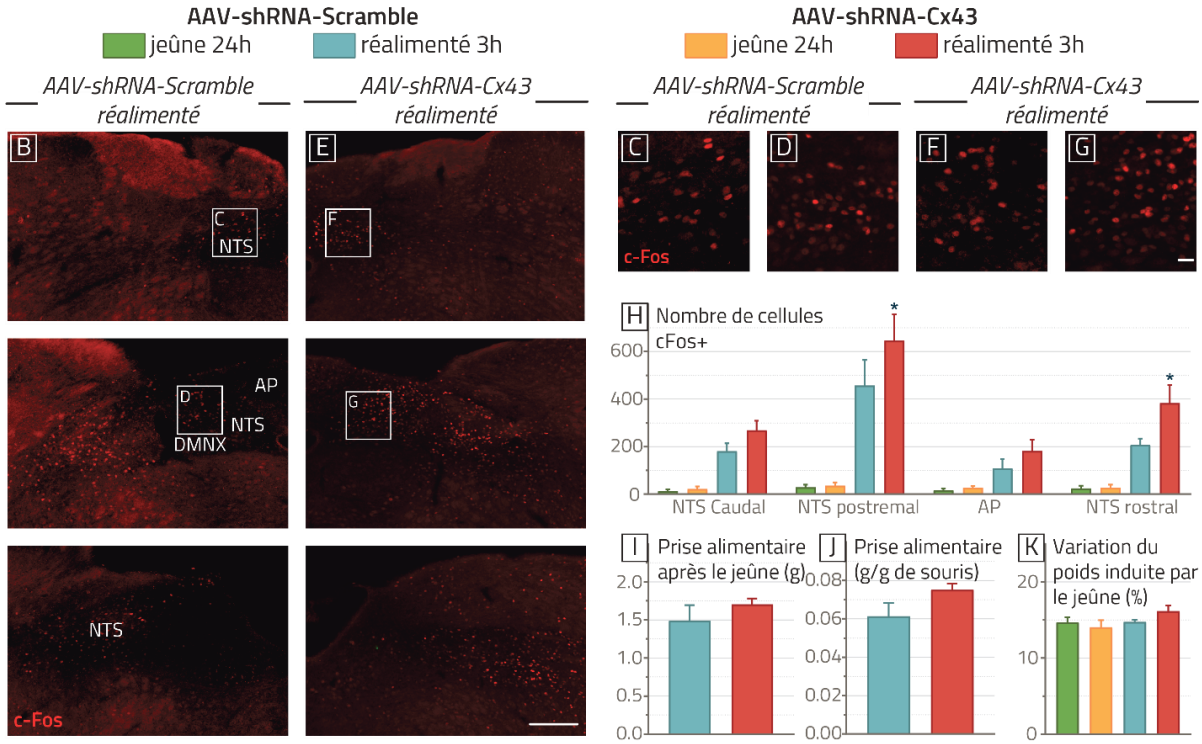
I-N. Images représentatives d'immunomarquages c-Fos (rouge) obtenues au microscope à épifluorescence chez des animaux traités avec l'AAV-shARN-Scramble (**I-K**) ou l'AAV-shARN-Cx43 (**L-N**) dans le CVD, après une injection de 2DG.
Les images **J** et **M** montrent des agrandissements du NTS caudal, et les images **K** et **N** des agrandissements du NTS postrémal, montrant l'immunoréactivité de la tyrosine hydroxylase (TH, bleu) et la fluorescence EGFP endogène (astrocytes transduits par AAV).

Abréviations : **2DG** : 2-deoxy-D-glucose ; **AUC** : aire sous la courbe ; **AP** : *area postrema* ; **cal** : calories ; **cc** : canal central ; **DMNX** : noyau moteur du nerf vague ; **FI** : prise alimentaire (food intake) ; **NTS** : noyau du tractus solitaire ; **OGTT** : tests de tolérance au glucose par voie orale.

Barres d'échelles : 200 µm (**I** et **L**), 20 µm (**J**, **K**, **M**, **N**).



III-RÉALIMENTATION APRÈS 24h DE JEÛNE



IV-REGIME ENRICHI EN GRAISSE ET EN SUCRE COURT

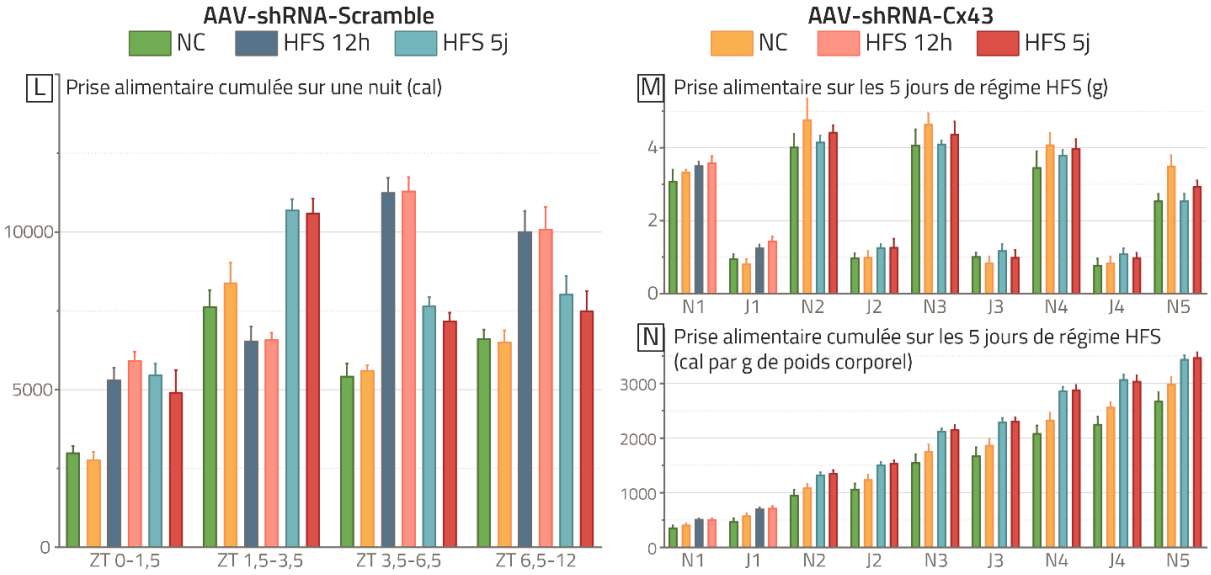


FIGURE 48 : TESTS MÉTABOLIQUES CHEZ DES SOURIS MAINTENUES SOUS RÉGIME STANDARD AO4_ SUITE

A. *Timeline* expérimentale. Les souris utilisées ont reçu l'AAV-shARN-Scramble ou l'AAV-shARN-Cx43 dans le CVD ($2x10^{11}$ GC/mL, 300 nl/site, 6x50 nl à 10 nl/sec). Tous les animaux inclus dans les analyses de tests métaboliques ont fait l'objet d'une analyse post-mortem pour valider l'incorporation des AAV dans l'intégralité du CVD.

III- Paradigme de jeûne réalimentation.
Groupes : AAV-shARN-Scramble_jeûne 24 h (n = 6) ; AAV-shARN-Cx43_jeûne 24 h (n = 5) ; AAV-shARN-Scramble_réalimenté 3 h (n = 5) ; AAV-shARN-Cx43_ réalimenté 3 h (n = 5).

B-G. Images représentatives d'immunomarquages c-Fos (rouge) obtenues au microscope à épifluorescence chez des animaux traités avec l'AAV-shARN-Scramble (**B-D**) ou l'AAV-shARN-Cx43 (**E-G**) dans le CVD, mis à jeun pendant 21 h puis réalimenté 3 h avant la mise à mort. Les images **C** et **F** montrent des agrandissements du NTS caudal, et les images **F** et **G** des agrandissements du NTS postrémal,
Barres d'échelles : 200 µm (**B** et **E**), 20 µm (**C**, **D**, **F**, **G**).

H. Nombre de cellules c-Fos$^+$ dans le NTS caudal, postrémal, rostral et dans l'AP chez des souris perfusées après un jeûne de 24 h ou un jeûne de 21 h suivi d'une période de réalimentation de 3 h.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs [***Effet AAV (****) : p <0,0001 ; Effet de la région cérébrale (****) : p <0,0001 ; Interaction (****) : p <0,0001***]. Test post-hoc de Tukey [AAV-shARN-Scramble_jeûne vs. AAV-shARN-Cx43_jeûne : Pas de différence significative dans aucune région. AAV-shARN-Scramble_jeûne vs. AAV-shARN-Scramble_réalimenté : **NTS caudal (*) : p= 0,0496** ; **NTS postrémal (****) : p <0,0001** ; **NTS rostral (*) : p=0,0271** ; AP (ns) : p= 0,4661. AAV-shARN-Scramble_réalimenté vs. AAV-shARN-Cx43_réalimenté : NTS caudal (ns) : p= 0,5473 ; ***NTS postrémal (*) : p= 0,0307*** ; ***NTS rostral (*)*** : ***p= 0,0479***; AP (ns) : p= 0,6951].

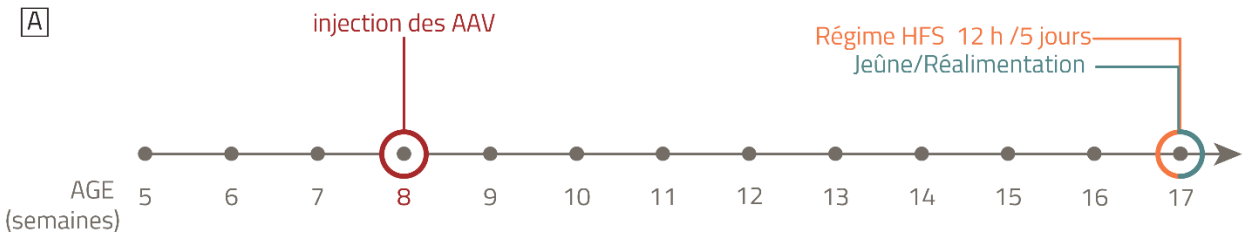
I. Prise alimentaire (g) pendant la période de réalimentation (3 h) suivant le jeûne (21 h).
Comparaisons : T-test non apparié. Pas de différence significative entre les groupes (p= 0,30).

J. Prise alimentaire par gramme de poids corporel pendant la période de réalimentation (3 h) suivant le jeûne (21 h).

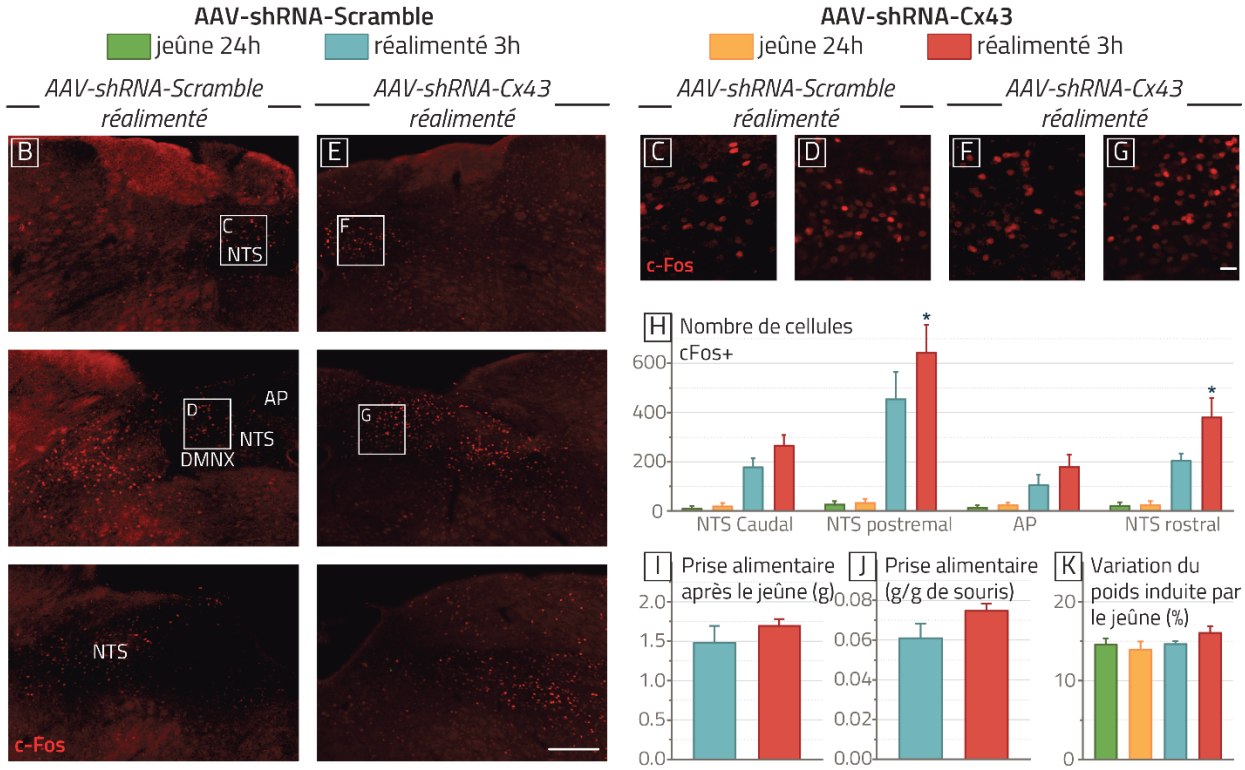
K. Changement de poids corporel (%) induit après 21h de jeûne.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs. Pas de différence significative entre les groupes.

IV- Effet d'un régime enrichi en graisses et en sucres sur 12 heures ou 5 jours.
Groupes : AAV-shARN-Scramble_NC (n = 27) ; AAV-shARN-Cx43_NC (n = 31), comprenant l'intégralité des animaux (période pré-régime) ; AAV-shARN-Scramble_HFS 12 h (n = 12), comprenant les animaux HFS 5 jours (n=6) ; AAV-shARN-Cx43_ HFS 12 h (n = 13) comprenant les animaux HFS 5 jours (n=6).

L. Prise alimentaire (calories consommées) pendant une nuit chez des animaux nourris avec un régime standard (AO4), un régime enrichi en graisses et en sucres introduit depuis 12 heures (HFS 12 h), ou depuis 5 jours (HFS 5 j).
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs [***Effet du groupe (****) : p <0,0001 ; Effet de la période du ZT (****) : p <0,0001].*** Test post-hoc de Tukey. Effet des vecteurs viraux (AAV-shARN-Scramble vs AAV-shARN-Cx43) : Le type d'AAV injecté n'a entraîné aucune modification notable des apports caloriques aux différents temps de mesure (ZT), que les animaux aient été nourris avec un régime standard ou un régime HFS introduit depuis 12 h ou 5 j [ZT 0-1,5_NC : p= 0,9995 ; ZT 0-1,5_HFS 12h : p= 0,9204 ; ZT 0-1,5_HFS5 j : p= 0,9531 ; ZT 1,5-3,5_NC : p= 0,8653 ; ZT 1,5-3,5_HFS12 h : p >0,9999 ; ZT 1,5-3,5_HFS5 j : p >0,9999 ; ZT 3,5-6,5_NC : p= 0,9998 ; ZT 3,5-6,5_HFS12 h : p >0,9999 ; ZT 3,5-6,5_HFS5 j : p =0,9723 ; ZT 6,5-12_NC : p>0,9999 ; ZT 6,5-



III-RÉALIMENTATION APRÈS 24h DE JEÛNE



IV-REGIME ENRICHI EN GRAISSE ET EN SUCRE COURT

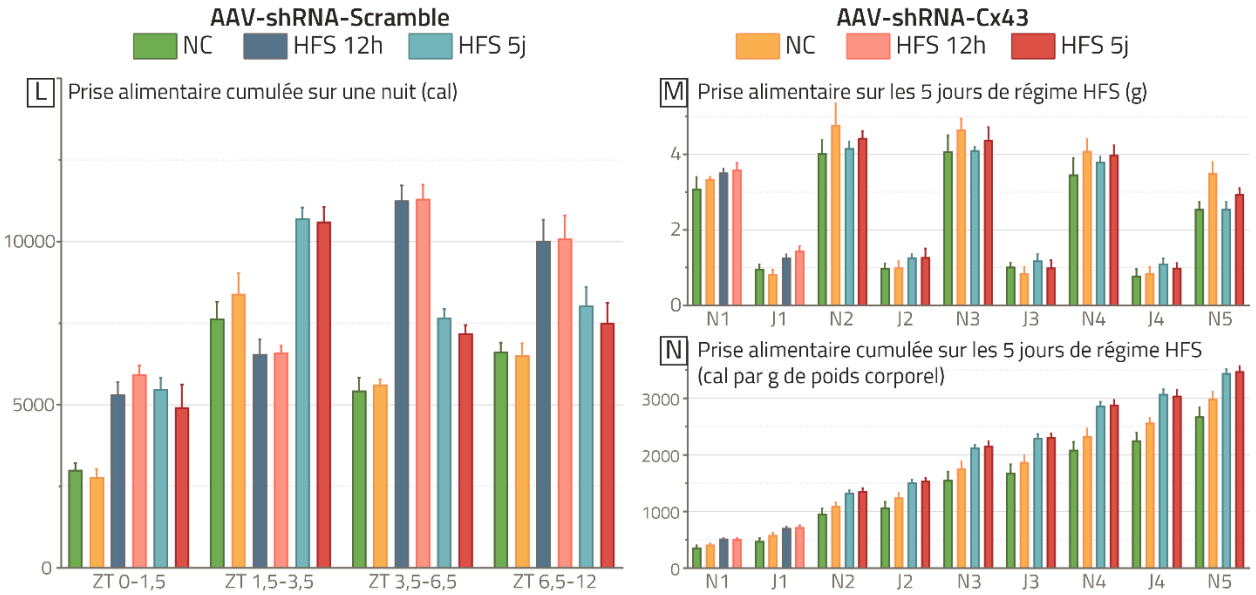


FIGURE 48 SUITE.

12_HFS12 h : p >0,9999 ; ZT 6,5-12_HFS5 j : p =0,9589]. Effet du régime HFS (12 h) par rapport au AO4 : Indépendamment de l'effet du virus, une exposition de 12 h au régime HFS a entraîné des différences significatives des apports caloriques à certains ZT. [**ZT 0-1,5_AAV-shARN-Scramble (**) : p = 0,0083** ; **ZT 0-1,5_AAV-shARN-Cx43 (****) : p <0,0001** ; ZT 1,5-3,5_AAV-shARN-Scramble (ns) : p=0,**5723 ; ZT 1,5-3,5_AAV-shARN-Cx43 (*) : p= 0,0417** ; **ZT 3,5-6,5_AAV-shARN-Scramble (****) : p<0,0001** ; **ZT 3,5-6,5_AAV-shARN- Cx43(****) : p<0,0001** ; **ZT 6,5-12_AAV-shARN-Scramble (****) : p <0,0001** ; **ZT 6,5-12_AAV-shARN- Cx43 (****) : p <0,0001**]. Effet du régime HFS12 h par rapport au régime HFS5 j : Indépendamment de l'effet du virus, des régulations homéostatiques en réponse à l'exposition au régime HFS ont été observées, avec une diminution des apports caloriques mesurés au cours du 5e jour (HFS5 j) par rapport à celle des 12 premières heures de régime (HFS 12 h). [ZT 0-1,5_AAV-shARN-Scramble (ns) : p = 0,9886 ; ZT 0-1,5_AAV-shARN-Cx43 (ns) : p = 0,5721 ; **ZT 1,5-3,5_AAV-shARN-Scramble (****) : p <0,0001** ; **ZT 1,5-3,5_AAV-shARN-Cx43 (****) : p <0,0001** ; **ZT 3,5-6,5_AAV-shARN-Scramble (****)** : p <0,0001 ; **ZT 3,5-6,5_AAV-shARN- Cx43 (****) : p <0,0001** ; **ZT 6,5-12_AAV-shARN-Scramble (*) : p =0,0264** ; **ZT 6,5-12_AAV-shARN- Cx43 (***) : p =0,0006**].

M. Prise alimentaire (g) enregistrée pendant les 5 jours d'exposition au régime HFS, avec des moyennes calculées pour les périodes nocturnes (nuit 1 à nuit 5) et diurnes (jour 1 à jour 4). Les animaux témoins sont maintenus sous régime standard (AO4). La prise alimentaire diminue après la troisième nuit d'exposition au régime HFS.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs [***Effet du groupe (**) : p=0,0033 ; Effet du temps (****): p <0,0001].*** Test post-hoc de Tukey. Effet des vecteurs viraux (AAV-shARN-Scramble vs AAV-shARN-Cx43) pendant la période nocturne. Aucun effet significatif des AAV n'a été observé entre les animaux nourris avec un régime AO4 ou HFS [Nuit1_NC : p >0,9999 ; Nuit1_HFS : p >0,9999 ; Nuit2_NC : p = 0,9388 ; Nuit2_HFS : p >0,9999 ; Nuit3_NC : p= 0,9953 ; Nuit3_HFS : p >0,9999. Nuit4_NC : p= 0,9897 ; Nuit4_HFS : p >0,9999 ; Nuit5_NC : p= 0,5745 ; Nuit5_HFS : >0,9999]. Effet des vecteurs viraux (AAV-shARN-Scramble vs AAV-shARN-Cx43) pendant la période diurne. Aucun effet significatif des AAV n'a été observé entre les animaux nourris avec un régime AO4 ou HFS [p >0,9999 pour les animaux nourris avec AO4 aux jours 1, 2, 3 et 4 ; p >0,9999 pour les animaux nourris avec HFS aux jours 1, 2, 3 et 4]. Modification significative de la prise alimentaire entre la Nuit 2 et la Nuit 5, indépendamment de l'effet du virus [**AAV-shARN-Scramble_NC (*): p= 0,0484** ; **AAV-shARN-Scramble_HFS (**): p= 0,0071** ; AAV-shARN-Cx43_NC (ns) :p=0,1162 ; **AAV-shARN-Cx43_HFS (*) :p =0,0414**].
Modification significative de la prise alimentaire entre la Nuit 3 et la Nuit 5, indépendamment de l'effet du virus. [AAV-shARN-Scramble_NC (ns): p= 0,9968 ; **AAV-shARN-Scramble_HFS (*): p= 0,0123**; AAV-shARN-Cx43_NC (ns) :p=0,2449; **AAV-shARN-Cx43_HFS (*) :p =0,0344**]

N. Prise alimentaire cumulée sur 5 j d'exposition au régime HFS, exprimée en calories par gramme de poids corporel.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs [***Effet du groupe (****) : p <0,0001 ; Effet du temps (****) : p <0,0001].*** Test post-hoc de Tukey. Effet des vecteurs viraux (AAV-shARN-Scramble vs AAV-shARN-Cx43) pendant la période nocturne. Aucun effet significatif des AAV n'a été observé entre les animaux nourris avec un régime AO4 ou HFS [Nuit1_NC : p = 0,9738 ; Nuit1_HFS : p >0,9999 ; Jour1_NC : p= 0,8178 ; Jour1_HFS : p= 0,9994 ; Nuit2_NC : p = 0,6352 ; Nuit2_HFS : p = 0,9929 ; Jour2_NC : p= 0,4603 ; Jour2_HFS : p= 0,9965 ; Nuit3_NC : p= 0,3331 ; Nuit3_HFS : p = 0,986 ; Jour3_NC : p= 0,3602 ; Jour4_HFS : p= 0,9998 ; Nuit4_NC : p= 0,1638 ; Nuit4_HFS : p = 0,9979 ; Jour4_NC : p= 0,0833 ; Jour4_HFS : p= 0,9946 ; Nuit5_NC : p= 0,0802 ; Nuit5_HFS : p= 0,9932].

Abréviations : **AAV** : virus adéno-associé ; **AP** : Area Postrema ; **Cx43** : Connexine 43 ; **DMNX** : Noyau moteur dorsal du nerf vague ; **HF5j** : Régime *High Fat, High Sugar* pendant 5 jours ; **HF12h** : Régime *High Fat, High Sugar* pendant 12 heures ; **J** : Jour ; **N** : Nuit ; **NC** : *Normal Chow* (régime alimentaire standard pour souris) ; **NTS** : Noyau du tractus solitaire ; **shRNA** : *Short Hairpin RNA* (petit ARN en épingle à cheveux utilisé pour l'interférence par ARN) ; **ZT** : *Zeitgeber Time* (**ZT0** = début de la phase lumière)

II.3.2.3 - Effets de la réduction de l'expression de la Cx43 chez des souris nourries avec un régime obésogène

II.3.2.3.1 - Suivis longitudinaux et tests métaboliques

Nous avons ensuite exploré l'impact de la réduction de l'expression de la Cx43 dans le CVD dans un contexte d'obésité induite par un régime enrichi en graisses et en sucres (HFS). L'absence de perturbations métaboliques sous un régime standard (NC) pourrait résulter de mécanismes homéostatiques compensatoires maintenant l'équilibre énergétique global. Dans ce cas, l'exposition à un régime HFS et à la surcharge calorique associée, mettant à rude épreuve la balance énergétique, pourrait dépasser ces mécanismes et révéler une fragilité dans le contrôle de l'homéostasie énergétique.

Pour cela, une partie des animaux a été soumise à un régime HFS à partir de la 5e semaine d'âge et pendant une durée de 12 semaines. La composition détaillée de ces régimes alimentaires utilisés est présentée dans le **Tableau 12**. L'injection des vecteurs viraux AAV-shARN-Cx43 ou AAV-shARN-Scramble a été effectuée à la 8e semaine d'âge. Pendant toute la durée du régime, nous avons suivi la croissance pondérale des animaux à raison de deux pesées par semaine. Le régime HFS a eu un effet significatif sur le poids corporel à partir de la 11e semaine d'âge (6e semaine de régime ; **Figure 49**, **B** ; ANOVA à mesures répétées avec test post-hoc de Bonferroni : AAV-shARN-Scramble_NC vs. AAV-shARN-Scramble_HFS : p = 0,0192 ; AAV-shARN-Cx43_NC vs. AAV-shARN-Cx43_HFS : p = 0,0004). Chez les souris ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43, les effets du régime sur le poids corporel étaient visibles dès l'âge de 10 semaines (2,5 semaines post-chirurgie **;** **Figure 49**, **B** ; ANOVA à mesures répétées avec test post-hoc de Bonferroni : AAV-shARN-Scramble_NC vs. AAV-shARN-Scramble_HFS : p = 0,2276 ; AAV-shARN-Cx43_NC vs. AAV-shARN-Cx43_HFS : p = 0,0233). Sous régime HFS, les souris ont développé une obésité modérée, atteignant un poids moyen de 35 à 37 g après 12 semaines, contre 28 à 30 g chez les souris maintenues sous NC (**Figure 49**, **B et D**). Comme observé dans les cohortes précédentes, la réduction d'expression de la Cx43 n'a pas affecté la croissance pondérale des souris maintenues sous NC. Sous régime HFS, la prise de poids n'a pas non plus été significativement impactée par la nature de l'AAV administré (**Figure 46**, B, C et D). Cependant, une tendance à l'augmentation du poids corporel sous régime HFS a été observée chez les souris ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43 par rapport à celles ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble. Cette tendance, apparente à 15e semaine d'âge (10e semaine de régime, 7e semaine post-chirurgie, p = 0,1632) s'est accentuée jusqu'à la 17e semaine d'âge, sans toutefois atteindre la significativité statistique (p = 0,0545). Elle était aussi visible dans la répartition des poids corporels à la 12e semaine (**Figure 49**, **D**) : les souris sous HFS ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43 présentaient les poids les plus élevés, avec une médiane de 36,9 g pour le AAV-shARN-Cx43_HFS contre 35,5 g pour celles ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble et maintenues sous HFS.

Le suivi longitudinal des animaux a également inclus des mesures des restes alimentaires sur 24 h, permettant d'estimer la PA journalière (**Figure 49**, **E et F**). Ces tests ont été réalisés pendant la période où les souris de cette étude ont été utilisées dans différents tests métaboliques, entre la 14e et la 16e semaine d'âge (**Figure 49**, **A**). Tous les animaux n'ont pas pu être inclus dans ces mesures, car ceux destinés aux procédures d'OGTT étaient en période d'habituation aux protocoles expérimentaux. Au cours de ces trois semaines de mesures, la PA des souris était similaire entre les deux groupes soumis au régime HFS, ainsi qu'entre les deux groupes soumis au régime standard, indépendamment de l'AAV administré.

En parallèle des mesures des restes alimentaires et des mesures hebdomadaires de glycémie ont été réalisées chez des animaux âgés de 10 à 16 semaines (2e à 8e semaine post-chirurgie, (**Figure 49**, **G**). Une grande variabilité a été observée entre les groupes avec. Elle pourrait être attribuée à l'absence de mise à jeun des animaux avant les mesures, bien que celles-ci aient été réalisées en milieu de phase claire, un moment où les souris s'alimentent peu. Malgré ces fluctuations, les mesures montrent une légère augmentation de la glycémie basale chez les souris nourries avec un régime HFS comparé à celles maintenues sous régime standard, indiquant un état de prédiabète associé au régime. Aucun effet de la réduction de l'expression de la Cx43 sur la glycémie n'a été détecté (exemple à 16 semaines d'âge, ANOVA à mesures répétées : AAV-shARN-

ShScramble_NC vs. AAV-shARN-Cx43_NC : p = 0,9655 ; AAV-shARN-Scramble_HFS vs. AAV-shARN-Cx43_HFS : p = 0,3652).

Afin d'affiner l'analyse du métabolisme énergétique, des animaux de la cohorte ont été hébergés dans des cages métaboliques pendant une durée de 3 jours, à la 7e semaine post-injection (10e semaine de régime). Les enregistrements ont révélé une augmentation de la consommation d'oxygène (**Figure 49**, **H et I**) associée à une diminution du QR pendant la phase nocturne chez les animaux soumis au régime HFS (**Figure 49**, **L et M**). Ces résultats indiquent que le régime HFS prolongé était associé à une utilisation accrue des lipides comme source d'énergie. Cette baisse du QR, classiquement décrite dans la littérature chez les animaux rendus obèses par l'alimentation, est souvent associée à une résistance à l'insuline à l'origine d'une dépendance accrue aux lipides (A. A. Butler et al., 2000; Flatt, 1995; Menéndez & Atrens, 1989; Montgomery et al., 2013). La diminution du QR était cependant similaire entre les souris sous HFS ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble et celles ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43, suggérant que la réduction de l'expression de la Cx43 ne modifie pas la propension à développer des signes de syndrome métabolique.

De manière intéressante, dans ces expériences, nous n'avons pas retrouvé la diminution du QR chez les souris AAV-shARN-Cx43 par rapport à leurs congénères AAV-shARN-Scramble maintenus sous NC (voir **Figure 46**, T, en comparaison avec la **Figure 49**, **L**). Cette différence entre les deux cohortes pourrait s'expliquer par la taille réduite de l'échantillon, de 4 animaux dans le groupe AAV-shARN-Cx43_NC de la dernière cohorte, ainsi que par l'absence de vérification histologique de la région transduite par les AAV. Une tendance à la diminution du QR chez les souris AAV-shARN-Cx43_NC reste néanmoins envisageable, aucune différence statistique n'ayant été détectée entre les animaux nourris avec un régime HFS ou NC ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43 (p = 0,27).

Il convient de noter que les analyses de la microstructure des repas, réalisées précédemment pour les cohortes maintenues sous régime NC, n'ont pas pu être menées. Cela est dû à la taille des mangeoires utilisées dans les cages métaboliques, ainsi qu'à la nature friable de la nourriture HFS. Les souris pouvaient facilement emporter des quantités importantes de nourriture (toute la nourriture) dans leurs cages, compromettant ainsi les mesures.

Enfin, à la 7e semaine post-injection, des OGTT ont été réalisés pour évaluer si la réduction de l'expression de la Cx43 influençait la propension à développer un prédiabète, caractéristique des souris rendues obèses par l'alimentation. Une fois de plus, la nature de l'AAV injecté n'a pas eu d'impact significatif sur la tolérance au glucose. Pour les deux groupes nourris avec un régime standard (AAV-shARN-Scramble_NC et AAV-shARN-Cx43_NC), les résultats étaient équivalents à ceux observés dans le protocole précédent. Pour les deux groupes nourris avec un régime HFS, par rapport aux groupes maintenus sous NC, une augmentation plus marquée de la glycémie a été observée 20 minutes après l'administration *per os* de glucose, avec un retour plus lent à une normoglycémie (**Figure 50, B**). Ce profil glycémique est caractéristique d'une intolérance au glucose et, comme pour la diminution du QR, il pourrait refléter une baisse de sensibilité à l'insuline. De manière intrigante, l'intolérance au glucose semblait légèrement plus marquée chez les souris nourries avec un régime HFS ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43 par rapport à celles ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble, bien que cette différence ne soit pas statistiquement significative (**Figure 50, B** et **C**). En effet, la glycémie mesurée à 20 minutes post-gavage était légèrement supérieure chez les souris AAV-shARN-Cx43_HFS (371,5 mg/dL) par rapport aux souris AAV-shARN-Scramble_HFS (319,3 mg/dL). A 90 minutes post-gavage, la glycémie restait plus élevée chez les souris ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43_HFS (217,5 mg/dL) que chez celles ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble_HFS (175 mg/dL).

Ces observations suggèrent que la réduction de l'expression de la Cx43 pourrait légèrement potentialiser le développement d'une intolérance au glucose induite par un régime obésogène.

Pour approfondir l'exploration du métabolisme, nous avons mesuré les concentrations plasmatiques de leptine et d'insuline à partir de prélèvements sanguins effectués à la 9e semaine post-chirurgie (12 semaines de régime, **Figure 50**, **D** à **G**). Ces analyses ont confirmé des indices

de syndrome métabolique chez les souris soumises au régime HFS, témoignant d'une réponse adéquate au régime pour les deux groupes d'animaux concernés. En particulier, les niveaux de leptine étaient augmentés chez les souris AAV-shARN-Scramble et AAV-shARN-Cx43 par rapport à leurs congénères maintenues sous AO4 (**Figure 50**, **D** et **E**). Ces niveaux élevés de leptine sont associés à l'accumulation de masse grasse et peuvent indiquer l'installation d'une résistance à la leptine caractéristique de l'obésité. Nous n'avons pas observé d'effet de l'AAV sur les taux plasmatiques de leptine. Concernant les dosages plasmatiques d'insuline, les niveaux avaient tendance à augmenter chez les animaux ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43 par rapport à leurs congénères AAV-shARN-Scramble maintenus sous NC, bien que cette augmentation ne soit pas significative (**Figure 50**, **F** et **G**). En revanche, les niveaux plasmatiques d'insuline étaient très élevés chez les animaux exposés à 12 semaines de régime HFS et ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43 (**Figure 50**, **F** et **G, rouge**). Cette augmentation des taux d'insuline appuie que, dans un contexte de régime obésogène, la délétion de la Cx43 dans les astrocytes du CVD peut potentialiser l'apparition de symptômes du syndrome métabolique, tels que la résistance à l'insuline.

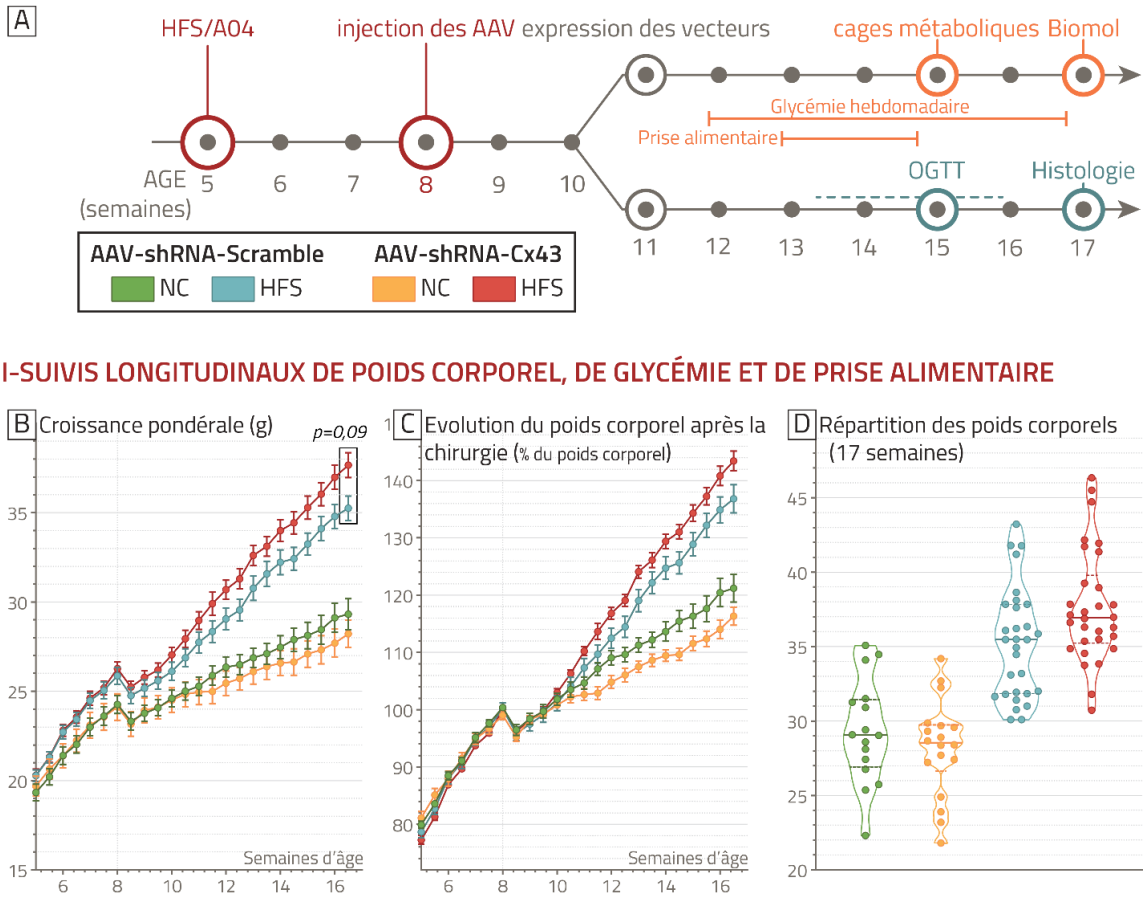


FIGURE 49 : CROISSANCE PONDÉRAL, CALORIMÉTRIE INDIRECTE ET OGTT CHEZ DES SOURIS NOURRIES AVEC UN RÉGIME HFS OU MAINTENUES SOUS RÉGIME STANDARD AO4.

FIGURE 49 : CROISSANCE PONDÉRAL, CALORIMÉTRIE INDIRECTE ET OGTT CHEZ DES SOURIS NOURRIES AVEC UN RÉGIME HFS OU MAINTENUES SOUS RÉGIME STANDARD AO4.

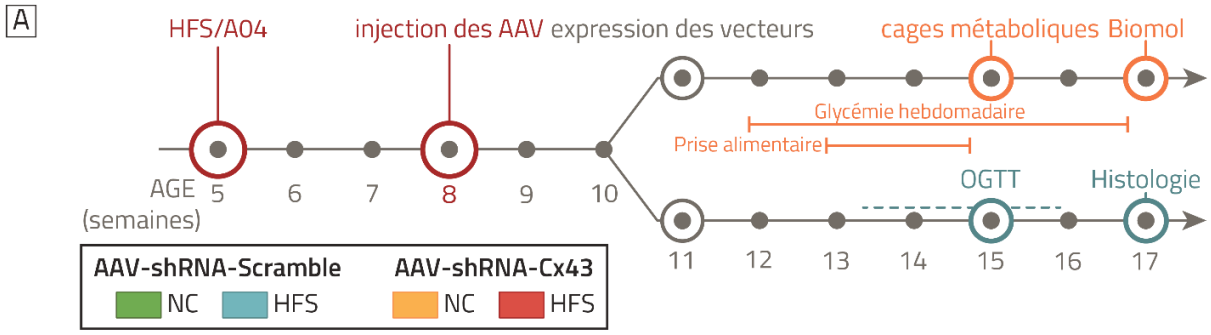
A. *Timeline* expérimentale. Deux cohortes indépendantes de souris ont été nourries avec un régime standard AO4 ou un régime enrichi en graisses et en sucres (HFS) à partir de 5 semaines d'âge (3 semaines avant la chirurgie). Toutes les souris ont reçu l'AAV-shARN-Scramble ou l'AAV-shARN-Cx43 dans le CVD (2×10^{11} GC/mL, 300 nL/site, 6×50 nL à 10 nL/s) à 8 semaines d'âge.

I- Suivis longitudinaux de poids corporel, de glycémie et de prise alimentaire (B-H).
Croissance pondérale et prise alimentaire après la chirurgie chez des souris maintenues sous régime standard AO4 ou nourries avec un régime HFS.
B-D. *Groupes* : Les animaux inclus sont issus des 2 cohortes schématisées en **A.** AAV-shARN-Scramble-NC (n = 16) ; AAV-shARN-Cx43-NC (n = 18) ; AAV-shARN-Scramble-HFS (n = 30) ; AAV-shARN-Cx43-HFS (n = 30). Les animaux exclus lors de l'analyse histologique post-mortem, visant à valider l'incorporation complète des AAV dans l'intégralité du CVD, ne sont pas pris en compte dans l'analyse.

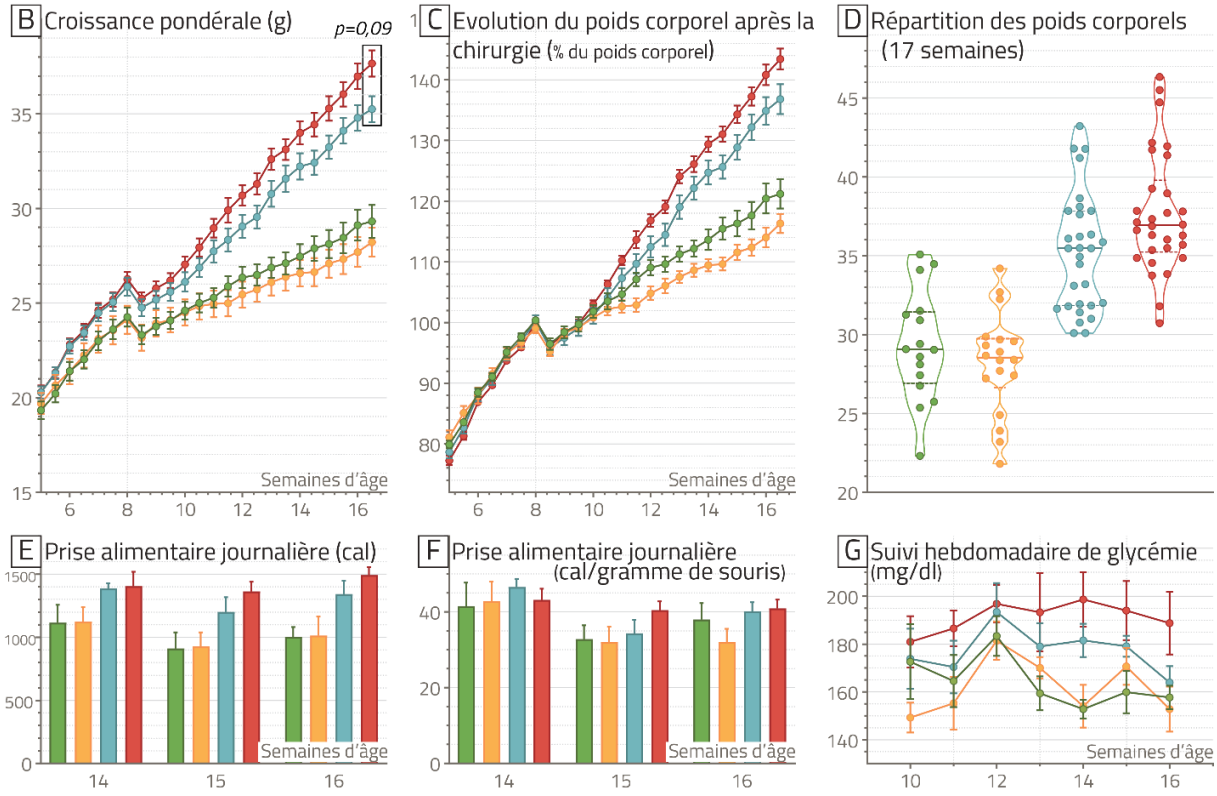
B. Croissance pondérale (g) de la 3e semaine avant la chirurgie et pendant 12 semaines. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM avec deux mesures par semaine.
Comparaisons : Analyse statistique effectuée avec une ANOVA à mesures répétées suivie d'un test post-hoc de Bonferroni. Aucune différence significative n'a été observée entre les groupes ShScramble_HFS et ShCx43-HFS [6 à 10,5 semaines d'âge : p > 0,99 ; 11 semaines : p = 0,71 ; 12 semaines : p= 0,30 ; 13 semaines : p = 0,27 ; 14 semaines : p = 0,17 ; 15 semaines : p = 0,16 ; 16 semaines : p = 0,15 ; 17 semaines : p = 0,09 ; ANOVA à deux facteurs à la 17e semaine : p = 0,0545]. De même, aucune différence significative n'a été observée entre les groupes ShScramble-NC et ShCx43-NC [p > 0,99 de 5 à 17 semaines d'âge] à chaque temps post-chirurgie. Effet du régime HFS sur la croissance pondérale. À partir de la 11e semaine, une différence significative a été observée entre les souris AAV-shARN-Scramble_HFS et AAV-shARN-Scramble_NC [6 semaines : p = 0,25 ; 7 semaines : p = 0,18 ; 8 semaines : p = 0,18 ; 9 semaines : p = 0,21 ; 10 semaines : p = 0,23 ; **11 semaines (*) : p = 0,0192 ; 12 semaines (*) : p = 0,0139 ; 13 semaines (***) : p = 0,0004 ; de 14 à 17 semaines d'âge (****) : p < 0,0001]**. Pour les souris AAV-shARN-Cx43_HFS et AAV-shARN-Cx43_NC, les différences apparaissent dès la 10e semaine d'âge [6 semaines : p = 0,45 ; 7 semaines : p = 0,47 ; 8 semaines : p = 0,10 ; 9 semaines : p = 0,0695 ; **10 semaines (*) : p = 0,0233 ; 11 semaines (***) : p = 0,0004 ; 12 à 17 semaines d'âge (****) : p < 0,0001**].

C. Évolution du poids corporel exprimée en pourcentage par rapport au poids initial le jour de la chirurgie. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM avec deux mesures par semaine.
Comparaisons : Analyse statistique effectuée avec une ANOVA à mesures répétées et un test post-hoc de Bonferroni. Aucune différence significative entre les groupes à chaque temps post-chirurgie.

D. Répartition des poids corporels au sein des groupes à la 9e semaine post-chirurgie. La ligne pleine représente la médiane, et les lignes pointillées indiquent l'intervalle interquartile.
Comparaisons : Analyse statistique effectuée avec une ANOVA à deux facteurs et un test post-hoc de Tukey. Aucune différence significative n'a été observée entre les groupes Scramble_HFS et ShCx43-HFS (p = 0,0545) ou ShScramble-NC et ShCx43-NC (p = 0,81). Un **effet significatif du régime (****)** a été détecté : p < 0,0001, indépendamment du type d'AAV administré.



I-SUIVIS LONGITUDINAUX DE POIDS CORPOREL, DE GLYCÉMIE ET DE PRISE ALIMENTAIRE



II-CAGES MÉTABOLIQUES - CALORIMÉTRIE INDIRECTE

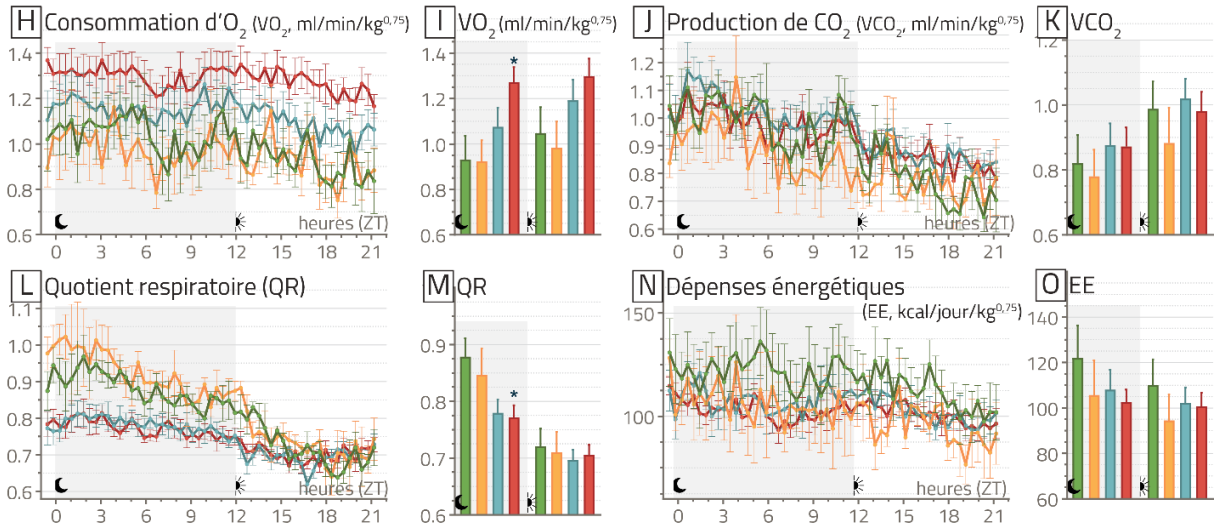


FIGURE 49 SUITE.

E. Estimation de la prise alimentaire quotidienne (en calories) par la méthode de pesée des restes alimentaires. La prise alimentaire n'a pas été mesurée chez les animaux participant à d'autres tests métaboliques.
Groupes: AAV-shARN-Scramble-NC (n = 5); AAV-shARN-Cx43-NC (n = 5); AAV-shARN-Scramble-HFS (n = 11); AAV-shARN-Cx43-HFS (n = 13).
Comparaisons : ANOVA à mesures répétées et test post-hoc de Sidak. Aucune différence significative n'a été observée à différents temps post-chirurgie. Aucune différence significative n'a été observée entre les groupes ShScramble_HFS et ShCx43-HFS [14 semaines d'âge : p = 0,99 ; 15 semaines d'âge : p = 0,59 ; 16 semaines d'âge : p = 0,65] ou ShScramble-NC et ShCx43-NC [14 semaines d'âge : p > 0,99 ; 15 semaines d'âge : p > 0,99 ; 16 semaines d'âge : p > 0,99]. Le régime HFS n'a pas significativement modifié l'apport calorique des souris ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble_NC par rapport à l'AAV-shARN-Scramble_HFS [14 semaines d'âge : p = 0,37 ; 15 semaines : p = 0,31 ; 16 semaines : p = 0,19] mais un effet du régime a été observé pour les l'AAV-shARN-Cx43_HFS par rapport à l'AAV-shARN-Cx43_NC [14 semaines d'âge : p = 0,27 ; **15 semaines (*): p = 0,0325 ; 16 semaines : p (*)= 0,0151**].

F. Apport calorique quotidien exprimé en calories par gramme de poids corporel.
Comparaisons : ANOVA à mesures répétées et test post-hoc de Sidak. Aucune différence significative n'a été observée à différents temps post-chirurgie. Aucune différence significative n'a été détectée entre les groupes ShScramble_HFS et ShCx43-HFS [14 semaines d'âge : p = 0,95 ; 15 semaines : p = 0,58 ; 16 semaines : p > 0,99] ou entre ShScramble-NC et ShCx43-NC [14 semaines d'âge : p > 0,99 ; 15 semaines : p > 0,99 ; 16 semaines : p = 0,90]. Le régime HFS n'a pas eu d'effet significatif sur la consommation calorique par gramme de poids corporel entre les animaux ShScramble-NC et ShScramble-HFS [14 semaines d'âge : p = 0,92 ; 15 semaines : p > 0,99 ; 16 semaines : p = 0,99], ni entre les animaux ShCx43-NC et ShCx43-HFS [14 semaines d'âge : p > 0,99 ; 15 semaines : p = 0,43 ; 16 semaines : p = 0,36].

G. Evolution de la glycémie (mg/dl) entre la 3e et la 9e semaine post-chirurgie. La prise alimentaire n'a pas été mesurée chez les animaux pendant l'hébergement en cages métaboliques. *Groupes*: AAV-shARN-Scramble-NC (n = 6); AAV-shARN-Cx43-NC (n = 5); AAV-shARN-Scramble-HFS (n = 12); AAV-shARN-Cx43-HFS (n = 13).

II- Mesures des échanges gazeux et estimation du quotient respiratoire et des dépenses énergétiques par calorimétrie indirecte (I-P) mesurées par calorimétrie indirecte dans des cages métaboliques.
Groupes: AAV-shARN-Scramble-NC (n = 6); AAV-shARN-Cx43-NC (n = 4); AAV-shARN-Scramble-HFS (n = 10); AAV-shARN-Cx43-HFS (n = 12).

H. Consommation d'oxygène ($\dot{V}O_2$, ml/min/kg^{75}) au cours du temps d'enregistrement. *Comparaisons* : ANOVA à mesures répétées [Effet du temps (***) : p<0,0001 ; Effet du groupe (ns) : p=0,5156 ; Interaction (ns) : p= 0,0740]

I. Consommation d'oxygène ($\dot{V}O_2$, ml/min/kg) moyennée sur les périodes nocturne et diurne. *Comparaisons* : ANOVA à deux facteurs avec un test post-hoc de Tukey. Effet AAV (ns) : p = 0,3877 [Nuit_NC (ns) : p = 0,7420 ; Jour_NC (ns) : p= 0,7732 ; Nuit_HFS : p= 0,9548 ; Jour_HFS : p= 0,9990] ; Effet Nuit/jour (ns) : p = 0,2644 ; Interaction (ns) : p = 0,3877].

J. Production de dioxyde de carbone ($\dot{V}CO_2$, ml/min/kg^{75}) au cours du temps d'enregistrement. *Comparaisons* : ANOVA à mesures répétées. Aucune différence significative entre les groupes (p = 0,4555). *Effet du temps (***) : p < 0,0001*.

K. Production de dioxyde de carbone ($\dot{V}CO_2$, ml/min/kg^{75}) moyennée sur les périodes nocturne et diurne.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs avec un tests post-hoc de Tukey. Effet AAV (ns) : p = 0,5812 ; *Effet Nuit/jour (*) : p < 0,0228* ; Interaction (ns) : p = 0,9729].

II-CAGES MÉTABOLIQUES - CALORIMÉTRIE INDIRECTE

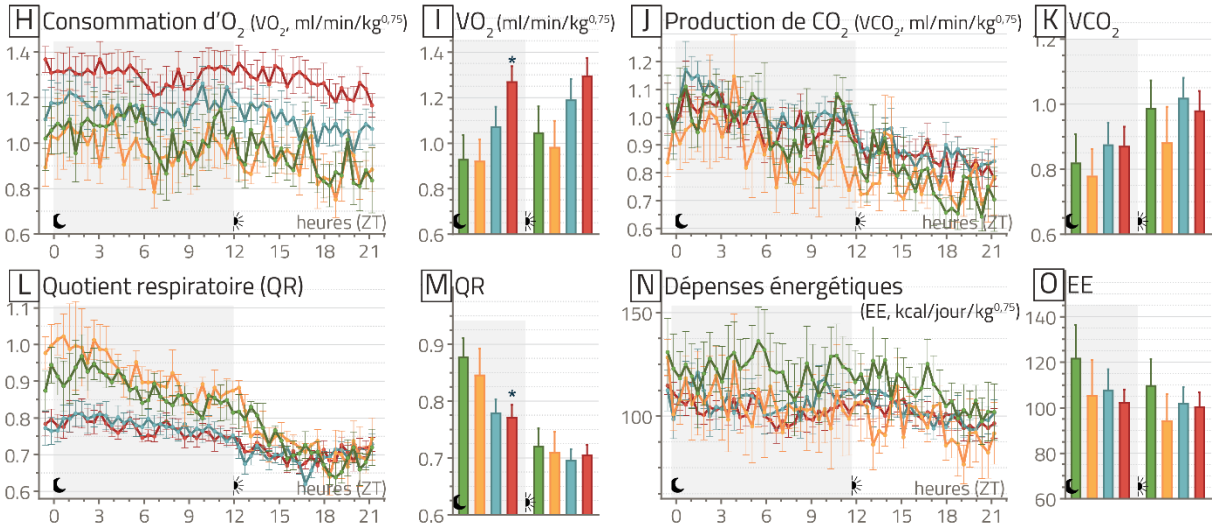
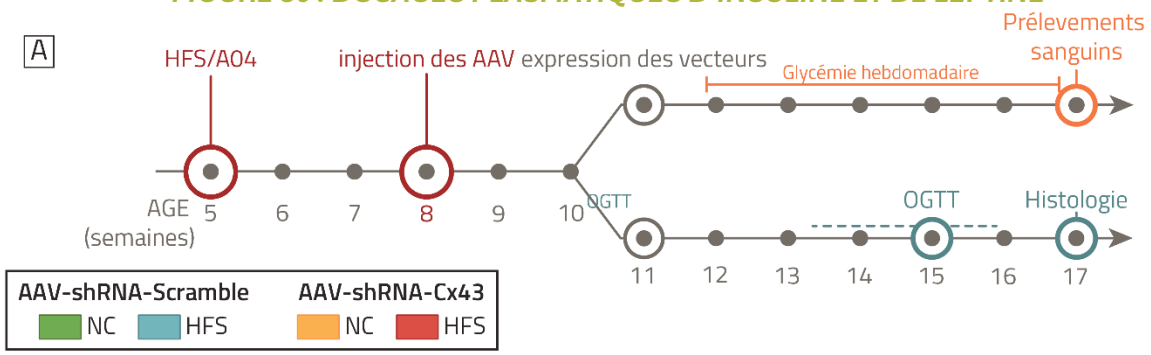


FIGURE 50 : DOSAGES PLASMATIQUES D'INSULINE ET DE LEPTINE



III-TEST DE TOLÉRANCE ORALE AU GLUCOSE (OGTT)

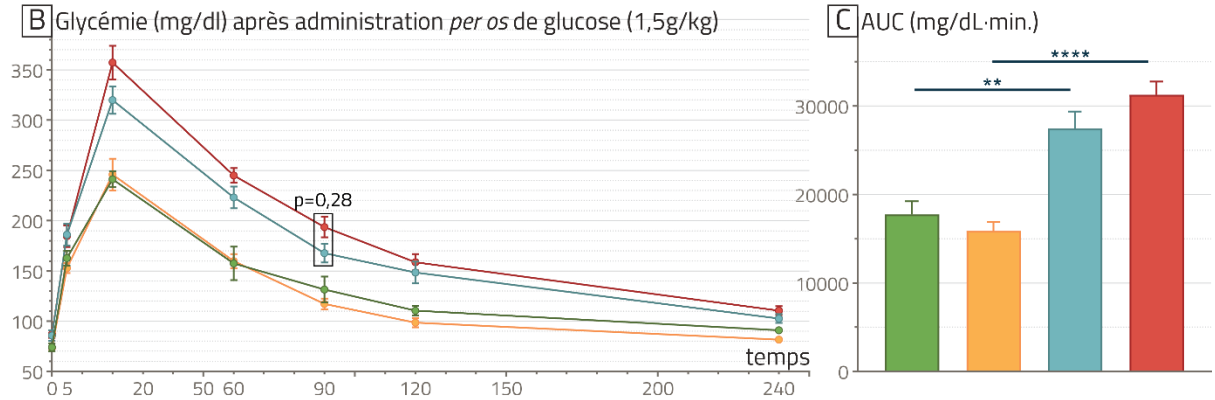


FIGURE 49 SUITE.

L. Quotient respiratoire ($\dot{V}CO_2$ / $\dot{V}O_2$) au cours du temps d'enregistrement.
Comparisons : ANOVA à mesures répétées [Effet du régime/de l'AAV (**) : p 0,0077 ; Effet Nuit/jour (****) : p < 0,0001 ; interaction (****) : p < 0,0001. Test post-hoc de Tukey, pas de différence significative à aucun temps d'enregistrement entre les groupes AAV-shARN-Scramble_HFS et AAV-shARN_Cx43_HFS [0,18 (ZT 16) > p > 0,99].

M. Quotient respiratoire ($\dot{V}CO_2$ / $\dot{V}O_2$) moyenné sur les périodes nocturne et diurne. *Comparaisons* : ANOVA à deux facteurs [Effet du régime/de l'AAV (ns) : p= 0,0520 ; Effet Nuit/jour (****) : p < 0,0001, F = 232,5 ; Interaction (ns) : p = 0,2537]. Test post-hoc de Tukey pour la comparaison AAV-shARN-Scramble_HFS vs. AAV-shARN-Cx43_NC [Nuit : p=0,99 ; Jour: p= 0,98]. Effet du régime sur le QR pendant la période nocturne [**AAV-shARN-Scramble_HFS vs. AAV-shARN- Scramble_NC (*): p= 0,0410** ; AAV-shARN-Cx43_HFS vs. AAV-shARN- Cx43_NC (ns) : p= 0,27]. Effet du régime sur le QR pendant la période diurne [AAV-shARN-Scramble_HFS vs. AAV-shARN- Scramble_NC (ns): p= 0,90 ; AAV-shARN-Cx43_HFS vs. AAV-shARN- Cx43_NC (ns) : p= 0,99].

N. Dépenses énergétiques totales (kcal/jour/$kg^{0,75}$) au cours du temps d'enregistrement. *Comparaisons* : ANOVA à mesures répétées [Effet AAV (ns) : p = 0,5156 ; Effet Nuit/jour (****) : p <0,0001 ; Interaction (ns) : p = 0,0740].

O. Dépenses énergétiques totales (kcal/jour/kg0,75) moyennées sur les périodes nocturne et diurne.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs [Effet du groupe (ns) : p = 0,39 ; Effet Nuit/jour (ns) : p = 0,26 Interaction (ns) : p = 0,93]. Test post-hoc de Tukey pour la comparaison AAV-shARN-Scramble-HFS vs. AAV-shARN-Cx43-NC [Nuit : p= 0,95 ; Jour : p= 0,99].

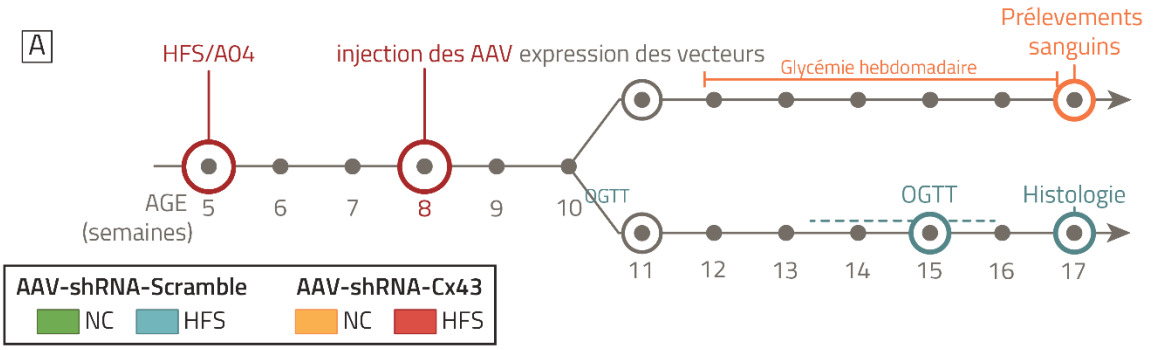
Abréviations : **AAV** : virus adéno-associé ;AAV : Adeno-Associated Virus (virus adéno-associé) ; AP : Area Postrema (aire postréma) ; c-Fos : Protéine c-Fos (marqueur d'activation neuronale) ; VCO_2 : Mesure de la production de CO_2 ; Cx43 : Connexine 43 ; DMNX : Dorsal Motor Nucleus of the Vagus (noyau moteur dorsal du nerf vague) ; HFS : High Fat and Sugar (régime riche en graisses et en sucres) ; J : Jour ; N : Nuit ; NC : régime standard pour souris (*Normal Chow) ;* NTS : Noyau du tractus solitaire ; OGTT : Test de tolérance au glucose par voie orale (*Oral Glucose Tolerance Test*) ; VO_2 : Mesure de la consommation d'oxygène ; QR : Quotient Respiratoire ; shRNA : *Short Hairpin RNA* ; ZT : Zeitgeber Time

FIGURE 50 : OGTT ET DOSAGES PLASMATIQUES D'INSULINE ET DE LEPTINE

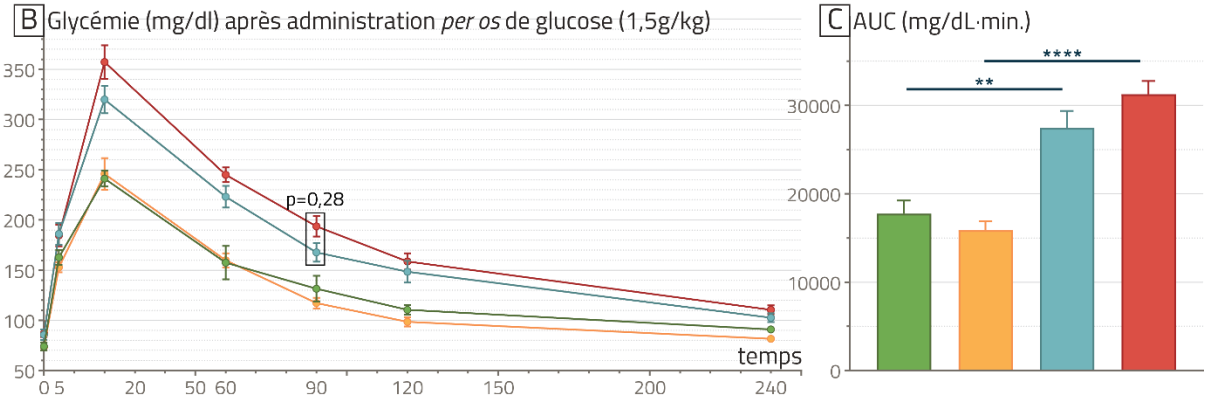
A. *Timeline* expérimentale

III- Tests de tolérance au glucose par voie orale (OGTT, Q-T).
Groupes : AAV-shARN-Scramble-NC (n = 5); AAV-shARN-Cx43-NC (n = 7); AAV-shARN-Scramble-HFS (n = 11); AAV-shARN-Cx43-HFS (n = 11).

B. Évolution de la glycémie (mg/dL) au cours du test de tolérance au glucose réalisé à la 7e semaine post-chirurgie. Les mesures de glycémie sont représentées en fonction du temps après l'administration *per os* de glucose (1,5 g/kg).
Comparaisons : ANOVA à mesures répétées et test post-hoc de Tukey. Aucune différence significative n'a été observée aux différents temps de mesure suivant le bolus de glucose entre les groupes ShScramble_HFS et ShCx43-HFS [20 minutes : p = 0,35 ; 90 minutes : p = 0,28 ; 240 minutes : p = 0,60]. Un effet significatif du régime a été observé à partir de 20 minutes post-administration [**AAV-shARN-Scramble_NC et AAV-shARN-Scramble_HFS (**) : p = 0,0012** et **AAV-shARN-Cx43_NC et AAV-shARN-Cx43_HFS (**) : p = 0,0010**].



III-TEST DE TOLÉRANCE ORALE AU GLUCOSE (OGTT)



IV-Dosages plasmatiques de leptine et d'insuline

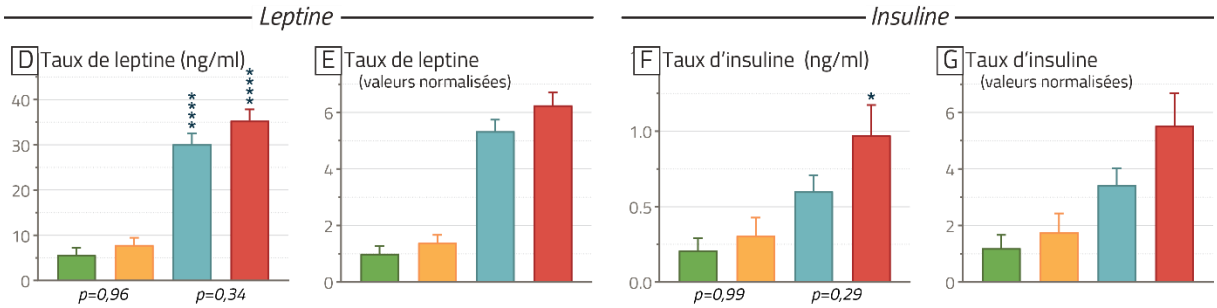


FIGURE 50 SUITE.

Cet effet persiste à 60 minutes [**AAV-shARN-Scramble_NC vs. AAV-shARN-Scramble_HFS (*) : p = 0,0456** ; **AAV-shARN-Cx43_NC vs. AAV-shARN-Cx43_HFS (***) : p < 0,0001**], 90 minutes [AAV-shARN-Scramble_NC vs. AAV-shARN-Scramble_HFS (ns) : p = 0,18 ; **AAV-shARN-Cx43_NC vs. AAV-shARN-Cx43_HFS (****) : p < 0,0001**], 120 minutes [**AAV-shARN-Scramble_NC vs. AAV-shARN-Scramble_HFS (*) : p = 0,0298 ; AAV-shARN-Cx43_NC vs. AAV-shARN-Cx43_HFS (****) : p < 0,0001**] et 240 minutes [AAV-shARN-Scramble_NC vs. AAV-shARN-Scramble_HFS (ns) : p = 0,1530 ; AAV-shARN-Cx43_NC vs. AAV-shARN-Cx43_HFS (***) : p = 0,0003].

C. Aire sous la courbe (AUC) des niveaux de glucose mesurés pendant les tests de tolérance au glucose par voie orale.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs et un test post-hoc de Tukey. Aucune différence significative n'a été observée entre les groupes ShScramble_HFS et ShCx43-HFS (p = 0,40) ou entre ShScramble-NC et ShCx43-NC (p = 0,99). Un effet significatif du régime HFS a été détecté entre les groupes **AAV-shARN-Scramble_NC et AAV-shARN-Scramble_HFS (**) : p = 0,0067**, ainsi qu'entre **AAV-shARN-Cx43_NC et AAV-shARN-Cx43_HFS (****) : p < 0,0001**.

IV- Dosages plasmatiques de leptine et d'insuline (B-E).
Groupes : AAV-shARN-Scramble-NC (n = 6); AAV-shARN-Cx43-NC (n = 5); AAV-shARN-Scramble-HFS (n = 12); AAV-shARN-Cx43-HFS (n = 13).

D. Niveaux de leptine plasmatique (en ng/ml).
Comparaisons : Analyse statistique effectuée avec une ANOVA one way et un test post-hoc de Tukey. Aucun effet de l'AAV [AAV-shARN-Scramble-NC vs AAV-shARN-Cx43-NC : p= 0,9598 ; AAV-shARN-Scramble-HFS vs AAV-shARN-Cx43-HFS : p= 0,3353]. Effet important du régime HFS [AAV-shARN-Scramble-NC vs. AAV-shARN-Scramble-HFS (****) : p <0,0001 ; AAV-shARN-Cx43-NC vs. AAV-shARN-Cx43-HFS (****) : p <0,0001].

E. Niveaux de leptine plasmatique normalisés par rapport à la condition AAV-shARN-Scramble-NC.

F. Niveaux d'insuline plasmatique (en ng/ml).
Comparaisons : Analyse statistique effectuée avec une ANOVA one way et un test post-hoc de Tukey. Aucun effet significatif de l'AAV [AAV-shARN-Scramble-NC vs AAV-shARN-Cx43-NC : p= 0,9902 ; AAV-shARN-Scramble-HFS vs AAV-shARN-Cx43-HFS : p= 0,2923]. Aucun effet significatif du régime HFS [AAV-shARN-Scramble-NC vs. AAV-shARN-Scramble-HFS : p = 0,4898; AAV-shARN-Cx43-NC vs. AAV-shARN-Cx43-HFS : p = 0,0877. Différence significative entre les groupes AAV-shARN-Scramble-NC vs. AAV-shARN-Cx43-HFS (*) : p= 0,0395].

G. Niveaux d'insuline plasmatique normalisés par rapport à la condition AAV-shARN-Scramble-NC.

II.3.2.3.2 - Morphologie du compartiment glial

Nous avons cherché à déterminer comment le compartiment glial était affecté par la réduction de l'expression de la Cx43 et par un contexte d'alimentation standard ou obésogène. Pour cela, nous avons réalisé des analyses de la morphologie des astrocytes GFAP⁺ et des cellules microgliales Iba1⁺.

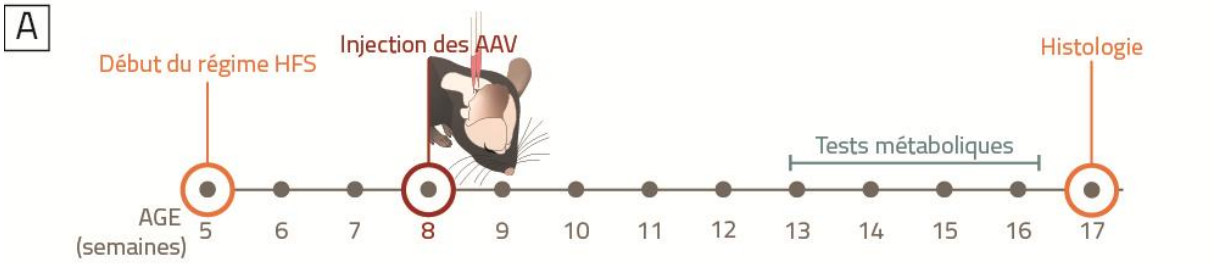
❒ **Astrocytes GFAP⁺**

Dès les premières étapes de caractérisation du modèle, nous avons observé que la réduction de l'intensité de fluorescence pour la Cx43 (**Figure 45, I**), induite par nos AAV-shARN-Cx43, était associée à une intensité accrue de la fluorescence pour la GFAP. Cette augmentation était visible sur toute la région transduite par les AAV, avec une expression importante de la GFAP dans des zones qui l'expriment habituellement peu, en particulier le noyau hypoglosse (XII) (**Figure 51**, **C, F**). Ces modifications morphologiques étaient absentes lors de l'administration d'AAV exprimant des shARN inactifs (**Figure 51, B, D**) et étaient restreintes à la région couverte par l'expression des AAV (**Figure 51**, **C, F**). L'analyse morphologique **dans** la région du NTS/DMNX (**Figure 43**) nous a permis de mieux caractériser comment cette modification de l'expression de la GFAP induite par les AAV-shARN-Cx43 est associée à un remodelage des astrocytes GFAP⁺. Nous avons mesuré trois paramètres morphologiques chez les astrocytes : le nombre de cellules par hémisection dans le NTS/DMNX (**Figure 51, L**), la taille moyenne des cellules GFAP⁺ (**Figure 51**, **M**) et la surface du NTS/DMNX occupée par les cellules GFAP⁺ (**Figure 51, N**). Cette analyse a révélé à la fois une augmentation de la surface couverte par les astrocytes (** ; p = 0,0061) et une augmentation de la taille des prolongements épais astrocytaires (* p = 0,0776) chez les animaux maintenus sous régime standard ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43, par rapport à leurs congénères ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble. Comme le nombre de cellules GFAP⁺ n'augmentait pas chez les souris AAV-shARN-Cx43, il est probable que les astrocytes aient étendu individuellement leurs prolongements intermédiaires. Ces observations suggèrent une réaction morphologique adaptative des astrocytes à la réduction d'expression de la Cx43. Cette réponse pourrait refléter une adaptation des astrocytes à la réduction de la communication par JC, visant à maintenir l'homéostasie ou les fonctions de ces cellules. Il est à noter que la GFAP ne révèle pas la morphologie complète des astrocytes, et nos analyses ne nous permettent pas de déterminer si ce remodelage était associé à une hypertrophie des cellules ou à une modification de la proximité aux neurones. De manière intéressante, dans la région du NTS/DMNX, cette réactivité gliale n'était pas homogène (**Figure 51**, **F et G**). En effet, les régions du NTS situées autour de l'AP ne présentaient pas une augmentation importante de la surface couverte par les cellules GFAP⁺ chez les animaux AAV-shARN-Cx43, par rapport aux souris AAV-shARN-Scramble, alors que cette réorganisation gliale était massive dans les portions postrémales ventrales du NTS et du DMNX (voir **III.2.1**, p250).

Dans un deuxième temps, nous avons souhaité déterminer si un régime HFS de 12 semaines pouvait modifier la morphologie des astrocytes. Certaines études récentes ont rapporté que les astrocytes GFAP⁺ du NTS des rongeurs pouvaient subir des modifications morphologiques et voir leur expression de la GFAP modifiée lors de l'exposition aiguë (Clyburn et al., 2023; MacDonald et al., 2020) ou prolongée (L. M. Stein et al., 2020) à un régime enrichi en graisses (voir la **section I.3.2.4.3**, p 128). Cependant, aucune étude n'a examiné les effets à long terme d'un régime enrichi en graisses et en sucres sur la morphologie des cellules gliales. Les mêmes paramètres morphologiques chez les astrocytes GFAP⁺ du NTS/DMNX ont été évalués chez les souris ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble_HFS (**Figure 51**, **L** à **N**). Chez ces animaux, par rapport aux animaux AAV-shARN-Scramble_NC, ni le nombre de cellules (p= 0,9524), ni la taille des cellules (p= 0,9997), ni la surface du NTS/DMNX recouverte par les cellules (p=0,9479) n'étaient modifiés dans le NTS/DMNX. Ainsi, dans nos conditions expérimentales, les cellules GFAP⁺ ne montrent pas de réactivité morphologique en réponse au régime HFS. Bien que la GFAP ne détecte pas toutes les dynamiques astrocytaires, ces résultats suggèrent que les astrocytes pourraient être capables de maintenir leur morphologie et leur densité malgré le stress métabolique associé au régime HFS.

Enfin, étant donné le remodelage astrocytaire observé chez les animaux AAV-shARN-Cx43_NC par rapport aux animaux AAV-shARN-Scramble_NC, nous avons évalué si la réduction de l'expression de la Cx43 modifiait la morphologie des astrocytes en réponse à un régime HFS. Chez les animaux AAV-shARN-Cx43_HFS, le nombre de cellules GFAP$^+$ était significativement augmenté dans le NTS et le DMNX, par rapport aux souris AAV-shARN-Scramble_NC (*p= 0,0188) et aux souris AAV-shARN-Scramble_HFS (***p= 0,0008), mais sans modification de la taille des cellules (p= 0,9997 et p= 0,9930). La surface du NTS/DMNX recouverte par ces cellules était aussi augmentée. Ainsi, alors que le régime HFS ne modifie pas la morphologie astrocytaire chez les souris AAV-shARN-Scramble_HFS, il a un impact sur le nombre d'astrocytes GFAP$^+$ présentes dans le CVD des souris AAV-shARN-Cx43_HFS. On peut penser qu'une prolifération astrocytaire ou une migration astrocytaire vers la région transduite par l'AAV se produit dans un contexte d'obésité mêlant une altération des communications astrocytaires par la Cx43.

Par ailleurs lors d'une réduction de l'expression de la Cx43, le remodelage du compartiment astrocytaire était fortement dépendant du régime alimentaire. Par rapport aux souris AAV-shARN-Cx43_NC, les souris AAV-shARN-Cx43_HFS avaient une taille moyenne plus petite (*p= 0,0411). Ainsi, chez les animaux dont la communication par JC et l'activité HC est altérée, le remodelage des astrocytes est différent selon le contexte métabolique. Les conséquences de ce remodelage différentiel entre les souris ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43 maintenues sous régime standard ou obésogène sont difficiles à établir. Néanmoins, ces résultats suggèrent que dans un contexte alimentaire standard, les modifications morphologiques des astrocytes compensent la perte du couplage par jonctions communicantes par une expansion de leurs prolongements, permettant de maintenir leurs fonctions et de conserver l'équilibre énergétique. Dans un contexte alimentaire hypercalorique, les astrocytes pourraient ne plus avoir cette capacité, ce qui pourrait expliquer la tendance à l'augmentation de la propension à développer une obésité lors de l'exposition au régime HFS que nous avons observée chez les souris AAV-shARN-Cx43_HFS par rapport aux souris AAV-shARN-Scramble_HFS.


A
Début du régime HFS
Injection des AAV
Histologie
Tests métaboliques
AGE (semaines)
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17

I-GFAP

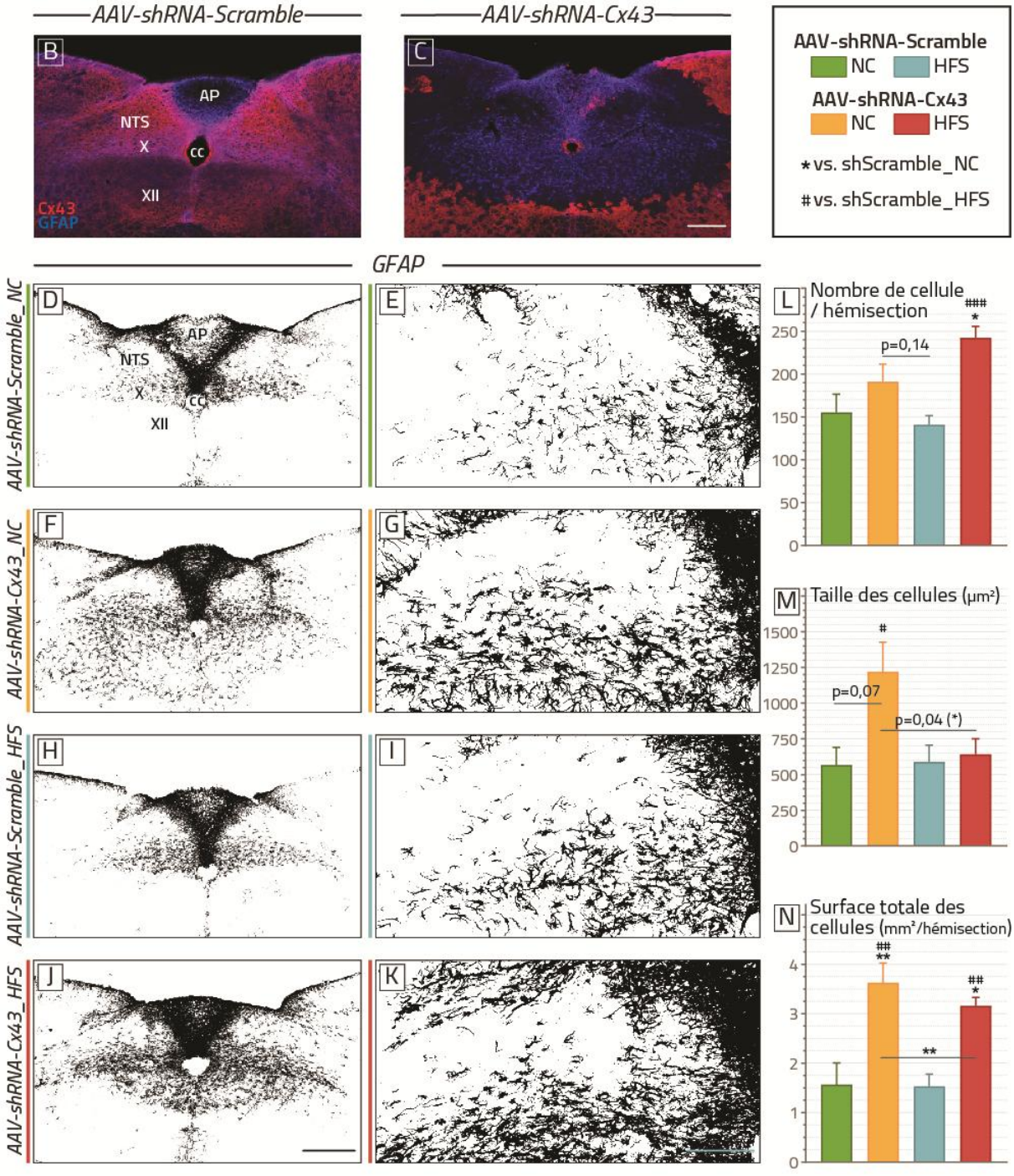

AAV-shRNA-Scramble
AAV-shRNA-Cx43
B
C
AP
NTS
X
cc
XII
Cx43
GFAP
AAV-shRNA-Scramble
NC
HFS
AAV-shRNA-Cx43
NC
HFS
*vs. shScramble_NC
#vs. shScramble_HFS
GFAP
AAV-shRNA-Scramble_NC
AAV-shRNA-Cx43_NC
AAV-shRNA-Scramble_HFS
AAV-shRNA-Cx43_HFS
D
E
F
G
H
I
J
K
L
Nombre de cellule / hémisection
p=0,14
M
Taille des cellules (µm²)
p=0,07
p=0,04 (*)
N
Surface totale des cellules (mm²/hémisection)

FIGURE 51 : IMPACT DE LA RÉDUCTION DE L'EXPRESSION DE LA CX43 SUR LES ASTROCYTES GFAP⁺ DU NTS/DMNX DANS UN CONTEXTE D'ALIMENTATION STANDARD OU OBESOGENE

A. *Timeline* expérimentale. Les souris ont été nourries avec un régime standard AO4 ou un régime HFS à partir de l'âge de 5 semaines (soit 3 semaines avant la chirurgie). À 8 semaines d'âge, toutes les souris ont reçu une injection bilatérale d'AAV-shARN-Scramble ou d'AAV-shARN-Cx43 dans le CVD (2×10^{11} GC/mL, 300 nL/site, 6×50 nL à 10 nL/s). Les souris ont ensuite été soumises à des tests de tolérance orale au glucose. Les analyses histologiques ont été effectuées sur des animaux âgés de 17 semaines (soit 9 semaines post-chirurgie et 12 semaines de régime).

B-C. Images représentatives de l'immunomarquage de la GFAP et de la Cx43 dans le CVD. Chez les souris ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble (**B**), l'intensité de fluorescence de la Cx43 est uniforme. Chez les souris ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43 (**C**), la zone transduite par les AAV est clairement délimitée par une réduction de l'intensité de fluorescence de la Cx43. Cette région laisse apparaître une intensité de fluorescence élevée de la GFAP.

D-J. Images représentatives de l'immunomarquage GFAP après traitement des images pour analyses Les images illustrent les groupes : AAV-shARN-Scramble_NC (**D** et **E**), AAV-shARN-Cx43_NC (**F** et **G**), AAV-shARN-Scramble_HFS (**H** et **I**) et AAV-shARN-Cx43_HFS (**J** et **K**). En F, la forte intensité de la GFAP met en évidence la région transduite par les AAV.

L-N. Analyse morphologique des cellules GFAP⁺ dans la région du NTS/DMNX.
Groupes : AAV-shARN-Scramble_NC (n = 3, 6 hémisections) ; AAV-shARN-Cx43_NC (n = 6, 12 hémisections) ; AAV-shARN-Scramble_HFS (n = 6, 12 hémisections) et AAV-shARN-Cx43_HFS (n = 7, 14 hémisections). Les animaux exclus de l'analyse post-mortem, en raison de l'absence d'intégration complète des AAV dans le CVD, n'ont pas été pris en compte dans les résultats. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM.

L. Nombre moyen de cellules GFAP⁺ dans les régions incluant le NTS et le DMNX.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs avec n représentant le nombre d'animaux et un test post-hoc de Tukey. Effet de l'AAV (***) : **p = 0,0009** [HFS (***) : **p = 0,0008** ; NC (ns) : p = 0,5548] ; Effet du régime (ns) : p = 0,2968 [Scramble (ns): p = 0,9524 ; Cx43 : **p = 0,1124**] ; Interaction (ns) : **p=0,0740** [Cx43_NC vs Cx43_HFS (ns) : p = 0,1416].

M. Taille moyenne des prolongements astrocytaires GFAP⁺ dans les régions incluant le NTS et le DMNX. *Comparaisons :* ANOVA à deux facteurs avec n représentant le nombre d'animaux et un test post-hoc de Tukey. Effet de l'AAV (*) : **p = 0,0403** [HFS (ns): p = 0,9930; NC (ns): **p = 0,0776**] ; Effet du régime (ns) : p = 0,099 [Scramble (ns): p = 0,9997 ; Cx43 (*) **: p** = **0,0411**] ; Interaction (*) : **p=0,0301** [Cx43_NC vs Cx43_HFS (ns) : p = 0,1416].

N. Surface du parenchyme cérébral (en mm^2) recouverte par des cellules GFAP⁺ dans les régions du NTS/DMNX. *Comparaisons :* ANOVA à deux facteurs avec n représentant le nombre d'animaux et un test post-hoc de Tukey. Effet de l'AAV (***) : **p = 0,0004** [HFS (ns): p = 0,1594 ; NC (**): **p = 0,0061**] ; Effet du régime (ns) : p = 0,4361 [Scramble (ns): p = 0,9479 ; Cx43 (**) **: p = 0,0040**] ; Interaction (ns) : **p=0,1171** [Cx43_NC vs Cx43_HFS (ns) : p = 0,2336].
Barres d'échelle : 300 µm (**D, F, H, J**) et 150 µm (**E, G, I, K**)

❒ Microglies

Au vu des modifications morphologiques astrocytaires observées chez les souris traitées avec AAV-shARN-Cx43, nous avons émis l'hypothèse que l'ensemble du réseau glial pourrait être remodelé. Les astrocytes et les cellules microgliales entretiennent une communication étroite, notamment par des interactions paracrines impliquant la libération de messagers chimiques *via* les hémicanaux (Jha et al., 2019; Retamal et al., 2007). Dans des contextes pathologiques, la réactivité microgliale et astrocytaire vont souvent de pair (Escartin et al., 2021; Pekny & Pekna, 2014). Par ailleurs, comme détaillé dans la **section I.3.2.2.2**, p 119, l'étude de Vaughn et al. (2017) a montré que les cellules microgliales du CVD sont sensibles à un régime riche en graisses. Le régime enrichi semble affecter leur morphologie et leur fonction. Sur cette base, nous avons cherché à déterminer si, dans notre modèle de KD de la Cx43, les cellules microgliales du CVD subissaient des remodelages morphologiques, et si ces effets variaient en fonction d'un régime alimentaire standard ou obésogène.

Pour cela, nous avons réalisé un immunomarquage de l'Iba1 sur des tranches de tronc cérébral caudal (TCc, **Figure 52**, **A** à **D**). À faible grossissement, l'intensité de la fluorescence Iba1 apparaissait plus élevée dans le parenchyme du CVD chez les animaux traités avec les AAV-shARN-Cx43, par rapport à ceux ayant reçu les AAV-shARN-Scramble (**Figure 52**, **A** et **B**). Ces observations préliminaires suggéraient une réactivité accrue du compartiment microglial en réponse à la réduction de l'expression de la Cx43 et/ou aux altérations de la morphologie astrocytaire. À des grossissements plus élevés (**Figure 52**, **C** et **D**), nous avons identifié des modifications morphologiques des cellules microgliales, qui présentaient des corps cellulaires plus allongés et une arborisation plus complexe.

Pour confirmer ces observations, nous avons traité et binarisé les images Iba1 afin d'isoler les cellules microgliales et d'obtenir une représentation simplifiée de leurs prolongements, appelée « squelette », permettant une analyse morphométrique précise (**Figure 52**, **E à H**). Ces analyses ont révélé que, chez les souris ayant reçu les AAV-shARN-Cx43 par rapport à celles ayant reçu les AAV-shARN-Scramble, le nombre de ramifications des prolongements cellulaires (les branches) était augmenté de 50 % (**Figure 52**, **I**), associé à une augmentation de 67 % de la longueur totale des branches (**Figure 52**, **J**). La surface recouverte par les cellules individuelles était également augmentée de 63 % (**Figure 52**, **K**). La longueur moyenne des branches individuelles n'était néanmoins pas modifiée, ce qui suggère que cette modification morphologique n'était pas associée à un remodelage des branches existantes (**Figure 52**, **L**). Ces résultats indiquent qu'en réponse à la diminution de l'expression de la Cx43 astrocytaire et/ou aux modifications morphologiques des astrocytes, les cellules microgliales subissent un remodelage morphologique important, adoptant une arborisation plus complexe et ramifiée.

Afin de compléter l'étude de l'arborisation, nous avons réalisé une analyse de Sholl, qui permet d'explorer en détail la complexité de l'arborisation des cellules microgliales et l'organisation spatiale de leurs prolongements. Cette méthode quantifie la distribution des branches à différentes distances du soma (**Figure 52**, **M à I** et **Figure 44**). Chez les souris ayant reçu les AAV-shARN-Cx43, par rapport à celles traitées avec les AAV-shARN-Scramble, nous avons observé une augmentation du nombre d'intersections tout au long de l'arborisation, depuis 15 µm jusqu'aux distances les plus éloignées du soma. Cela indique une ramification accrue des prolongements cellulaires sur l'ensemble de la structure, aussi bien dans les régions proximales que distales de l'arborisation. Les prolongements s'étendaient également sur de plus longues distances à partir du soma. En effet, chez les souris ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble, des intersections étaient présentes jusqu'à 45 µm du soma, alors que chez les souris AAV-shARN-Cx43, elles s'étendaient jusqu'à 80 µm (**Figure 52**, **N**). La quantification du nombre de jonctions—le nombre de fois où les branches croisent les cercles concentriques tracés autour du soma—a confirmé cette complexification de l'arborisation. Ainsi, l'analyse de Sholl nous a permis de caractériser que l'arborisation locale des cellules microgliales (branches près du soma) et leur arborisation distale (branches éloignées du soma) étaient toutes deux plus ramifiées chez les souris AAV-shARN-Cx43. Ainsi, dans notre modèle de réduction de l'expression de la Cx43 dans les astrocytes, les cellules microgliales répondent donc par une prolifération des branches et une extension globale de leur arborisation. Une telle arborisation étendue pourrait potentiellement

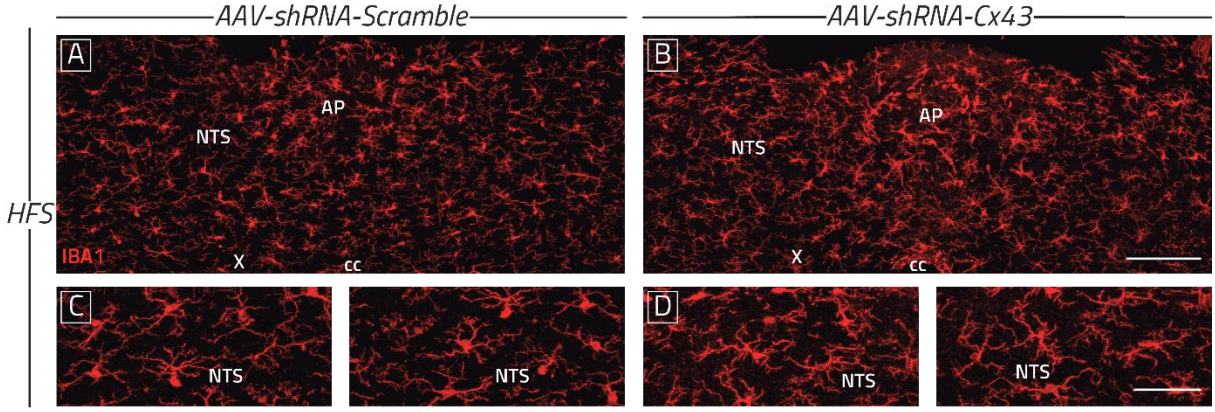
être impliquée dans la communication à longue distance de la cellule, améliorant ainsi la capacité des microglies à interagir avec leur microenvironnement.

Il est important de souligner que notre étude a mis en évidence l'absence d'effet du régime HFS sur la morphologie des cellules microgliales. En effet, le squelette et la complexité de l'arborisation étaient identiques chez les souris ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble, qu'elles soient alimentées avec un régime standard ou obésogène. L'absence de réactivité microgliale à un régime obésogène a également été rapportée par Stein et al. (2020), chez des rats soumis à un régime enrichi en graisses.

Chez les souris ayant une expression réduite de la Cx43, le régime n'a pas modifié la complexité du cytosquelette ni la capacité des cellules microgliales à répondre à l'altération du compartiment astrocytaire. Néanmoins, l'analyse de Sholl a révélé une diminution du nombre d'intersections dans les portions les plus distantes du soma (**Figure 52**, **O**). Ces observations suggèrent que la complexité de l'arborisation microgliale induite par la réduction de l'expression de la Cx43 dans les astrocytes pourrait être légèrement atténuée aux niveaux les plus distaux dans un environnement HFS. Cela pourrait indiquer que le régime obésogène modère subtilement la réponse adaptative des microglies dans un contexte de communication astrocytaire altérée.

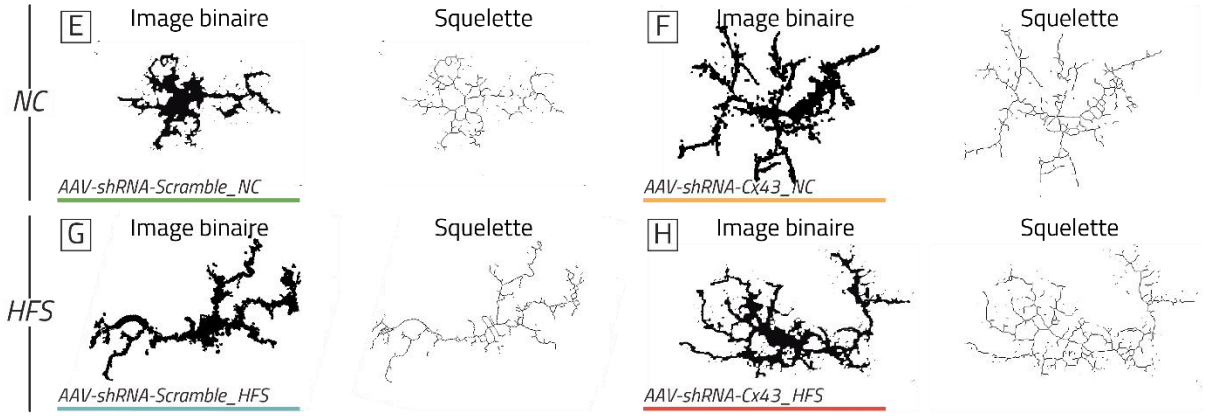
Ensemble, ces analyses morphologiques révèlent un remodelage significatif des cellules microgliales induit par nos AAV-shARN-Cx43. Le KD de la Cx43 dans les astrocytes affecte donc une autre population du compartiment glial de manière notable. Les cellules microgliales ne présentaient cependant pas un phénotype classique de microglies réactives, qui adoptent généralement une forme amiboïde caractérisée par une diminution de la complexité de l'arborisation et une rétraction des prolongements (Kettenmann et al., 2011). Au contraire, dans notre modèle, les microglies étendaient leurs prolongements et complexifiaient leur arborisation. Cette ramification accrue des cellules microgliales pourrait leur permettre d'explorer ou interagir plus largement avec leur microenvironnement. Plusieurs études récentes suggèrent qu'une morphologie hyper-ramifiée des microglies pourrait refléter une adaptation visant à maintenir l'homéostasie neuronale et à moduler les réponses inflammatoires de manière protectrice (Augusto-Oliveira et al., 2022; Green & Rowe, 2024; Vinet et al., 2012). Cette augmentation de la complexité des prolongements microgliaux a aussi été décrite pour avoir des répercussions comportementales. Par exemple, dans l'hippocampe, une hyper-ramification des microglies était plus fréquente chez des souris présentant une résilience au stress induit par défaite sociale (Fujikawa & Jinno, 2022). Ainsi, nous pouvons faire l'hypothèse que cette réorganisation des cellules microgliales pourrait participer à compenser la perte de communication des astrocytes par les complexes formés de Cx43.

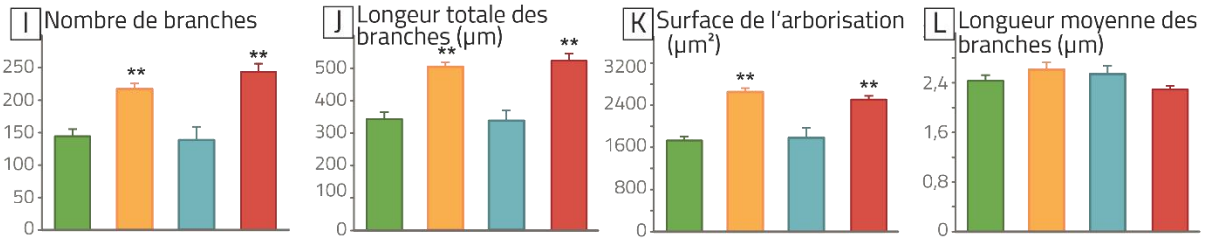
I-IMMUNOFLUORESCENCE IBA1



II-ANALYSE DU SQUELETTE

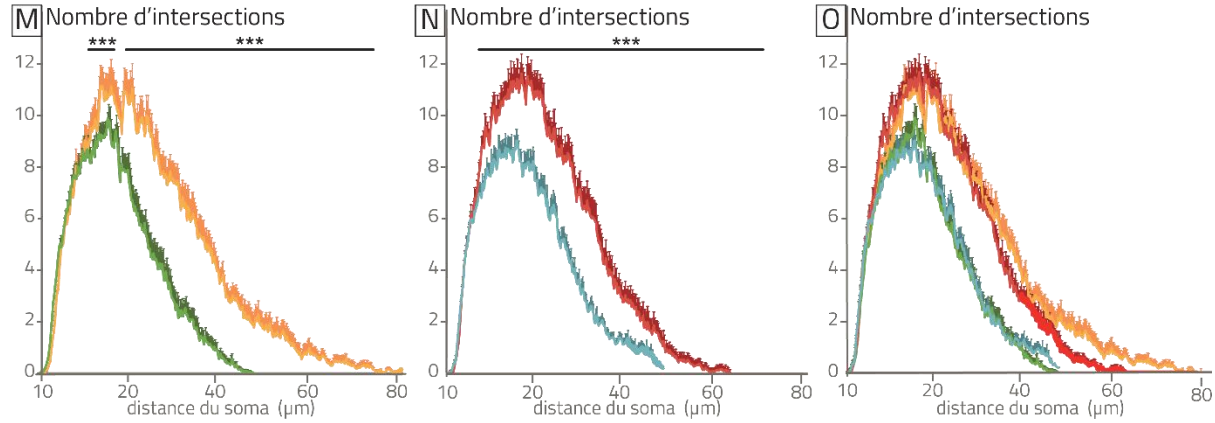
AAV-shRNA-Scramble NC HFS AAV-shRNA-Cx43 NC HFS





III-ANALYSE SHOLL

AAV-shRNA-Scramble NC HFS AAV-shRNA-Cx43 NC HFS



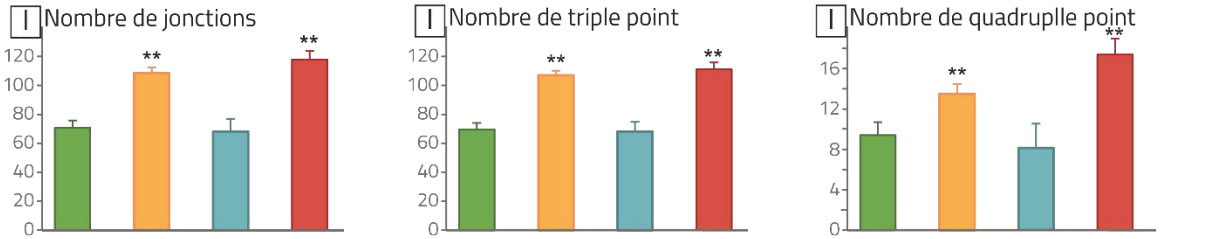


FIGURE 52 : IMPACT DE LA RÉDUCTION DE L'EXPRESSION DE LA CX43 SUR LES MICROGLIES IBA1⁺ DU NTS/DMNX.

A-D. Visualisation de l'immunoréactivité de l'Iba1 dans le CVD de souris traitées avec AAV-shARN-Scramble (A et C) ou AAV-shARN-Cx43 (B et D).
Notez l'intensité globale de la fluorescence, qui apparaît plus élevée dans le groupe AAV-shARN-Cx43 (B.). C et D sont des agrandissements des images montrées en A. et B., respectivement, permettant d'observer la densité des prolongements des cellules microgliales. Barre d'échelles : 100 µm (A et B) et 50 µm (C et D)

II- Analyse du squelette (E-L)

E-H. Images binaires obtenues à partir des immunomarquages Iba1 et leurs représentations sous forme de squelette des microglies dans le CVD. Les images montrent des cellules microgliales individualisées chez les souris traitées avec l'AAV-shARN-Scramble (**E** et **G**) ou l'AAV-shARN-Cx43 (**F** et **H**) sous régime NC (**E**, **F**) ou HFS (**G**, **H**).

I-L. Quantification de l'arborisation des cellules microgliales du CVD. Le nombre total de branches par cellule microgliale (**I**), la longueur totale des branches (**J**), la surface totale de l'arborisation (**K**) et la longueur moyenne des branches (**L**) ont été quantifié pour les quatre groupes expérimentaux à partir du squelette de l'arborisation.
Groupes : AAV-shARN-Scramble_NC (n = 2, 35 cellules) ; AAV-shARN-Cx43_NC (n = 3, 55 cellules) ; AAV-shARN-Scramble_HFS (n = 2, 40 cellules) et AAV-shARN-Cx43_HFS (n = 3, 57 cellules). Les données sont exprimées en moyenne ± SEM.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs avec n représentant le nombre d'animaux et un test post-hoc de Tukey. ** $p < 0.01$ indique une différence significative induite par l'AAV. Aucune différence significative n'est induite par le régime.

III- Analyse Sholl : (M-I)

M-N. Courbes Sholl représentant le nombre d'intersections en fonction de la distance au soma (en µm) chez les souris traitées avec l'AAV-shARN-Scramble ou l'AAV-shARN-Cx43, sous régime NC (**M**) ou HFS (**N**). La courbe en **O** compile les quatre groupes. Les courbes montrent une augmentation du nombre d'intersections chez les souris ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43, par rapport aux souris ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43.

P-R. Analyse quantitative de la densité de l'arborisation permettant de déterminer le nombre total de jonctions (**P**, points où deux branches se rejoignent), le nombre total de triple points (**Q**, points où trois branches se rejoignent) et le nombre total de quadruples points (**R**, points où quatre branches se rejoignent).
Groupes : AAV-shARN-Scramble_NC (n = 2, 35 cellules) ; AAV-shARN-Cx43_NC (n = 3, 55 cellules) ; AAV-shARN-Scramble_HFS (n = 2, 40 cellules) et AAV-shARN-Cx43_HFS (n = 3, 57 cellules). Les données sont exprimées en moyenne ± SEM.
Comparaisons : ANOVA à deux facteurs avec n représentant le nombre de cellules et un test post-hoc de Tukey. ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$, indiquent une différence significative induite par l'AAV. Aucune différence significative n'est induite par le régime.

II.3.2.3.3 - RT-qPCR

Dans la dernière partie de cette étude, nous avons entrepris d'explorer l'expression de certains acteurs clés de la communication intergliale. Notre objectif était de déterminer si la délétion de Cx43 dans les astrocytes du CVD pouvait être compensée par d'autres protéines connexines ou par des mécanismes alternatifs de communication cellulaire. Par ailleurs, nous voulions savoir si cette diminution de la communication par les JC et les HC astrocytaires perturbait l'expression de molécules impliquées dans les interactions entre les neurones et la glie. Pour ce faire, nous avons analysé l'expression des transcrits codant pour les protéines impliquées dans la signalisation gliale (**Figure 53**). Les expériences de RT-qPCR sont encore en cours et n'ont malheureusement pas pu être ajoutées à ce manuscrit. Néanmoins, nous avons quantifié l'expression des ARNm de la Cx43 ainsi que d'autres connexines gliales et de la pannexine 1 à la 9e semaine post-chirurgie. Nos expériences de RT-qPCR n'ont pas mis en évidence de compensation dans l'expression des principales connexines astrocytaires, dont la Cx30, la Cx26 et la Cx45. Au contraire, l'expression de la Cx30, la connexine la plus exprimée après la Cx43 avait également tendance à être réduite chez les souris ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43. Cette tendance à la baisse d'expression a aussi été retrouvée pour la Cx45 et la pannexine 1, sans modification notable des niveaux de Cx26.

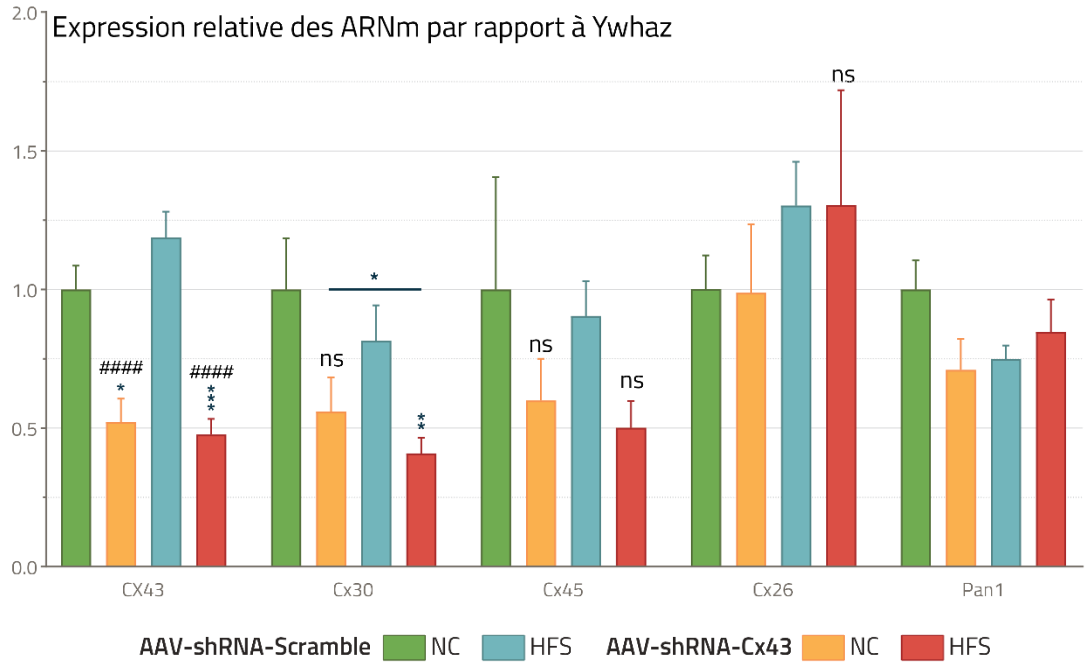


FIGURE 53 : ABSENCE DE COMPENSATION D'AUTRES CONNEXINES ASTROCYTAIRES

Quantification par RT-qPCR des niveaux d'expression des connexines (Cx43, Cx26, Cx30, Cx45) et de la pannexine 1 dans le CVD, normalisée par YwHAz, à 9 semaines post-chirurgie. Les données sont présentées sous forme de moyenne ± SEM.

Groupes : AAV-shARN-Scramble-NC (n = 6) ; AAV-shARN-Cx43-NC (n = 5) ; AAV-shARN-Scramble-HFS (n = 12) ; AAV-shARN-Cx43-HFS (n = 13).

Comparaisons : Analyse statistique effectuée avec une ANOVA à deux facteurs et un test post-hoc de Tukey. Pour chaque gène.
Cx43 : Effet du régime HFS (ns) p= 0,4308 [AAV-shARN-Scramble (ns) : 0,4361 ; AAV-shARN-Cx43 (ns) : 0,9855] ; Effet de l'AAV (****) p <0,0001 [NC (*) : p= 0,0159 ; HFS (****) : p <0,0001 Interaction (ns) p= 0,2029].
Cx30 : Effet du régime HFS (ns) p= 0,1993 [AAV-shARN-Scramble (ns) : 0,7238 ; AAV-shARN-Cx43 (ns) : 0,8474] ; Effet de l'AAV (**) p= 0,0023 [NC (ns) : p= 0,1866 ; HFS (*) : p = 0,0334 ; Interaction (ns) p= 0,8968].

FIGURE 53 SUITE.

Cx45 : Effet du régime HFS (ns) p= 0,5972 [AAV-shARN-Scramble (ns) : p= 0,9826 ; AAV-shARN-Cx43 (ns) : p= 0,9800] ; Effet de l'AAV (*) p= 0,0341 [NC (ns) : p= 0,5659 ; HFS (ns) : p = 0,1814 ; Interaction (ns) p= 0,9924].
Cx26 : Effet du régime HFS (ns) p= 0,3771 [AAV-shARN-Scramble (ns) : p= 0,9191 ; AAV-shARN-Cx43 (ns) : p= 0,9213] ; Effet de l'AAV (ns) p= 0,9872 [NC (ns) : p >0,9999 ; HFS (ns) : p >0,9999 ; Interaction (ns) p= 0,9814]
Panx1 : Effet du régime HFS (ns) p= 0,6147 [AAV-shARN-Scramble (ns) : p= 0,3735 ; AAV-shARN-Cx43 (ns) : 0,8285] ; Effet de l'AAV (ns) p= 0,3961 [NC (ns) : p= 0,4141 ; HFS (ns) : p=0,8285 ; Interaction (ns) p= 0,0905].

Abréviations : **Cx26** : Connexine 26 ; **Cx30** : Connexine 30 ; **Cx43** : Connexine 43 ; **Cx45** : Connexine 45 ; **Panx1** : Pannexine 1

III DISCUSSION

III.1 Etude 1 - Caractérisation de l'expression des connexines dans les centres de la balance énergétique et étude de l'inhibition pharmacologique des hémicanaux dans le contrôle de la balance énergétique.

III.1.1 - Expression de la Cx43 dans les astrocytes de l'hypothalamus et du CVD et modulation par l'état nutritionnel

III.1.2 - Hémicanaux de l'hypothalamus et du CVD

III.1.3 - Mécanismes possibles sous-jacents à la réduction de l'apport alimentaire induite par l'inhibition des Cx43HC

III.1.4 - Limites du modèle TAT-GAP19

III.2 Etude 3 - Effets de la réduction d'expression de la Cx43 dans les astrocytes du CVD, chez des souris nourries avec un régime standard ou obésogène.

III.2.1 - Réduction de l'expression de la Cx43 spécifiquement dans les astrocytes du CVD par interférence ARN

III.2.2 - La réduction de l'expression de la Cx43 dans les astrocytes du CVD ne modifie pas l'équilibre énergétique chez les animaux nourris avec un régime standard.

III.2.3 - La réduction de l'expression de la Cx43 dans un contexte d'obésité induite par l'alimentation ne déstabilise pas l'équilibre énergétique

III.2.4 - Compensations possibles

III.3 Discussion générale

III.3.1 - Comparaison entre les études

III.3.2 - Hétérogénéité du compartiment glial

III.3.3 - Nécessité d'une meilleure caractérisation des réseaux astrocytaires du CVD

III.4 Conclusion

III.1 - Étude 1 : Caractérisation de l'expression des connexines dans les centres de la balance énergétique et Étude de l'inhibition pharmacologique des hémicanaux dans le contrôle de la balance énergétique

Dans cette première étude de thèse, j'ai observé que les deux structures principales impliquées dans le contrôle homéostatique de l'équilibre énergétique, l'hypothalamus médiobasal (HYPmb) et le complexe vagal dorsal (CVD), se distinguent par une expression marquée de la connexine 43 (Cx43), en lien avec une forte densité gliale. Cette protéine semble former des hémicanaux (HC) fonctionnels à la surface des astrocytes. En effet, nos essais d'absorption d'EtBr ont révélé une activité basale élevée de ces HC dans le noyau du tractus solitaire (NTS) et le noyau arqué de l'hypothalamus (ARC), activité dépendant au moins en partie des hémicanaux de Cx43 (Cx43HC). L'administration centrale de TAT-Gap19, un peptide mimétique inhibant spécifiquement l'ouverture des Cx43HC, a entraîné une diminution de la prise alimentaire sans altérer l'activité locomotrice. Cette réduction de l'alimentation s'est accompagnée d'une activation cellulaire, marquée par l'expression de c-Fos dans l'HYP et le CVD. Ensemble, ces résultats constituent les premières preuves de l'implication des hémicanaux de Cx43 dans le contrôle de la prise alimentaire.

III.1.1 - Expression de la Cx43 dans les astrocytes de l'HYP et du CVD et modulation par l'état nutritionnel

Les connexines (Cx) sont des protéines présentes dans la plupart des tissus, sauf dans ceux qui ne nécessitent pas de communication intercellulaire de type jonctionnelle, tels que les globules rouges, les spermatozoïdes et les cellules musculaires squelettiques (Oyamada et al., 2005). Dans le SNC, l'expression des Cx est très hétérogène, variant selon la région et le stade de développement (Condorelli et al., 2003; Nadarajah et al., 1996; Naus et al., 1990). Chaque membre de la famille des Cx présente une spécificité d'expression : certaines sont propres aux neurones, d'autres aux cellules gliales, et certaines encore à des sous-types gliaux particuliers (**Tableau 6**). Parmi elles, la Cx43 est la plus abondante dans le SNC. Principalement exprimée par les astrocytes, elle l'est aussi — de manière plus limitée — par les cellules endothéliales, les cellules souches neurales, ainsi que par les neurones en développement (Cheng et al., 2004 ; Eugenin et al., 2012). La Cx43 n'est pas exprimée par les neurones matures (Rouach et al., 2000; Theis et al., 2003; Yamamoto et al., 1990b, 1990a), sauf dans certains cas comme par des neurones sensoriels du bulbe olfactif (Zhang, 2010) et des motoneurones de la moelle épinière (Hormuzdi et al., 2004), où elle contribue à la formation de synapses électriques.

La majorité des études sur la distribution des connexines dans le SNC se sont concentrées sur l'hippocampe et le cortex, tandis que d'autres régions, comme l'HYPmb et le TCc, ont été moins

explorées. De plus, les mesures d'expression dans ces régions reposent souvent sur des échantillons larges, sans distinction précise des structures anatomiques. Concernant les deux centres clés du contrôle de l'équilibre énergétique, l'HYP et le CVD, quelques travaux ont décrit l'expression de la Cx43 dans l'HYP et sa localisation cellulaire (Allard et al., 2014; Lhomme et al., 2021; Recabal et al., 2018; Szilvásy-Szabó et al., 2017), mais aucune étude n'avait jusqu'à présent documenté cette répartition dans le CVD. En 2014, Allard et ses collègues ont montré par western blot des niveaux élevés de Cx43 dans l'HYPmb et le tronc cérébral, tandis que la Cx30, une autre connexine astrocytaire, affichait une distribution homogène dans le SNC, mais une expression plus marquée dans le tronc cérébral.

Afin de préciser cette expression, nous avons réalisé une analyse quantitative par RT-qPCR des transcrits codant pour les principales Cx astrocytaires (Cx43, Cx30, Cx26, Cx45), ainsi que pour la pannexine 1, dans des échantillons d'HYPmb, de CVD et de cortex de souris adultes. Le cortex a été choisi comme référence en raison de ses niveaux élevés de Cx43 à l'âge adulte (Nadarajah et al., 1996). Nos résultats confirment un enrichissement en connexines astrocytaires dans l'HYP et révèlent, pour la première fois, des niveaux d'expression comparables dans le CVD. En particulier, les Cx43 et Cx30 sont exprimées de manière plus abondante dans l'HYP et le CVD, avec des niveaux environ 30 % plus élevés que dans le cortex. Parmi les gènes analysés, la Cx43 présentait les niveaux d'ARN messager les plus élevés dans ces deux structures, avec une expression 5 à 10 fois supérieure à celle des autres connexines et de la pannexine 1. Ces données transcriptomiques ont été corroborées par des analyses immunohistochimiques, qui ont mis en évidence une forte expression protéique de la Cx43 dans le HYP et le CVD, comparativement aux structures adjacentes. Dans le CVD, l'immunoréactivité de la Cx43 délimitait clairement les contours du NTS. Dans l'HYP, la distribution était légèrement plus diffuse, bien que des zones de forte concentration soient observées à proximité du troisième ventricule (3V). À plus fort grossissement, nous avons confirmé que la Cx43 se localisait spécifiquement dans les membranes des astrocytes exprimant la GFAP, ainsi que dans les tanycytes, en particulier à l'interface entre l'ARC et l'éminence médiane (EM ; Allard et al., 2014; Lhomme et al., 2021; Recabal et al., 2018; Szilvásy-Szabó et al., 2017). Dans le CVD, la Cx43 était également présente dans les astrocytes $GFAP^+$, mais aussi dans une population cellulaire spécialisée — les vagliocytes — décrite pour la première fois par notre équipe (Pecchi et al., 2007, **Figure 27**).

L'enrichissement en Cx43 dans l'HYP et le CVD, tant au niveau transcriptionnel que protéique, ainsi que sa localisation gliale, suggère que cette protéine pourrait être importante pour la fonction des astrocytes dans ces structures. Cela ouvre des perspectives prometteuses pour la compréhension des interactions gliales dans ces régions et leur influence potentielle sur le contrôle de l'équilibre énergétique.

Dans cette optique, nous avons souhaité déterminer si l'expression de la Cx43 (ARNm et protéine) pouvait être modifiée par des changements drastiques de l'équilibre énergétique.

Il est bien établi que l'expression des connexines est principalement régulée aux niveaux transcriptionnel et post-transcriptionnel (Oyamada et al., 2013). La Cx43, en particulier, présente une demi-vie courte, nécessitant une synthèse continue pour maintenir son expression (voir **section I.3.3.1.3**, p 138). Sa stabilité et sa localisation membranaire sont fortement influencées par des événements de phosphorylation et de déphosphorylation, eux-mêmes déclenchés par divers stimuli, tels que les facteurs de croissance, les interactions avec la matrice extracellulaire, l'ischémie ou l'inflammation (Pogoda et al., 2016). La phosphorylation de la Cx43 par des kinases, en particulier sur la sérine 368, est associée à l'internalisation des plaques de jonction, à des modifications de la communication intercellulaire *via* les jonctions communicantes (JC) et à une réduction de la demi-vie de la Cx43 (Pogoda et al., 2016).

Dans un premier temps, nous avons examiné l'effet d'un jeûne de 24 heures, connu pour induire des changements dans les substrats énergétiques utilisés. Ce jeûne s'accompagne d'une diminution des concentrations plasmatiques d'insuline et de leptine, ainsi que d'une augmentation de la sécrétion de ghréline (Ahima et al., 1996). Dans ces conditions, nous avons observé une diminution de l'expression de la Cx43 dans l'HYP, ainsi qu'une réduction marquée

des niveaux de Cx43 phosphorylée dans cette région. La réalimentation (après 2 et 4 heures) n'a pas restauré les niveaux initiaux de Cx43. Des observations similaires ont été rapportées par Allard et al. (2014) sur des extraits hypothalamiques de rat. Le rôle crucial de l'HYP dans les mécanismes contre-régulateurs pendant le jeûne pourrait expliquer ces résultats (Lam et al., 2005; Poplawski et al., 2010). Une réduction de l'expression de la Cx43 pendant le jeûne pourrait indiquer une diminution du nombre de connexons à la membrane, limitant ainsi la transmission des signaux de satiété ou la diffusion des signaux orexigènes, ce qui contribuerait à promouvoir l'activité des réseaux orexigènes. Toutefois, la baisse des niveaux de Cx43 phosphorylée sur la sérine 368 pourrait indiquer une plus grande stabilité des complexes de Cx43 à la membrane, rendant l'interprétation des variations d'expression plus complexe.

Nous avons ensuite étudié les variations de l'expression de la Cx43 chez des animaux rendus obèses par un régime riche en graisses. Nous avons constaté une augmentation de l'expression de la Cx43, accompagnée d'une élévation des niveaux de Cx43 phosphorylée dans l'HYP, tandis qu'aucune modification n'a été observée dans le CVD des animaux obèses. L'augmentation du niveau de transcrits pourrait refléter une intensification de la traduction, entraînant un plus grand nombre de connexons à la membrane. En revanche, l'augmentation du degré de phosphorylation pourrait suggérer que ces connexons sont moins stables à la membrane. La comparaison entre ces deux conditions est particulièrement intéressante, car, dans des états nutritionnels opposés, le niveau d'expression et le degré de phosphorylation de la Cx43 varient de manière inverse dans l'HYP. Cela pourrait indiquer que l'activité des hémicanaux et/ou le couplage *via* les jonctions communicantes est ajusté en fonction de la disponibilité énergétique.

Il est à noter que dans le CVD, ni le jeûne ni l'obésité n'ont été associés à une modification de l'expression de la Cx43. Cette absence d'effet du statut nutritionnel pourrait indiquer que ces connexines ne jouent pas un rôle central dans les adaptations homéostatiques liées aux variations du statut métabolique. Cependant, elle pourrait également suggérer une expression de la Cx43 particulièrement stable face aux changements nutritionnels.

III.1.2 - Hémicanaux de l'hypothalamus et du CVD

Dans le HYP et le CVD, la forte expression de la Cx43 suggère qu'elle pourrait jouer un rôle dans la communication gliale et les interactions neurogliales propres à ces régions. En effet, la Cx43 forme des HC permettant le passage bidirectionnel de petites molécules, incluant des métabolites, des messagers chimiques et des nutriments. Elle constitue également des canaux intercellulaires organisés en JC, essentielles à la formation des syncytia d'astrocytes et des réseaux pangliaux, facilitant les échanges directs entre cellules adjacentes (Lucaciu et al., 2023 et **section I.3.3.2.2**, p 140).

Afin de mieux comprendre la relation spatiale entre la Cx43 gliale et les neurones du CVD et de l'HYP, nous avons réalisé une étude stéréologique en collaboration avec le Dr Jean-Michel Brézun (IMS, Marseille). Cette analyse visait à évaluer la proximité entre le marquage ponctiforme de la Cx43 (associé aux JC et aux HC) et les synapses excitatrices marquées par la protéine bassoon. Bassoon est une composante essentielle de la zone active des synapses chimiques, où sont libérés les neurotransmetteurs (Gundelfinger et al., 2015). Nous avons observé qu'une grande proportion du signal de la Cx43, estimée entre 80 et 85 %, se situait à proximité immédiate des éléments synaptiques (<1 µm). Ce résultat contraste fortement avec les travaux pionniers de Sipe & Moore (1976), qui avaient observé qu'environ 90 % des JC astrocytaires étaient éloignées des terminaisons synaptiques de 15 à 20 µm dans la région latérale de l'hypothalamus, en se basant sur des critères morphologiques. En revanche, nos observations sont cohérentes avec celles obtenues dans le cortex à barils (cortex somatosensoriel primaire), où la distance moyenne entre une synapse excitatrice et une jonction communicante astrogliale de Cx43 observée en microscopie électronique était d'environ 0,7 µm (Genoud et al., 2015). Contrairement aux études

précédentes, notre analyse stéréologique repose sur le marquage immunofluorescent de la Cx43, permettant de détecter à la fois les connexons dans les jonctions communicantes et les hémicanaux. Il est ainsi probable qu'une partie de la Cx43 détectée à proximité des synapses soit présente sous forme d'hémicanaux (Cx43HC), plutôt que dans des canaux formant des jonctions communicantes (Cx43CJC).

Nous avons alors souhaité évaluer la fonctionnalité des hémicanaux dans l'HYP et le CVD. Pour ce faire, nous avons utilisé la capture d'EtBr comme indicateur de l'activité des HC, en combinaison avec des agents pharmacologiques spécifiques ou non des Cx43HC. Parmi ces agents, le TAT-Gap19 est un peptide mimétique qui empêche l'interaction entre la partie C-terminale de la Cx43 et la boucle intracellulaire, entraînant ainsi la fermeture spécifique des Cx43HC (Abudara et al., 2014). Dans des conditions basales, nous avons observé une forte perméabilité des HC dans les cellules GFAP⁺ de l'ARC et du NTS chez des souris nourries *ad libitum*. La capture d'EtBr était présente dans les cellules GFAP⁺, mais également dans des cellules négatives pour la GFAP, qui pourraient correspondre à des neurones, des astrocytes GFAP- (Houades et al., 2006) ou des cellules microgliales, comme rapporté par d'autres (Abudara et al., 2014). Compte tenu de la taille des noyaux concernés et du fait que l'intensité de fluorescence dans ces noyaux ne diminuait pas avec le traitement au TAT-Gap19, nous suggérons que la majorité de ces cellules sont des neurones n'exprimant pas la Cx43 (Theis et al., 2003). Nous avons quantifié la capture d'EtBr dans les noyaux des cellules GFAP⁺, et celle-ci était inhibée par le TAT-Gap19, ce qui indique que l'activité hémicanal dépend en partie des Cx43HC astrocytaires. L'activité basale des hémicanaux dans les cellules GFAP⁺ ne semblait pas différer entre l'ARC et le CVD. Cependant, la comparaison statistique entre les deux régions a été rendue difficile en raison des variations d'intensité de fluorescence en dehors des noyaux cellulaires. Cette variation du bruit de fond est difficile à expliquer, mais pourrait être liée à une fuite d'EtBr avant la fixation complète des tranches.

III.1.3 - L'inhibition des Cx43HC diminue la prise alimentaire

La forte expression de la Cx43 près des synapses et l'activité élevée des HC dans les régions du SNC contrôlant l'équilibre énergétique nous ont incités à explorer si la communication *via* les Cx43HC pouvait moduler la prise alimentaire. Nous avons postulé que l'activité des Cx43HC pourrait permettre la libération de composés neuroactifs et ainsi moduler les réseaux neuronaux dédiés au contrôle de la prise alimentaire.

Pour cibler spécifiquement les Cx43HC, nous avons utilisé le peptide TAT-Gap19, comme précédemment employé dans les essais de capture d'EtBr. Le Gap19 doit pénétrer dans la cellule pour exercer ses effets ; nous l'avons donc couplé à une séquence TAT dérivée du VIH, qui facilite l'internalisation cellulaire par un mécanisme de macropinocytose (Gump & Dowdy, 2007). De plus, nous avons choisi d'administrer ce peptide par injection icv dans les ventricules latéraux afin d'atteindre à la fois l'HYP et le CVD, qui bordent respectivement les troisième ventricule (3V) et quatrième ventricule (4V). Bien que cette voie d'administration ne soit pas entièrement spécifique aux structures ciblées et puisse entraîner une diffusion du peptide dans d'autres régions cérébrales, provoquant des effets non spécifiques, nous avons supposé—sur la base des résultats antérieurs de mon équipe—que cela ne serait pas le cas. En effet, la diffusion facilitée du peptide des ventricules vers l'ARC et le NTS est favorisée par la proximité des organes circumventriculaires (OCV), à savoir l'EM et l'*area postrema* (AP ; Dallaporta et al., 2009). Le marquage au FITC du TAT-Gap19 biotinylé ou du TAT-Gap19-I14A, réalisé à différents moments après leur administration icv, a confirmé la présence privilégiée du peptide dans l'ARC et le NTS suite à l'injection ventriculaire.

Nous avons ensuite évalué l'impact de l'administration icv de TAT-Gap19 sur le comportement alimentaire. Le TAT-Gap19 a été administré au début de la période d'activité des souris (début de la phase sombre) et a diminué la prise alimentaire en moins de 1,5 heure. Cet

effet a persisté tout au long de la phase sombre. Une analyse de la microstructure des repas a révélé que le TAT-Gap19 réduisait à la fois la fréquence et la taille des repas. La réduction concomitante de la fréquence et de la taille des repas pourrait évoquer un comportement de malaise (Girardet et al., 2011). Cependant, l'absence de signes de souffrance observables, ainsi que le maintien de l'activité locomotrice — souvent diminuée en cas de malaise (Johnson, 2002) — suggèrent que la modification du comportement alimentaire est davantage liée à une régulation physiologique qu'à un état de détresse. La diminution de la taille des repas reflète des processus modulant la sensation d'appétit et de rassasiement à court terme. Elle est associée à des signaux endogènes, tels que la cholécystokinine et la leptine, qui sont détectés par le SNC. En parallèle, la réduction de la fréquence des repas pourrait refléter une augmentation de la satiété entre les repas ou un retard dans l'initiation de la phase appétitive du comportement alimentaire (Benelam, 2009).

Pour approfondir ces observations, nous avons réalisé une cartographie de l'activation cellulaire par immunomarquage de c-Fos (Dragunow & Faull, 1989). Cette analyse a été effectuée sur des coupes de la région bulbaire, ainsi que sur l'ensemble du diencéphale, après l'injection de TAT-Gap19 par voie icv, à un moment où l'anorexie était en cours. Le TAT-Gap19 a induit une activation cellulaire uniquement dans l'HYP et le CVD. Ce profil d'activation est caractéristique de celui obtenu après une administration icv de composés suppresseurs de l'appétit (Gaigé et al., 2014; Girardet et al., 2011; Guillebaud et al., 2017). Ces résultats indiquent que l'inhibition de l'activité des Cx43HC dans l'HYPmb et le CVD modifie l'activité des circuits neuronaux impliqués dans le contrôle central de l'appétit, contribuant ainsi à la diminution observée du nombre et de la taille des repas dans l'étude comportementale.

En plus de la prise alimentaire, nous avons exploré un éventuel effet du TAT-Gap19 sur les régulations glucidiques, motivés par deux éléments : d'une part, la perméabilité des Cx43HC au glucose suggère un rôle potentiel dans la glucodétection centrale, et d'autre part, parce qu'Allard et al. (2014) ont fourni les premières indications de l'implication de la communication astrocytaire *via* la Cx43 dans la glucodétection hypothalamique. En administrant des siRNA ciblant la Cx43 dans le parenchyme hypothalamique de rats, ils ont inhibé de manière transitoire l'expression de la Cx43 (et de la Cx30). Cette inhibition a entraîné une réduction de la sécrétion d'insuline en réponse à une injection intracarotidienne de glucose, indiquant que la diminution de l'expression de la Cx43 dans l'HYP altère la capacité du SNC à détecter le glucose et à réagir adéquatement aux variations glycémiques. Dans notre étude, le TAT-Gap19 n'a pas altéré la glycémie ni la régulation insulinique après une surcharge en glucose. En parallèle, Allard et ses collaborateurs n'ont pas observé de modification spécifique de la prise alimentaire lors de l'administration de siARN dans le parenchyme de l'HYP. Ces divergences apparentes pourraient s'expliquer par les différences de protocoles employés : Allard et ses collaborateurs ont réduit l'expression de la Cx43 chez le rat par des siRNA, affectant à la fois la communication par les Cx43CJC et l'activité Cx43HC, alors que nous avons spécifiquement ciblé l'activité des Cx43HC chez la souris. Par ailleurs, leurs injections étaient limitées à l'HYP, tandis que nous avons ciblé à la fois l'HYP et le CVD.

III.1.4 - Mécanismes possibles sous-jacents à la réduction de l'apport alimentaire induite par l'inhibition des Cx43HC

À l'issue de cette étude et parce que le TAT-Gap19 a réduit la prise alimentaire et activé des populations neuronales de l'ARC et du NTS, nous suggérons que des composés neuroactifs libérés par les Cx43HC pourraient favoriser un tonus orexigène au sein de ces régions. La libération de gliotransmetteurs et leur implication dans les fonctions cérébrales sont illustrées par de nombreux résultats obtenus dans divers modèles physiologiques et pathologiques (voir pour revue (MacDonald et al., 2019a; Sahlender et al., 2014)). Les HC sont connus pour faciliter le

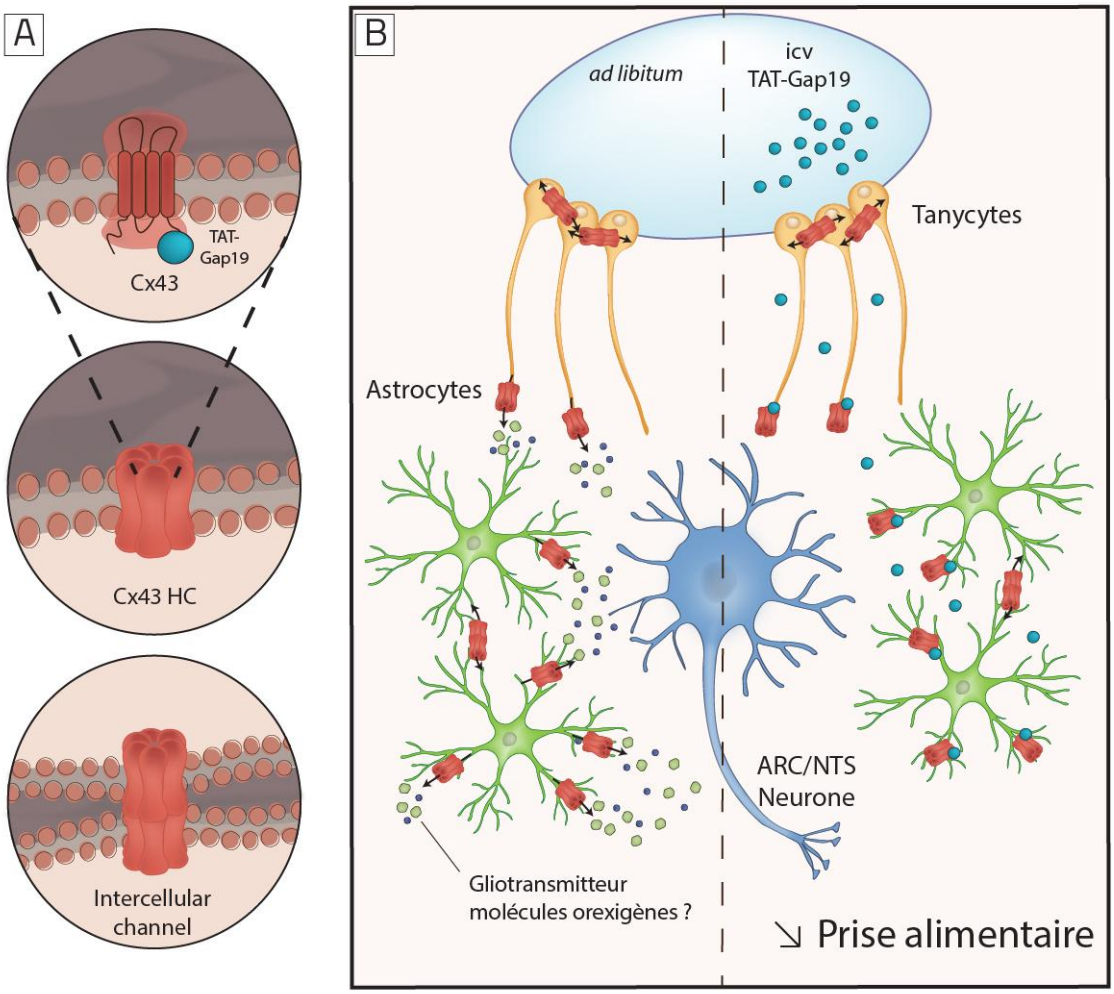


FIGURE 54 : RÉSUMÉ GRAPHIQUE DE L'ÉTUDE 1 : HYPOTHÈSE D'UNE CONTRIBUTION DES CX43HC AU MAINTIEN DE L'HOMÉOSTASIE ÉNERGÉTIQUE

A. La Cx43 est une protéine astrogliale constituée de 4 domaines transmembranaires. Elle s'assemble hexamères pour former des hémicanaux à la membrane qui permettent le passage bidirectionnel de molécules. Les hémicanaux de cellules adjacentes peuvent former des canaux intercellulaires réunis dans les plaques de jonctions communicantes. Le TAT-Gap19 est un peptide mimétique qui se fixe à l'extrémité C-terminale intracellulaire de la Cx43, empêchant l'ouverture des hémicanaux.

B. Chez des animaux nourris *ad libitum*, le blocage pharmacologique des Cx43HC par l'administration dans les ventricules latéraux de TAT-Gap19 induit une anorexie. Nous faisons l'hypothèse que dans des conditions physiologiques, les astrocytes et les tanycytes de l'hypothalamus médiobasal et du complexe vagal dorsal libèrent des molécules orexigènes *via* les connexines 43 informant en continu les réseaux neuronaux impliqués dans la prise alimentaire de l'état de satiété de l'animal.

Abréviations : **ARC** : noyau arqué de l'hypothalamus médiobasal ; **Cx43** : connexine 43 ; **Cx43HC** : hémicanaux constitués de connexine 43 ; **icv** : Injection intracérébroventriculaire avant la phase nocturne pendant laquelle les souris s'alimentent principalement ; **NTS** : noyau du tractus solitaire du complexe vagal dorsal du tronc cérébral caudal ; TAT-**Gap19** : peptide mimétique de la connexine 43 bloquant spécifiquement l'ouverture des hémicanaux.

transfert de molécules de signalisation, comme l'ATP et le glutamate, entre le cytoplasme et l'espace extracellulaire, constituant une voie non vésiculaire pour la libération de gliotransmetteurs (voir (Abudara et al., 2018; Montero & Orellana, 2015) pour une revue). Dans l'hippocampe, la signalisation au travers des Cx43HC a été rapportée comme modifiant la transmission synaptique. Par exemple leur blocage avec du GAP26 (peptide mimétique de la Cx43) a entraîné une diminution de la fréquence des courants post-synaptiques excitateurs (fEPSPs) enregistrés dans les neurones CA1 de l'hippocampe après stimulation des collatérales de Schaffer et a été associée à la libération d'ATP par les hémicanaux (Chever, Lee, et al., 2014). De plus, il a été démontré que la Cx43 gliale module l'activité synaptique glutamatergique des cellules pyramidales CA1 *via* des changements dans le glutamate libéré de manière synaptique (Chever, Pannasch, et al., 2014). Cette modulation synaptique peut avoir des répercussions sur des comportements. Par exemple, Stehberg et al. (2012) ont montré que la libération de substances neuroactives *via* les Cx43HC des astrocytes est nécessaire à la mémorisation à long terme dans le conditionnement de la peur. En effet, l'injection de TAT-Cx43L2 ou GAP27 dans l'amygdale basolatérale, qui bloquent les Cx43HC ont entraîné une amnésie au conditionnement de la peur. Fait intéressant, la co-administration de ces peptides bloquants avec un cocktail de gliotransmetteurs comprenant le glutamate, la glutamine, le lactate, la D-sérine, la glycine et l'ATP a restauré la mémoire du conditionnement de la peur. Néanmoins, cette étude n'a pas identifié de gliotransmetteur spécifique médiant les effets des HC sur l'apprentissage et la mémoire.

Nous formulons à notre tour l'hypothèse que les Cx43HC pourraient libérer des molécules neuroactives à proximité des réseaux neuronaux impliqués dans le maintien de la balance énergétique. Comme le blocage des Cx43HC a été associé à une diminution de la prise alimentaire, ces molécules pourraient plutôt avoir une tendance orexigène, libérées de façon tonique vers les neurones glutamatergiques de l'ARC ou du NTS, qui sont principalement anorexigènes (par exemple les neurones POMC de l'ARC (Millington, 2007) ou les neurones PPG du NTS (Holt, 2022)). Néanmoins, la nature des substances neuroactives libérées par les cellules gliales de l'HYP et du CVD *via* les Cx43HC et capables de moduler la prise alimentaire reste à identifier. Cette question apparaît comme un puzzle puisque la plupart des composés transportés par les Cx43HC ont un impact profond sur la prise alimentaire. L'ATP, les acides aminés et leurs métabolites, y compris la glutamine, le glutamate, l'aspartate, la glycine ou la D-sérine, peuvent directement ou indirectement (*via* la modulation de la libération de neurotransmetteurs) modifier le comportement alimentaire (He & Wu, 2020). Fait intéressant, la plupart d'entre eux sont connus pour leur action orexigène. Par exemple, il a été rapporté que le glutamate stimule le comportement alimentaire en agissant au niveau hypothalamique (Stanley et al., 2011). L'ATP apparaît également comme un candidat potentiel. Sa libération *via* les Cx43HC est bien documentée (Giaume & Liu, 2012), et ce composé exerce des effets orexigènes grâce à son action sur les récepteurs P2X2 (récepteurs ionotropiques, Colldén et al., 2010) et P2Y (récepteurs métabotropiques, Kittner et al., 2006).

En résumé, cette étude apporte la première preuve indiquant que l'inhibition de l'activité des Cx43HC interfère avec le contrôle de la prise alimentaire et suggère une possible libération tonique de molécules orexigènes par les cellules gliales *via* ces HC.

III.1.5 - Limites du modèle TAT-Gap19.

Il est important de mentionner que l'utilisation d'un blocage pharmacologique par voie icv présente plusieurs limitations. Les effets du TAT-Gap19 sont généralement observés sur des périodes de quelques heures, suggérant que le peptide reste actif pendant ce laps de temps (Abudara et al., 2014). Cependant, sa demi-vie et sa stabilité *in vivo* n'ont pas été rapportées, rendant une estimation précise de sa durée d'action et de la variabilité pharmacocinétique associée, difficile. La durée d'action rapportée du TAT-Gap19 était compatible avec les effets comportementaux que nous avons observé, mais des études supplémentaires seraient nécessaires pour vérifier que les comportements observés ne sont pas associés à une levée du blocage des hémicanaux. De plus, avec les injections icv, il est difficile de quantifier et de contrôler précisément

les concentrations atteignant l'ARC et le NTS, ce qui peut entraîner des variations d'efficacité entre les animaux. Le couplage avec la séquence TAT, permet de réduire les concentrations nécessaires pour bloquer la moitié des hémicanaux (7 µM contre 142 µM dans des tranches aiguës ; Abudara et al. 2014). Cependant, des doses plus élevées de TAT-Gap19 (jusqu'à 70 % de plus) ont été rapportées comme nécessaires lorsque l'ouverture des Cx43HC est induite expérimentalement par élimination du Ca^{2+} extracellulaire dans des tranches ou un traitement avec des cytokines pro-inflammatoires (TNF-α et IL-1β) sur des cultures d'astrocytes (Abudara et al., 2014). Dans nos conditions expérimentales, nous avons utilisé des doses supérieures aux concentrations connues pour être efficaces afin de bloquer les Cx43HC, indépendamment de la source de leur activation, permettant de s'assurer que des concentrations suffisantes atteignent les régions cibles (ARC et NTS). Le volume du LCS chez la souris est estimé à 35 µL (Pardridge, 2016). Nous avons choisi d'administrer 6 µL contenant 12,5 µg de TAT-Gap19 (M = 2703 g/mol), correspondant à une concentration approximative de 100 µM dans le LCS. Aux doses plus élevées de 25 µg, cela correspond à environ 260 µM. Il est important de souligner que le TAT-Gap19 est généralement considéré comme une alternative avec moins d'effets secondaires que d'autres agents pharmacologiques utilisés pour bloquer l'activité des HC, tels que le lanthane (La^{3+}) ou le gadolinium (Gd^{3+}), connus pour leurs effets néfastes sur les neurones (Mlinar & Enyeart, 1993). Néanmoins des doses élevées de TAT-Gap19 pourraient entraîner une perte de spécificité du peptide envers les Cx43HC. Abudara et al. ont rapporté que le TAT-Gap19 n'affecte pas la communication par Cx43CJC dans des tranches aiguës, mais d'autres auteurs proposent qu'il pourrait empêcher la fermeture des CJC, même si des preuves expérimentales solides manquent actuellement pour confirmer cet effet (Delvaeye et al., 2018; Verma et al., 2010).

Une autre question intrigante, inhérente à l'utilisation du TAT-Gap19, reste ouverte à la fin de cette étude : quelle est l'identité des cellules gliales dont l'inhibition des hémicanaux de Cx43 modifie la prise alimentaire ? Nous avons supposé que les astrocytes $GFAP^+$ étaient les principaux types cellulaires impliqués dans cette régulation, étant donné i) leur rôle dans la synapse tripartite et la communication astrocyte-neurone (voir la revue de (Durkee & Araque, 2019)) et ii) la forte expression de Cx43 que nous avons observée dans les cellules $GFAP^+$ de l'HYP et du CVD. C'est dans ce contexte que s'inscrit la troisième étude de ce manuscrit, dans laquelle nous avons ciblé spécifiquement les astrocytes et choisi de concentrer nos analyses sur le CVD. Ce choix de région a été motivé par la nécessité de mieux caractériser les cellules gliales du CVD, encore peu étudiées, et par l'expertise antérieure de notre équipe sur cette structure.

III.2 - Étude 3 : Effets de la réduction d'expression de la Cx43 dans les astrocytes du CVD, chez des souris nourries avec un régime standard ou obésogène

Dans l'étude 3, l'expression de la Cx43 (Cx43HC et Cx43GJs) était spécifiquement réduite dans les astrocytes du CVD, par interférence ARN. Nous avons étudié le statut métabolique de ces animaux dans des conditions d'alimentation standard et sous un régime riche en graisses et en sucres. Malgré une forte réduction de la Cx43 et une modification de la morphologie gliale, aucune modification significative du phénotype métabolique n'a été observée.

III.2.1 - Réduction de l'expression de la Cx43 spécifiquement dans les astrocytes du CVD par interférence ARN

Nous avons mis au point une approche chirurgicale permettant d'effectuer de manière reproductible des injections bilatérales dans le parenchyme du TCc. La moelle allongée est en effet éloignée des repères crâniens classiquement utilisés (Bregma et Lambda), ce qui rend le ciblage précis du CVD difficile en raison de sa petite taille chez la souris. Pour contourner cette difficulté, nous avons utilisé une approche stéréotaxique basée sur les travaux antérieurs de (Brierley et al., 2021), en empruntant la voie atlanto-occipitale et l'obex comme point de repère anatomique. Cette technique nous a permis d'étudier le rôle des astrocytes du CVD dans le contrôle de l'équilibre énergétique. Pour cibler les astrocytes, nous avons utilisé des vecteurs viraux adéno-associés (AAV) dont l'expression est contrôlée par le promoteur de la GFAP. Dans le NTS et le DMNX, la majorité des astrocytes expriment la GFAP (Pecchi et al., 2007), contrairement à d'autres régions cérébrales où la GFAP est principalement associée aux astrocytes fibreux de la substance blanche (Kimelberg, 2004; Walz & Lang, 1998). McDougal et al., (2011) ont rapporté que 98 % des astrocytes du NTS expriment à la fois le marqueur S100β, spécifique des astrocytes protoplasmiques de la substance grise et la GFAP. Les injections intraparenchymateuses bilatérales de nos AAV-DJ/8-GFAP::EGFP/shARN ont efficacement ciblé les astrocytes du NTS et du DMNX sur l'ensemble de l'axe rostro-caudal, sans expression détectable dans les populations neuronales ou microgliales. Les vecteurs viraux utilisés dans ce projet exprimaient soit un shARN inactif (AAV-shARN-Scramble), soit trois shARN dirigés contre la Cx43 (AAV-shARN-Cx43). Les injections bilatérales avec la solution d'AAV-shARN-Cx43 ont permis de réduire de 80 % l'intensité du marquage de la Cx43 dans le NTS/DMNX. La diminution des transcrits dans les échantillons microdisséqués de CVD, analysés par RT-qPCR à la 9e semaine post-chirurgie était moins importante (~50 %) mais est sans doute sous-évaluée à cause de la présence d'autres tissus environnants dans les échantillons prélevés. Au total, l'expression de la Cx43 a été très significativement altérée dans la grande majorité des astrocytes du CVD.

De façon intéressante, nous avons observé dans le NTS et le DMNX des animaux infectés par les AAV-shARN-Cx43, une réactivité du compartiment astrocytaire. Elle se traduisait par une augmentation du nombre de cellules GFAP$^+$ ainsi qu'une expansion de la surface occupée par les

prolongements astrocytaires positifs pour la GFAP. Ces modifications morphologiques étaient absentes lors de l'administration d'AAV exprimant des shARN inactifs. Elles suggèrent une réponse adaptative des réseaux astrocytaires à la réduction de l'expression de la Cx43. Les astrocytes n'étaient pas les seules cellules affectées par l'expression des AAV-shARN-Cx43. Les cellules microgliales ont également montré des changements morphologiques avec une arborisation plus importante, alors qu'elles ne sont pas directement ciblées par les vecteurs viraux sous le contrôle du promoteur astrocytaire de la GFAP. Cette réponse microgliale était également absente lors de l'administration d'AAV exprimant des shARN inactifs. Ces modifications observées dans les cellules microgliales en l'absence de CX43 astrocytaire suggèrent que les interactions cellulaires dans le NTS sont largement affectées dans notre modèle.

Il est toutefois à noter que notre approche chirurgicale ne permettait pas d'infecter de manière reproductible l'AP et le *funiculus separens,* la crête oblique séparant le NTS de l'AP. La difficulté à cibler l'AP par des injections stéréotaxiques, en particulier ses cellules gliales, a été rapportée par d'autres auteurs (Coester et al., 2020; Tsai et al., 2019) et pourrait être due autant à sa forte vascularisation qu'à la présence de barrières cellulaires, notamment représentées par les vagliocytes, les cellules gliales spécialisées restreintes au *funiculus separens* (voir **section I.3.1.3.2**,p 111). Par ailleurs, la rareté de cellules exprimant la GFAP dans l'AP (Pecchi et al., 2007) pourrait expliquer pourquoi cette région a été relativement épargnée. Néanmoins, dans l'étude 1, nous avons montré que Cx43, bien qu'abondamment exprimée dans le NTS et le DMNX, l'était faiblement dans l'AP. Ainsi l'absence de ciblage de cette région n'a pas représenté une limitation majeure du projet. Toutefois, le marquage de la Cx43 est resté relativement préservé dans les vagliocytes à la fois dans leurs corps cellulaires cuboïdes et leurs prolongements alors que ces dernières expriment la GFAP (Pecchi et al., 2007, **Figure 27**).

Compte tenu de la reproductibilité des injections bilatérales dans le parenchyme du TCc *via* l'approche atlanto-occipitale, de la forte réduction de l'expression de la Cx43 dans les astrocytes du NTS et le DMNX par nos AAV, ainsi que des modifications morphologiques astrocytaires et microgliales observées en réponse à la diminution d'expression de la Cx43, nous avons estimé que ce modèle était adapté pour étudier la contribution de la Cx43 astrocytaire au contrôle de l'appétit et au maintien de l'homéostasie énergétique et glucidique.

III.2.2 - La réduction de l'expression de la Cx43 dans les astrocytes du CVD ne modifie pas l'équilibre énergétique chez les animaux nourris avec un régime standard

Nous avons effectué des suivis longitudinaux de la croissance pondérale des animaux ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble ou l'AAV-shARN-Cx43. Le phénotype métabolique a été caractérisé par des enregistrements de calorimétrie indirecte, des mesures de la prise alimentaire, des tests de tolérance au glucose par voie orale et des réponses à divers défis énergétiques. Nous avons examiné les effets d'une glucoprivation induite par le 2-deoxy-D-glucose (2DG) sur la prise alimentaire, la glycémie et l'activation cellulaire dans le CVD, ainsi que l'impact d'un jeûne et de l'hyperphagie associée à la réalimentation. Nous avons également évalué la réponse à une exposition courte à un régime obésogène enrichi en graisses et en sucre (HFS). Aucun de ces tests n'a révélé d'altération significative du phénotype métabolique. La croissance pondérale, la prise alimentaire et les réponses aux différents défis énergétiques n'ont montré aucune différence statistiquement significative entre les groupes ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble et l'AAV-shARN-Cx43.

Cette absence de phénotype est étonnante au regard de l'ampleur de la délétion de la Cx43 dans les astrocytes du NTS/DMNX et pourrait laisser à penser que la communication astrocytaire

via les Cx43 n'est pas impliquée dans les processus physiologiques étudiés. Cela semble pourtant en contradiction avec de nombreuses études réalisées jusqu'ici par différents groupes (MacDonald et al., 2020; Rogers et al., 2020). L'une des hypothèses majeures de ce projet était que la délétion de la Cx43 pourrait altérer les réponses contre-régulatrices à la glucoprivation induite par le 2DG. En effet, Hermann, Rogers et leurs collaborateurs (Rogers et al. (2020), **section I.3.2.4.2**, p 124, **Figure 29**) ont montré que les astrocytes du CVD sont activés par de faibles variations de la concentration en glucose et qu'en retour ils activent les neurones TH du NTS *via* la libération de purines (**Figure 29**). Or, il est bien établi que les Cx43HC sont perméables aux purines (Yang et al., 2023), et que l'ATP libérée par les Cx43HC facilite la communication entre les cellules gliales et la propagation des vagues calciques (**Figure 33**). Ces vagues calciques reposent également en partie sur la communication par les JC (Arcuino et al., 2002; Cotrina et al., 1998). Par ailleurs, le transporteur GLUT2, un transporteur de glucose à faible affinité impliqué dans la glucodétection centrale, est exprimé dans une sous-population d'astrocytes du CVD (Leloup et al., 1994). L'équipe de Thorens a rapporté que son absence dans le SNC entraîne des altérations de la sécrétion de glucagon et modifie le comportement alimentaire en réponse aux variations de glucose (Burcelin & Thorens, 2001). Ce même groupe a apporté des preuves d'une contribution des astrocytes du CVD dans cet impact de la délétion de GLUT2, puisque la ré-expression du transporteur du glucose, spécifiquement dans les astrocytes du CVD a permis de restaurer la sécrétion de glucagon et l'activation neuronale dans le NTS en réponse à la glucoprivation (Marty et al., 2005). Or dans notre étude, la délétion de la Cx43 dans les astrocytes du CVD n'a pas modifié la réponse glycémique, la réponse neuronale à une glucoprivation (marquage c-Fos en réponse au 2DG) ni l'hyperphagie induite par le 2DG. Il est à noter que d'autres auteurs ont rapporté une absence d'effet de la manipulation génétique des astrocytes sur la capacité à répondre à une glucoprivation systémique et à initier des réponses visant à rétablir l'homéostasie glucidique. MacDonald et al. (2023) n'ont pas observé d'effet de l'activation chimiogénétique des astrocytes du CVD sur l'homéostasie systémique du glucose ni sur la réponse au 2DG.

Toutefois, nous avons observé des modifications très ponctuelles associées à la réduction de l'expression de la Cx43 dans les astrocytes du CVD. Par exemple, chez les souris ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43, une activation cellulaire (quantification des cellules c-Fos positives) plus importante que chez les souris traitées avec l'AAV-shARN-Scramble, a été détectée dans les régions postrémales du NTS en réponse à une réalimentation de 3 heures après un jeûne de 21 heures, sans pour autant induire de modification de la prise alimentaire. Ces résultats suggèrent que les complexes formés par la Cx43 (Cx43HC et Cx43GJ) pourraient moduler la réponse neuronale aux signaux de satiété après une privation énergétique, évitant ainsi un rassasiement trop précoce après une longue période de jeûne. MacDonald et al. (2020) ont également souligné la capacité des astrocytes à modifier la réponse hyperphagique à un jeûne et à favoriser une activation cellulaire dans le CVD. Ils ont rapporté que l'activation chémogénétique des astrocytes du CVD, en plus d'activer les réseaux neuronaux locaux, réduisait la prise alimentaire, le taux de prise alimentaire et retardait le retour au poids corporel initial en réponse à un jeûne de 12 heures. Bien que ces résultats puissent sembler opposés aux nôtres, ils indiquent dans les deux cas que la manipulation des astrocytes du CVD pourrait interférer avec la réception des signaux de faim et de satiété. Dans une étude plus récente, les mêmes auteurs ont rapporté que cette activation chémogénétique était associée à une diminution du nombre et de la taille des repas, suggérant que l'activation astrocytaire réduit la faim et favorise la satiété (MacDonald et al., 2023). Dans notre étude, nous avons observé que l'inhibition de la Cx43 était associée à une augmentation du nombre de repas pendant la période nocturne, sans modification globale de la taille des repas ni de la prise alimentaire totale, ce qui tend à indiquer que la communication *via* la Cx43 dans le CVD pourrait participer à l'inhibition de l'appétit et de la sensation de faim entre les repas, chez des animaux nourris avec un régime standard.

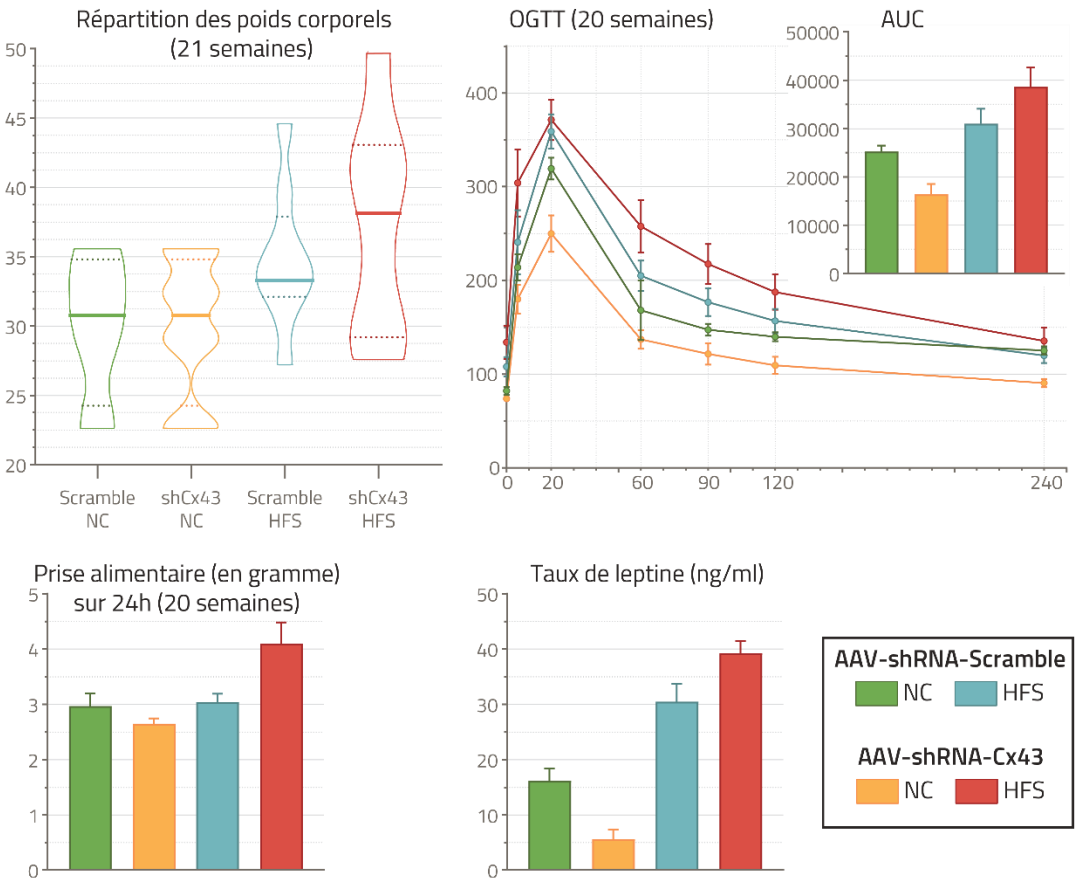


FIGURE 55 : RÉGIME HFS PROLONGÉ DE 3 SEMAINES LORS D'UNE RÉDUCTION DE L'EXPRESSION DE LA CX43

A. Répartition des poids corporels à la 21e semaine d'âge.

B. Test de tolérance au glucose administré par voie orale (1,5g de D-Glucose/kg), réalisé à la 20e semaine et AUC correspondantes pour les différents groupes.

C. Evaluation de la prise alimentaire journalière par la méthode de pesée des restes sur 24h, réalisé deux fois entre la 20e et la 21e semaine d'âge.

D. Niveaux plasmatiques de leptine (en ng/ml)

III.2.3 - La réduction de l'expression de la Cx43 dans un contexte d'obésité induite par l'alimentation ne déstabilise pas l'équilibre énergétique

Face à l'absence d'altération du statut métabolique chez les animaux présentant une réduction d'expression de la Cx43 et soumis à un régime alimentaire standard, nous avons voulu déterminer si une déstabilisation du statut nutritionnel à long terme pouvait révéler un phénotype métabolique plus prononcé. Pour cela, les animaux ont été soumis à un régime HFS à partir de la 5e semaine et pendant une durée de 12 semaines. L'injection des AAV-shARN-Cx43 ou AAV-shARN-Scramble a été effectuée à 8e semaine d'âge.

Nos analyses n'ont pas mis en évidence de perturbation supplémentaire de la balance énergétique chez les souris ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43 par rapport à celles ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble lors de l'exposition au régime HFS. Ni la croissance pondérale ni la tolérance au glucose ne présentaient de différences statistiquement significatives entre les groupes nourris avec le régime HFS sur la durée du protocole. Néanmoins, nous avons observé une tendance à l'augmentation du poids corporel sous régime HFS chez les souris ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43 par rapport à leurs congénères ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble. Cette tendance était observable à partir de la 7e semaine post-chirurgie et était plus marquée à la 9e semaine post-chirurgie, sans toutefois atteindre la significativité statistique ($p = 0,0545$ à 9 semaines). Cette tendance à la prise de poids était également associée à une tendance à l'intolérance au glucose. La glycémie basale des animaux n'était pas différente entre les groupes, mais suite à un bolus de glucose, l'élévation de la glycémie semblait plus rapide chez les souris soumises au régime HFS et ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43 par rapport à celles ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble. Le retour à une normoglycémie était également légèrement retardé. De plus, les niveaux plasmatiques d'insuline, analysés à la 9e semaine post-chirurgie, avaient tendance à être augmentés.

Ainsi, bien que l'interférence avec l'expression de la Cx43 n'ait pas induit de modifications notables des réponses métaboliques au régime enrichi en graisses, elle a pu légèrement faciliter la propension à développer une obésité et un prédiabète. Cette tendance pourrait s'expliquer par le fait que le knockdown (KD) de la Cx43 perturbe de façon modeste l'équilibre énergétique, facilement compensé pendant les premières semaines, avant l'apparition progressive de signes indiquant une perturbation de cet équilibre. Des analyses de RT-qPCR sont en cours pour explorer d'éventuelles pistes de compensation. Nous évaluons actuellement les niveaux de transcrits des transporteurs du glucose (GLUT1, GLUT2, GLUT3), des transporteurs du glutamate (GLAST et GLT-1), ainsi que des récepteurs métabotropiques du glutamate (mGluR1 à mGluR8). Ces analyses visent à déterminer si des acteurs clés de la communication neurogliale sont affectés par la délétion de la Cx43, que ce soit dans des conditions standard d'alimentation ou lors de l'exposition à un régime HFS. Les échantillons analysés proviennent de souris âgées de 17 semaines (9 semaines post-injection). À ce jour, les résultats n'ont montré aucune modification significative de l'expression de ces acteurs, à l'exception de GLAST/EEAT1. Bien que son expression ne soit pas altérée par l'AAV-shARN-shCx43 chez les souris nourries avec un régime standard, une diminution a été observée chez les animaux ayant un KD de la Cx43 et exposés au régime HFS. Cette variation d'expression n'a été détectée chez les animaux ayant reçu l'AAV- shARN-Scramble, soumis au régime HFS.

Cette tendance à la prise de poids à partir de la 7ème semaine soulève la question d'une éventuelle apparition tardive (après 9 semaines post-chirurgie) d'un phénotype plus marqué. Cette période de 9 semaines au cours de laquelle les tests métaboliques ont été réalisés a été déterminée en amont des expériences et dictée par plusieurs éléments. Nous nous sommes d'abord basés sur les délais de 10 à 15 semaines classiquement utilisés pour l'observation d'une prise de poids significative sous régime obésogène. Nous avons souhaité introduire le régime HFS

chez des animaux jeunes, peu après le sevrage (à 5 semaines d'âge), pour potentialiser les effets de ce régime, qui est connu pour induire des altérations métaboliques assez légères, surtout lorsqu'il est introduit chez des animaux plus âgés (Hasegawa et al., 2020; Vercalsteren et al., 2019; West et al., 1992). Un délai de 9 semaines post-chirurgie permettait de se situer dans la fourchette décrite, correspondant à 12 semaines de maintien sous régime HFS. Il est a noter aussi que ces contraintes nous ont obligé à effectuer la chirurgie après 3 semaines de régime HFS ce qui a assurément perturbé le statut métabolique des animaux. Comme mentionné plus haut, le blocage des Cx43HC entraînait une diminution de la prise alimentaire, et nous avions plutôt formulé l'hypothèse qu'une certaine résistance au régime HFS se produirait chez les animaux ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43, ce qui semblait compatible avec le délai de 9 semaines post-chirurgie retenu. En observant cette tendance à la prise de poids après 7 semaines, nous avons envisagé que la période au cours de laquelle les tests métaboliques ont été réalisés n'avait peut-être pas été suffisante pour observer un effet du knockdown. Nous avons donc conservé une petite partie de ces animaux sur des délais plus longs. Les données obtenues pendant ces dernières semaines n'ont pas été présentées dans la partie résultats en raison de l'échantillon réduit (AAV-shARN-Scramble_NC : n=3 ; AAV-shARN-Cx43_NC : n=4 ; AAV-shARN-Scramble_HFS : n=5 ; AAV-shARN-Cx43_HFS : n=5). Chez ces animaux, nous avons continué les suivis du poids corporel (**Figure 55**, **A**), réalisé un OGTT (**Figure 55**, **B-C**) supplémentaire et mesuré les niveaux plasmatiques de leptine (**Figure 55**, **D-E**) avant la mise à mort par perfusion intracardiaque, permettant de vérifier la transduction virale. La tendance à la prise de poids et à l'intolérance au glucose s'est confirmée. Fait surprenant, alors que les niveaux plasmatiques de leptine étaient inchangés à 9 semaines chez les animaux sous HFS KD pour la connexine par rapport aux animaux sous HFS témoins, à 11 semaines, les niveaux de leptine étaient plus élevés chez les souris ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43 par rapport à celles ayant reçu l'AAV-shARN-Scramble. Cette hyperleptinémie pourrait refléter une masse grasse plus importante et entraîner une résistance à la leptine caractéristique de l'obésité. Ces résultats doivent néanmoins être interprétés avec prudence, non seulement en raison de la taille réduite de l'échantillon, mais aussi parce que les animaux sous HFS et ayant été injectés avec l'AAV-shARN-Scramble avaient des poids corporels légèrement inférieurs à ceux de leurs congénères du même groupe à 9 semaines post-chirurgie, ce qui pourrait influencer les comparaisons.

L'absence d'effet notable du KD de la Cx43 sur le phénotype métabolique, tant sous régime NC que sous régime HFS, est surprenante. En effet, même si la tendance manifestée lors d'une exposition prolongée (>12 semaines) à un régime HFS venait à être confirmée, l'effet global sur l'équilibre énergétique demeure limité. Cet impact minime contraste fortement avec l'expression élevée de la Cx43 observée dans le NTS et le DMNX, ainsi que l'importance des astrocytes dans ces régions pour moduler l'activité des réseaux neuronaux, sans oublier l'ampleur de la délétion induite par nos AAV. Ces résultats sont d'autant plus inattendus lorsqu'on les compare aux effets de l'inhibition pharmacologique de la Cx43 *via* le TAT-Gap19 administré dans les ventricules latéraux, qui a entraîné une réduction de la prise alimentaire et une activation neuronale accrue dans des régions clés du contrôle de l'équilibre énergétique, en particulier le NTS.

Des questions demeurent quant à expliquer cette absence de phénotype malgré une perturbation importante du compartiment glial.

III.2.4 - Compensations possibles

Etant donné les modifications de la morphologie des astrocytes et des cellules microgliales lors de la réduction d'expression de la Cx43 dans le CVD, accompagnée d'un profil métabolique normal, il est envisageable que des compensations par le compartiment glial se mettent en place pour stabiliser l'équilibre énergétique en l'absence d'une communication par les hémicanaux et les jonctions de Cx43.

Notre première hypothèse était que la réduction d'expression de la Cx43 pourrait être accompagnée d'une surexpression de d'autres connexines astrocytaires, permettant de rétablir une fonction hémicanal ou des canaux intercellulaires. Le maintien consécutif de la communication astrocytaire aurait expliqué l'absence de phénotype. Néanmoins, nos expériences de RT-qPCR n'ont pas mis en évidence de compensation dans l'expression des principales connexines astrocytaires, dont la Cx30, la Cx26 et la Cx45. Au contraire, l'expression de la Cx30, la connexine la plus exprimée après la Cx43, avait également tendance à être réduite chez les souris ayant reçu l'AAV-shARN-Cx43. Cette tendance à la baisse d'expression a aussi été retrouvée pour la Cx45 et la pannexine 1, sans modification notable des niveaux de Cx26. La baisse concomitante de l'expression de la Cx43 et de la Cx30 semble assez spécifique de notre modèle. Chez les souris transgéniques présentant un hypomorphisme de la Cx43, utilisées dans l'étude 2, nous n'avons pas noté de modification de l'expression de la Cx30 dans l'HYPmb et le TCc. Il a néanmoins été rapporté par plusieurs auteurs que la délétion génétique de la Cx43 dans les astrocytes est associée à une surexpression compensatoire de la Cx30 dans l'hippocampe, le cortex et le cervelet (Nakase et al., 2004; Theis et al., 2003; Unger et al., 2012). Sur des tranches aiguës d'hippocampe, cette compensation permet de maintenir 50% du couplage entre les astrocytes mesurée par l'injection de traceurs fluorescents (Theis et al., 2003). Par ailleurs, la réduction de l'expression de la Cx30 a été associée à une déstabilisation des connexons constitués de Cx26 (Lynn et al., 2011) ce qui laisse peu d'arguments en faveur d'un couplage persistant des astrocytes dans notre modèle. D'un autre côté, il est connu que le remplacement d'un membre de la famille des connexines par un autre membre ne peut pas forcément rétablir la fonction hémicanal ou la jonction par canaux intercellulaires (voir (Bedner et al., 2012) pour revue) et des réponses plus globales du compartiment gliale pourrait permettre de compenser l'absence de Cx43. Ainsi, dans notre modèle, peu d'arguments indiquent des compensations de fonctions HC et GJ par les cellules gliales.

Dans le cadre de ce projet, nous n'avons pas étudié de manière plus étendue d'autres connexines exprimées par les autres cellules du compartiment glial, en particulier l'expression de la Cx32 dans les cellules microgliales et les oligodendrocytes, ou la Cx36 exprimée par les neurones et la microglie.

Dans notre étude, nous avons observé des modifications morphologiques des astrocytes, notamment une augmentation de leur taille et de la surface qu'ils occupent. Ces changements pourraient indiquer une réactivité gliale en réponse à la réduction de l'expression de la Cx43 dans les astrocytes. La diminution de la Cx43 peut perturber la communication intercellulaire essentielle à leurs fonctions, déclenchant ainsi une réponse réactive des astrocytes caractérisée par une augmentation de l'expression de la GFAP et des changements morphologiques associés à l'astrogliose. Néanmoins, à ma connaissance aucune étude n'a rapporté qu'une délétion de la Cx43 dans les astrocytes affecte leur morphologie. Les conséquences d'une telle gliose induite par la réduction de l'expression de la Cx43 sont difficiles à prédire, car la relation entre l'expression de la Cx43 et l'astrogliose varie considérablement selon le contexte et le modèle étudié. Cela s'explique en partie par le fait que le schéma d'expression des connexines varie dans les contextes pathologiques. Dans la plupart des pathologies ou lésions cérébrales étudiées chez l'animal, des modifications dynamiques de l'expression des connexines, du couplage astrocytaire et de l'activité des hémicanaux ont été rapportées avec des conséquences parfois bénéfiques et parfois délétères (pour revue, voir Giaume et al. (2010). Dans notre étude, on peut envisager que la réduction de la Cx43 affecte le compartiment glial dans son ensemble parce que nous avons aussi observé une modification de la morphologie des cellules microgliales.

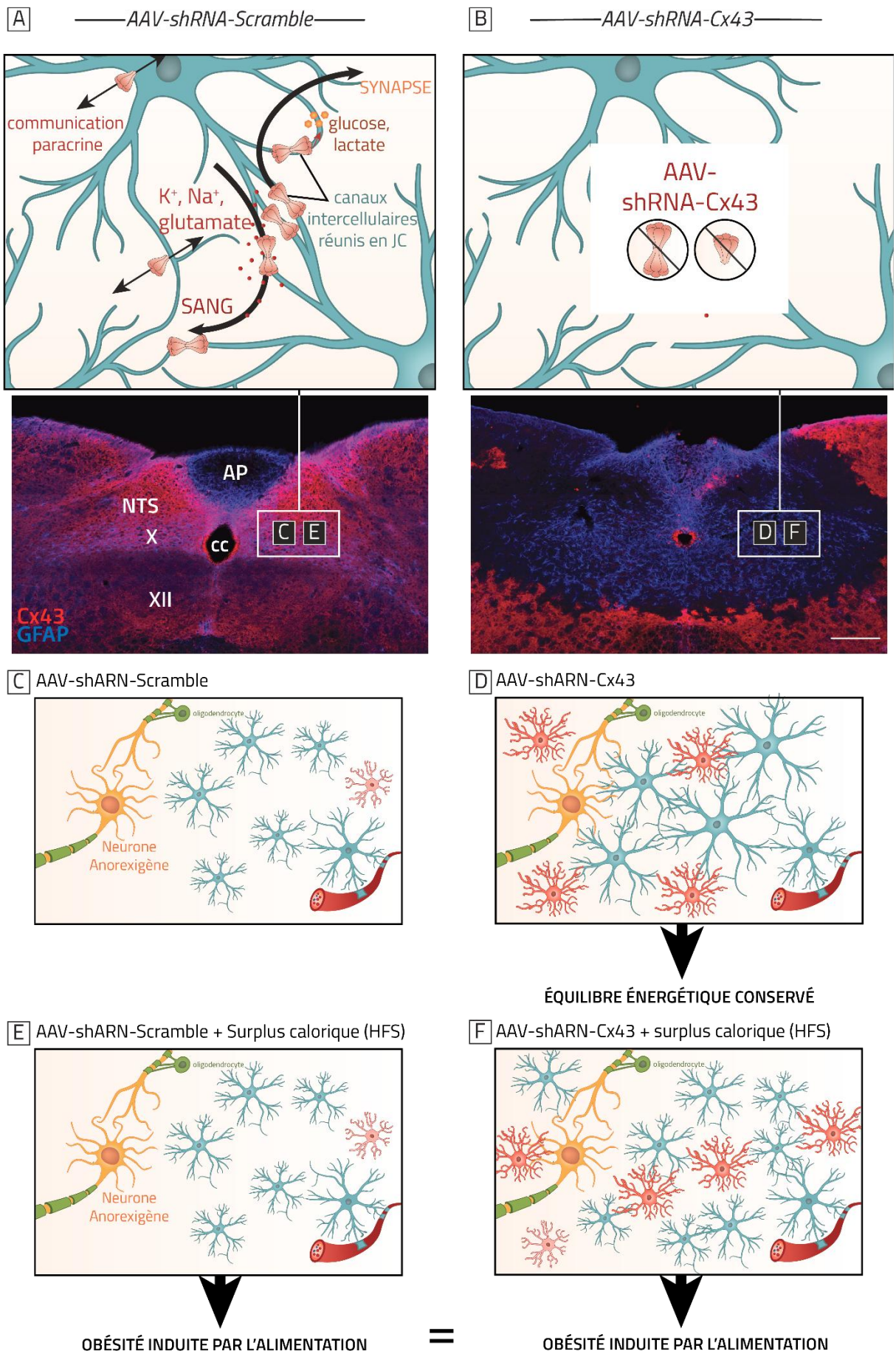

A
AAV-shRNA-Scramble
B
AAV-shRNA-Cx43
communication paracrine
SYNAPSE
glucose, lactate
K+, Na+, glutamate
canaux intercellulaires réunis en JC
SANG
AAV-shRNA-Cx43
AP
NTS
X
cc
XII
C E
D F
Cx43
GFAP
C AAV-shARN-Scramble
D AAV-shARN-Cx43
oligodendrocyte
Neurone Anorexigène
ÉQUILIBRE ÉNERGÉTIQUE CONSERVÉ
E AAV-shARN-Scramble + Surplus calorique (HFS)
F AAV-shARN-Cx43 + surplus calorique (HFS)
OBÉSITÉ INDUITE PAR L'ALIMENTATION
=
OBÉSITÉ INDUITE PAR L'ALIMENTATION

FIGURE 56 : RÉSUMÉ GRAPHIQUE DE L'ÉTUDE 3

A. Dans le CVD, les astrocytes GFAP$^+$ expriment fortement la Cx43, impliquée dans la formation de canaux intercellulaires intégrés dans les jonctions communicantes (Cx43CJC) et les hémicanaux. Quelques fonctions des complexes formés par la Cx43 sont rappelées dans l'encadré. Le couplage jonctionnel participe au maintien de l'homéostasie ionique et à l'apport de substrats énergétiques (glucose, lactate) aux neurones. Les hémicanaux permettent la libération de messagers chimiques, dont l'ATP, qui influencent à la fois l'activité des neurones et celle des astrocytes et cellules microgliales environnantes.

B. Dans notre étude, nous avons utilisé des AAV-shARN-Cx43 qui permettent d'interférer avec l'expression de la Cx43 dans les astrocytes GFAP$^+$ du CVD. La réduction importante de l'expression de la Cx43 dans le CVD suggère que le couplage des astrocytes par les jonctions communicantes et la communication par les hémicanaux de Cx43 sont supprimés.

C. Schématisation des populations cellulaires présentes dans le parenchyme des animaux témoins (AAV-shScramble et régime standard).

D. La réduction de l'expression de la Cx43 par les AAV est associée à une augmentation de la taille des astrocytes, une augmentation de la surface du parenchyme recouverte par les prolongements GFAP$^+$, et un remodelage des prolongements microgliaux qui présentent une arborisation plus complexe et des branches plus ramifiées. Les AAV-shARN-Cx43 ne modifient pas l'équilibre énergétique.

E. Dans un contexte d'alimentation riche en graisses et en sucres (HFS), nous n'avons pas observé de modifications morphologiques du compartiment glial (microglie et astrocytes). Le régime HFS induit une obésité modérée.

F. Dans un contexte d'alimentation HFS et lorsque l'expression de la Cx43 est réduite dans les astrocytes GFAP$^+$ du CVD, le nombre d'astrocytes présents dans le parenchyme cérébral est augmenté. Néanmoins, leur arborisation et leur taille ne semblent pas modifiées. Les cellules microgliales répondent aussi à la réduction de la Cx43 astrocytaire par une complexification et une ramification, mais elles s'étendent moins que dans la condition D. Chez ces souris, le régime HFS entraîne une obésité modérée, et le statut métabolique des animaux est comparable à celui des animaux en E.

Abréviations : **AAV** : Adeno-Associated Virus (virus adéno-associé) ; **AP** : Area Postrema ; **cc** : canal central ; **Cx43** : Connexine 43 ; **GFAP** : *Glial Fibrillary Acidic Protein* ; **JC** : Jonctions communicantes ; **NTS** : Noyau du tractus solitaire ; **SANG** : Référence au compartiment vasculaire sanguin ; **X** : Nerf vague (dixième paire de nerfs crâniens) ; **XII** : Nerf hypoglosse (douzième paire de nerfs crâniens) ;

Néanmoins, ces modifications morphologiques ne sont qu'une observation, et nos résultats ne permettent que de formuler des hypothèses sur leur contribution au phénotype observé. Cette modification gliale pourrait soit contribuer à la tendance à la prise de poids, soit pourrait constituer une réaction compensatoire à l'altération de la communication gliale expliquant ce phénotype très peu marqué.

Plusieurs études menées par le groupe de Giaume ont montré que la communication entre les astrocytes et les cellules microgliales modifie la perméabilité des Cx43HC et le couplage *via* les Cx43GJ. En utilisant des co-cultures d'astrocytes et de microglies, ils ont observé que l'activation des microglies par le Lipopolysaccharide (LPS) entraîne une inhibition de la communication par GJ et une perméabilité accrue des Cx43HC dans les astrocytes (Même et al., 2006; Retamal et al., 2007). Ils ont ensuite, dans l'étude d'Abudara et al. (2015), confirmé ce lien dans un modèle *ex vivo* de tranches hippocampiques aiguës. Ils ont observé que la libération de cytokines pro-inflammatoires IL-1β et TNF-α par la microglie activée augmente l'activité des Cx43HC

astrocytaires. Cette activation est associée à une élévation du calcium intracellulaire dans les astrocytes et à une libération accrue de glutamate. Elle conduisait à une réduction de l'activité synaptique excitatrice des neurones pyramidaux en réponse à la stimulation des collatérales de Schaffer. Cependant, dans ces tranches, la communication par jonctions gap n'était pas affectée, ce qu'ils ont attribué à l'expression persistante de la Cx30. Dans le cadre de mon projet, cette activité microgliale pourrait permettre d'amplifier la communication résiduelle *via* les Cx43HC pour compenser la perte d'expression induite par les AAV.

Une autre hypothèse est que les modifications morphologiques des astrocytes pourraient compenser la perte de couplage *via* les Cx43GJ. Il a été rapporté que la dépendance aux jonctions communicantes astrocytaires pour la clairance du potassium et du glutamate varie selon l'organisation des astrocytes (**Figure 32**). Wallraff et al. (2006) ont montré que les couches de l'hippocampe où les astrocytes sont plus dispersés dépendent davantage des jonctions communicantes pour assurer une redistribution efficace du K^+. Au contraire, un alignement plus dense des astrocytes leur permettrait d'être plus autonomes vis-à-vis de la régulation de l'homéostasie ionique du milieu extracellulaire. Bien que nous n'ayons pas testé l'expression des principaux transporteurs du potassium à la synapse, tels que Kir4.1 ou la Na^+/K^+ ATPase, nous n'avons pas détecté de modifications dans les niveaux d'expression de GLT-1 et de GLAST, les principaux transporteurs du glutamate (data à venir, non inclus dans ce manuscrit). Ainsi, cette hypothèse reste spéculative à ce stade.

III.3 - Discussion générale et perspectives

III.3.1 - Comparaison entre les deux études.

Dans l'étude 1, nous avions administré le TAT-Gap19 dans les ventricules latéraux, ce qui a permis d'inhiber de façon aiguë les hémicanaux constitués de Cx43 (Cx43HC) dans le CVD et les régions hypothalamiques proches du 3V. Dans l'étude 3, les Cx43HC et les canaux intercellulaires formés par la Cx43 (Cx43CJC) sont beaucoup moins exprimés de façon chronique et ceci spécifiquement dans le CVD. Comment expliquer alors cette différence entre les résultats obtenus lors de l'inhibition aigue des Cx43HC et l'absence de phénotype chez les animaux présentant une altération de l'expression de la Cx43 dans les astrocytes du CVD ? Nous pouvons envisager plusieurs hypothèses non exclusives pour expliquer cette apparente contradiction.

Une des principales différences entre l'inhibition pharmacologique des Cx43HC par le TAT-Gap19, et les AAV-shARN utilisés dans notre projet réside dans la durée d'inhibition de la Cx43. Il est possible qu'une diminution prolongée de l'expression de la Cx43 induise des mécanismes compensatoires, comme discuté dans la précédente section, empêchant ainsi l'observation d'un phénotype métabolique altéré.

Par ailleurs, alors que le TAT-Gap19 n'inhibe que les Cx43HC, les AAV shARN Cx43 affectent en plus les Cx43CJC. Nous ne pouvons exclure à ce stade que cela puisse avoir des répercussions plus importantes. Ces deux modes de communication sont complémentaires et recrutés dans des contextes cellulaires distincts et pourraient se compenser mutuellement. D'ailleurs, dans des contextes pathologiques, dans lesquels les effets d'une modification d'expression de la Cx43 sont les plus étudiés, l'élimination sélective de la Cx43 dans les astrocytes atténue ou aggrave les fonctions étudiées. De manière schématique, les effets délétères des connexines dans les contextes pathologiques sont généralement attribués à l'activité des hémicanaux, tandis que les effets bénéfiques sont liés au couplage des astrocytes. Par exemple, Huang et al. (2012) suggèrent que la libération d'ATP par les hémicanaux de Cx43 dans un modèle de lésion de la moelle épinière aggrave les lésions secondaires et limite la récupération fonctionnelle. Bedner et al. (2015) proposent que le découplage des astrocytes *via* les jonctions communicantes pourrait être une cause première de l'épilepsie du lobe temporal médial avec sclérose, car ce découplage altère le tamponnement du K^+ et précède la mort neuronale apoptotique ainsi que la survenue de crises spontanées. De plus, indépendamment des fonctions canoniques de Cx43 liées aux connexons (GJ et HC), cette protéine possède des rôles non canoniques variés, incluant la régulation du métabolisme mitochondrial, de l'adhésion cellulaire et de la transcription (voir revue : Lucaciu et al. (2023)). Il est incertain dans quelle mesure ces fonctions non canoniques étaient affectées dans notre modèle. En effet, elles impliquent en partie des connexons localisés dans les membranes mitochondriales internes et des fragments tronqués de la Cx43 (principalement N-terminaux). Avec le modèle TAT-Gap19, on peut imaginer que les connexons mitochondriaux aient pu être inhibés, mais les fonctions des fragments tronqués de Cx43 seraient intactes. En revanche, l'expression des vecteurs viraux (shARN-Cx43) inhiberait la formation des connexons mitochondriaux tout en conservant certaines fonctions associées aux fragments tronqués de Cx43 (dont la régulation transcriptionnelle). En effet, après l'excision par le complexe RISC, des fragments d'ARN pourraient être traduits grâce à des sites de liaison ribosomale alternatifs sur les ARNm de Gja1 (voir revue : Lucaciu et al. (2023)).

Il est aussi possible que l'effet anorexigène du TAT-Gap19 soit dû exclusivement à l'inhibition des Cx43HC dans l'HYP, sans implication du CVD dans cet effet. Néanmoins, comme mentionné précédemment, les travaux d'Allard et al. (2014) suggèrent que certains effets du TAT-Gap19 pourraient être liés à la fonction des cellules gliales extra-hypothalamiques. En effet, Allard et ses

collaborateurs ont rapporté que l'administration de siRNA ciblant la Cx43 dans le parenchyme hypothalamique perturbait la glucodétection, un effet que nous n'avons pas observé en ciblant le CVD et l'HYP. De plus, les auteurs n'ont pas relevé de modification spécifique de la prise alimentaire, notant que la réduction de l'apport alimentaire était également présente avec des siRNA inactifs.

Enfin, le TAT-Gap19 est internalisé dans tous les types cellulaires sans distinction, y compris les cellules endothéliales et microgliales, toutes deux connues pour exprimer la Cx43 (Orellana et al., 2011). Dans l'étude 3, l'approche était spécifique aux astrocytes du CVD. Par conséquent, il est possible que les effets observés ne soient pas dus à l'inhibition des hémicanaux de Cx43 dans les astrocytes du CVD, mais qu'ils impliquent d'autres types cellulaires.

Les cellules endothéliales expriment également la Cx43, formant des Cx43HC et des Cx43CJC. Ces structures jouent un rôle crucial dans le maintien de la barrière hémato-encéphalique (BHE). De Bock et al. (2014) ont exploré comment les hémicanaux des cellules endothéliales, y compris ceux formés par la Cx43, influencent la perméabilité de la BHE. Dans leur étude, ils ont analysé les effets de la bradykinine (BK), une substance connue pour augmenter la perméabilité capillaire en agissant sur les cellules endothéliales. *In vitro*, sur des cultures de cellules endothéliales cérébrales de rat, le blocage pharmacologique des hémicanaux constitués de Cx43 et de Cx37 par le Gap27 empêchait les changements de concentration intracellulaire de calcium ($[Ca^{2+}]i$) induits par la BK. *In vivo*, leur étude a montré que ce même bloqueur empêchait l'augmentation de la perméabilité de la BHE induite par la BK. Les auteurs ont observé que la BK provoque l'ouverture des hémicanaux, entraînant une entrée de Ca^{2+}. Cette entrée de calcium affecte l'expression des protéines des jonctions serrées et du cytosquelette, conduisant à une augmentation de la perméabilité de la BHE. Des travaux plus récents de cette équipe, étudiant les effets de la perte d'intégrité de la BHE induite par le LPS (lipopolysaccharide), soutiennent leur hypothèse initiale (Bock et al., 2022). Le Gap27, administré par voie intraveineuse et imperméable à la BHE, protégeait efficacement contre les fuites induites par le LPS. Leurs résultats suggèrent que l'activité des Cx43HC des cellules endothéliales contribue à la perte d'intégrité de la BHE. En transposant ces résultats à notre étude, il est envisageable que le blocage de l'ouverture des hémicanaux perturbe l'activité des cellules endothéliales et modifie l'accès des signaux métaboliques vers le parenchyme de l'ARC et du NTS, expliquant ainsi la modification de la prise alimentaire induite par le TAT-Gap19.

Par ailleurs, les tanycytes et les vagliocytes ne doivent pas être négligés. En effet, nous avons observé que la Cx43 est exprimée par une sous-population de tanycytes dans l'HYP et les vagliocytes du CVD. Compte tenu de leur contribution au contrôle de la prise alimentaire, mise en évidence ces dernières années (Elizondo-Vega et al., 2019; Guillebaud et al., 2020; Prevot et al., 2018; Troadec et al., 2022), nous pouvons supposer que ces cellules pourraient libérer, *via* les Cx43HC, des substances neuroactives agissant sur la régulation de l'équilibre énergétique. Le marquage au FITC du TAT-Gap19 biotinylé ou du TAT-Gap19-I14A, réalisé à différents moments après leur administration icv, a indiqué sa présence le long des ventricules, suggérant que le TAT-Gap19 peut inhiber l'activité des Cx43HC de ces cellules. Dans la troisième étude, les tanycytes n'étaient pas ciblés par les AAV, et les vagliocytes étaient peu affectés par l'expression des AAV.

Enfin, bien que nous ne puissions pas totalement exclure la possibilité que l'inhibition des Cx43HC affecte les cellules microgliales, ce scénario semble moins probable. La Cx43 est faiblement exprimée par la microglie dans des conditions basales, comme l'ont rapporté (Eugenín et al., 2001), indiquant que seulement 5 % des cellules microgliales issues de cultures primaires de rats et de souris expriment la Cx43. Dans un modèle de lésion cérébrale par incision, il a été démontré qu'environ 60 % des microglies activées en culture exprimaient la Cx43, probablement sous l'influence de médiateurs inflammatoires. Les cytokines pro-inflammatoires, telles que l'IL-1β et le TNF-α, sont souvent augmentées dans des conditions de suralimentation et d'obésité, états associés à des modifications morphologiques de la microglie (Thaler et al., 2012). Cependant, notre étude 1 a été menée chez des animaux nourris *ad libitum*, rendant peu probable une production significative de cytokines pro-inflammatoires.

III.3.2 - Hétérogénéité du compartiment glial

Les deux centres principaux de contrôle homéostatique de la prise alimentaire, l'HYP et le CVD, se distinguent par une grande diversité cellulaire. Ces structures abritent non seulement des populations neuronales variées, exprimant une multitude de neuropeptides, neurotransmetteurs et récepteurs distribués dans des populations distinctes ou chevauchantes (Jean, 1991; Zeisel et al., 2018), mais aussi une diversité importante de cellules gliales. Les grandes familles de cellules gliales, à savoir les astrocytes, les cellules microgliales et les oligodendrocytes, sont toutes présentes dans ces structures, avec des répartitions variables selon les noyaux et les régions spécifiques. Par exemple, les astrocytes GFAP$^+$ sont particulièrement abondants dans le parenchyme du NTS et presque absents dans l'AP (Pecchi et al., 2007); les oligodendrocytes sont peu nombreux dans le NTS, mais plus présents dans le DMNX. L'hétérogénéité au sein de chaque famille de cellules gliales est notable, non seulement entre grandes régions du SNC, mais aussi au niveau local, au sein de noyaux cellulaires particuliers (Zhang & Barres, 2010). Le CVD et l'HYP ne font évidemment pas exception.

Les astrocytes, qui constituent la principale population gliale dans l'ARC et le CVD, forment un ensemble hétérogène. L'exploration de cette diversité astrocytaire s'intensifie et révèle des différences non seulement morphologiques et moléculaires, mais aussi fonctionnelles (Khakh & Deneen, 2019). L'hétérogénéité moléculaire des astrocytes dépasse les distinctions classiques entre les types fibreux et protoplasmiques (Zeisel et al., 2018). Dans l'HYP, des travaux récents (Harkany et al., 2024) ont révélé cette diversité grâce à « AstroTRAP », une méthode d'apprentissage automatique qui stratifie les sous-populations astrocytaires selon leur localisation. Cette approche, a permis d'identifier des groupes d'astrocytes associés à des fonctions métaboliques spécifiques dans l'ARC, notamment la régulation de l'appétit, ainsi que le métabolisme des lipides et des hormones.

Dans le CVD, l'étude de cette hétérogénéité moléculaire commence également à émerger, mais avec un léger retard. Les études reposant sur du séquençage snRNA récemment disponibles (Dowsett et al., 2021; Ludwig, Cheng, et al., 2021; Ludwig, Todorov, et al., 2021; Zhang et al., 2021) offrent un aperçu prometteur de cette hétérogénéité moléculaire, et les travaux futurs permettront probablement de l'associer à des positions anatomiques plus précises.

Au-delà de l'hétérogénéité moléculaire, les avancées récentes permettent désormais d'explorer plus en détail l'hétérogénéité morphologique des astrocytes. Dans l'HYP et le CVD, étudier la morphologie des astrocytes constitue un défi majeur en raison de la densité cellulaire élevée dans l'ARC et le NTS. Dans le NTS (**Figure 51**), le marquage GFAP révèle un empaquetage dense des astrocytes. Dans notre étude, nous avons tenté de réaliser une étude à l'échelle cellulaire des modifications morphologiques induites par réduction d'expression de la Cx43 à l'aide d'une analyse Sholl. Cependant, au regard de la densité astrocytaire dans la région et la difficulté de différencier les prolongements d'un astrocyte de ceux de ses voisins, cette approche s'avère infructueuse. Des défis similaires sont rencontrés dans l'HYP, où la grande diversité des populations neuronales et la densité cellulaire compliquent l'étude morphologique. Li et al. (2023) ont développé une nouvelle méthode qui utilise l'iontophorèse de colorants fluorescents doubles, guidée par des protéines fluorescentes introduites *via* des AAV, pour examiner la morphologie des astrocytes adjacents. En appliquant cette méthode dans le VMH et la région CA1 de l'hippocampe, ils ont montré que, contrairement à ceux du CA1, les astrocytes du VMH présentent des territoires qui se chevauchent. Ce chevauchement suggère une hétérogénéité régionale des interactions entre astrocytes. Cette technique, adaptée aux régions où les astrocytes sont particulièrement rapprochés, pourrait être utile pour étudier les astrocytes du CVD. De manière intéressante, SheikhBahaei et al. (2018) ont également observé un chevauchement des territoires astrocytaires dans le NTS (voir **Figure 25**). On peut donc supposer que dans ces régions dédiées au contrôle de l'équilibre énergétique, les astrocytes sont organisés différemment de ceux d'autres régions cérébrales. Cette organisation particulière pourrait sous-tendre des fonctions spécifiques adaptées à la régulation énergétique.

L'hétérogénéité astrocytaire est également associée à une spécialisation fonctionnelle. Par exemple, dans l'HYP et le CVD, les astrocytes (ainsi que les tanycytes et les vagliocytes) expriment des récepteurs de la leptine (Dallaporta et al., 2009; Kim et al., 2014). Dans l'ARC, l'inactivation conditionnelle de Lepr dans les astrocytes chez la souris réduit la couverture synaptique par les astrocytes et altère la transmission synaptique des neurones AgRP et/ou POMC, induisant une résistance à la leptine et une hyperphagie accrue (Kim et al., 2014). Dans le CVD, l'expression de la leptine par les cellules gliales agit plutôt comme un médiateur des effets anorexigènes de cette hormone. En effet, Stein et al. (2020) ont montré que l'inhibition du métabolisme astrocytaire par le FC est associée à une réduction de la réponse calcique des neurones à la leptine *ex vivo* et réduit l'effet anorexigène *in vivo* (bien que non significatif). Fait intéressant, dans l'HYP, les astrocytes des différents noyaux ne réagissent pas de manière uniforme à un contexte d'obésité induite par l'alimentation. Chao et al. (2022) ont étudié l'impact d'un régime riche en graisses et en sucres sur l'activité des astrocytes dans plusieurs régions hypothalamiques, en mesurant les signaux de calcium (Ca^{2+}) *via* le capteur GCaMP6f. En comparant les astrocytes de souris obèses et de souris sous régime standard, ils ont constaté une augmentation des réponses calciques des astrocytes dans le noyau paraventriculaire (PVN), l'ARC et le noyau dorsomédial, tandis que le noyau VMH restait relativement épargné. Dans le PVN, l'obésité entraînait une augmentation de la fréquence et de l'amplitude des signaux de Ca^{2+} ainsi qu'une réduction de la durée de ces signaux. Bien que l'on ignore si ces réponses différentielles reflètent des fonctions distinctes des astrocytes dans ces noyaux, cette spécificité pourrait contribuer aux dysfonctionnements des circuits métaboliques et de la régulation de l'appétit observés dans l'obésité.

Par ailleurs, dans des conditions pathologiques, l'hétérogénéité du compartiment astrocytaire peut se complexifier davantage, avec des implications potentiellement significatives pour le fonctionnement des circuits neuronaux impliqués dans le contrôle de l'équilibre énergétique. En effet, les astrocytes du CVD et de l'HYP subissent des modifications morphologiques et moléculaires dans des contextes pathologiques, notamment en cas d'obésité, et deviennent souvent associés à un phénotype réactif (Escartin et al., 2021). Cependant, la réactivité des astrocytes n'est pas un processus « tout ou rien » : différents types d'astrocytes réactifs peuvent émerger pour compléter les fonctions neuronales de ces régions, alors que d'autres phénotypes sont associés aux effets délétères de la pathologie (Hasel et al., 2021; Makarava et al., 2023). Si l'hétérogénéité cellulaire des astrocytes dans des contextes pathologiques commence à être bien caractérisée dans l'HYP grâce aux études de séquençage ARN, ce niveau de détail reste encore à explorer dans le CVD (González-García & García-Cáceres, 2021).

En plus de ces grandes familles cellulaires, ces régions contiennent des cellules gliales spécifiques à savoir les tanycytes et les vagliocytes. Ces cellules épendymogliales bordent respectivement le 3V et le 4V. Elles sont situées à proximité des capillaires fenestrés des organes circumventriculaires, du liquide céphalorachidien, et des réseaux neuronaux dédiés au contrôle de la balance énergétique, et ainsi particulièrement bien placées pour capter les signaux métaboliques issus de la périphérie et moduler la prise alimentaire. Ces deux populations de cellules expriment la Cx43 à la fois dans leurs corps cellulaires et dans leurs prolongements. Comme mentionné précédemment, ces cellules sont ciblées par le peptide TAT-Gap19, mais pas par l'approche AAV, et compte tenu de leur rôle dans le contrôle de la prise alimentaire, nous avons émis l'hypothèse qu'elles pourraient participer aux effets anorexigènes observés en réponse au blocage de l'ouverture des Cx43HC. Un lien entre les Cx43HC des tanycytes et la régulation de l'équilibre énergétique a déjà été établi. Sur des cultures primaires de tanycytes de rat, Orellana et al. (2012) ont rapporté que ces cellules répondaient à une augmentation de la concentration de glucose extracellulaire (2-10 mM) par une élévation de la $[Ca^{2+}]_i$ et libéraient de l'ATP en retour. Leur étude, utilisant la capture d'EtBr et le blocage pharmacologique des hémicanaux, indique que l'ATP est libérée par les Cx43HC et agit en induisant une libération de calcium *via* les récepteurs IP3 à partir des réserves du réticulum endoplasmique. Plus récemment, Lhomme et al. (2021) ont rapporté *in vivo* un rôle des Cx43GJ des tanycytes dans le transfert de lactate vers les neurones POMC, sans toutefois exclure une contribution des Cx43HC dans ce processus. En effet, l'augmentation des niveaux de lactate dans le noyau arqué mesuré par

microdialyse en réponse à une injection de glucose chez les souris $Cx43^{LoxP/LoxP}$, n'était pas présent chez les souris dont la Cx43 est délétée dans les tanycytes. Dans ce modèle de délétion, les auteurs ont également observé une réduction de l'expression de Glut2 et de la lactate déshydrogénase dans les tanycytes, suggérant un approvisionnement limité en lactate des neurones de l'ARC en raison d'une altération de la communication des tanycytes *via* les jonctions communicantes. Concernant les vagliocytes, aucune étude n'a exploré le rôle des communications par GJ de cette population cellulaire. Cependant, à l'instar des tanycytes, les vagliocytes expriment GLUT2, un transporteur essentiel dans la régulation de l'homéostasie du glucose, et sont capables de libérer des gliotransmetteurs comme l'octadécaneuropeptide (ODN), une molécule connue pour son effet anorexigène (Compère et al., 2010; Guillebaud et al., 2017, 2020; Lanfray et al., 2013). Dans l'étude 2, nous avons mis au point un protocole permettant de cibler spécifiquement les vagliocytes par l'administration d'une recombinase couplée à une séquence TAT, similaire à celle utilisée pour le Gap19. Cependant, cette approche n'a pu être appliquée pour la délétion de Cx43 en raison de l'hypomorphisme important observé chez le modèle $Cx43^{LoxP/LoxP}$ avant recombinaison que nous avons utilisé. Il existe néanmoins un autre modèle transgénique $Cx43^{LoxP/LoxP}$ (B6.129S7-Gja1tm1Dlg/J) non associé à cette réduction basale d'expression. La poursuite de l'étude 2 avec ce modèle représenterait une véritable opportunité pour étudier la contribution des vagliocytes au contrôle de l'équilibre énergétique.

Dans le cadre de mon projet, j'ai ciblé des populations larges de cellules gliales en bloquant l'activité des Cx43HC dans les astrocytes, vagliocytes, cellules microgliales et cellules endothéliales de l'HYP et du CVD (étude 1). Même si l'expression est majoritairement associée aux astrocytes et tanycytes/vagliocytes, rien n'indique que les effets observés sont exclusivement associés à une action sur ces cellules. Dans l'étude 2, j'ai spécifiquement réduit l'expression de la Cx43 dans les astrocytes du CVD mais cette approche pourrait avoir ciblée plusieurs sous-populations aux fonctions différentes et engendré des effets différenciés selon la localisation des astrocytes, leur profil moléculaire et leurs fonctions. Par exemple, les astrocytes situés à proximité du tractus solitaire jouent un rôle dans la modulation de l'intégration des afférences vagales par les neurones du NTS de second ordre (**Figure 28**). À l'inverse, les astrocytes situés à proximité des vaisseaux sanguins ou à la frontière entre l'AP et le NTS pourraient plutôt faciliter l'intégration des signaux métaboliques provenant de la circulation sanguine. En touchant de manière identique ces populations cellulaires aux fonctions distinctes, il est possible que nous ayons renforcé l'intégration des signaux métaboliques véhiculés par le nerf vague tout en limitant celle des signaux sanguins, ce qui pourrait expliquer l'absence d'effet observé sur l'équilibre énergétique.

III.3.3 - Nécessité d'une meilleure caractérisation des réseaux astrocytaires du CVD

Pour mieux comprendre la diversité des astrocytes du CVD, une approche pourrait consister à caractériser les réseaux cellulaires des différentes sous-régions. Ces réseaux cellulaires partagent des métabolites, nutriments et petits messagers chimiques, du calcium et peuvent coordonner les réponses locales aux signaux métaboliques et neuronaux. Ils peuvent, ainsi, permettre d'appréhender l'hétérogénéité fonctionnelle d'une structure.

Le chevauchement des territoires astrocytaires mis en évidence dans l'hypothalamus (Li et al., 2023) et suggéré dans le NTS (SheikhBahaei et al., 2018, **Figure 25**) pourrait indiquer un niveau élevé de communication jonctionnelle dans ces deux régions. Dans l'HYP, plusieurs études ont déjà décrit un couplage par jonctions communicantes entre les tanycytes. Ces travaux ont mis en évidence non seulement un couplage entre les tanycytes α et β, mais aussi entre les tanycytes β et les neurones hypophysiotropes (Jarvis & Andrew, 1988; Szilvásy-Szabó et al., 2017). Recabal et al. (2018) ont approfondi l'étude de ces jonctions communicantes en utilisant des tranches aiguës d'hypothalamus de souris transgéniques hGFAP-EGFP. En remplissant des tanycytes

individuels avec de la biocytine lors d'enregistrements patch-clamp, ils ont pu observer la propagation de cette molécule, vers les cellules du parenchyme, principalement des astrocytes EGFP-positifs et, occasionnellement, des oligodendrocytes. Lorsque la Cx43 était délétée dans les astrocytes *via* le promoteur GFAP, la diffusion de la biocytine entre tanycytes et cellules parenchymateuses était empêchée, bien que le couplage entre les α-tanycytes eux-mêmes ne soit pas entièrement supprimé (indiquant une possible implication de la Cx45). Ces résultats suggèrent que le réseau formé par certains tanycytes et astrocytes pourrait coordonner les signaux provenant du LCS (*via* les tanycytes) et de la circulation périphérique (*via* les astrocytes), permettant une réponse intégrée et efficace à travers les interfaces sang/cerveau/LCS dans ces régions. Concernant les astrocytes du parenchyme, le couplage dans l'HYP n'a pas été décrit en détail. Avec leur méthode «AstroTRAP » déjà mentionnée, Harkany et al. (2024) ont identifié que Gja1 était un des rares marqueurs stable (bien que présentant une certaine variabilité) des astrocytes dans l'HYP, suggérant que la Cx43 joue un rôle clé dans leurs fonctions métaboliques. Ces résultats ont été confirmés par hybridation *in situ*, renforçant l'idée que les astrocytes fonctionnent en réseau, bien que le couplage n'ait pas été évalué directement. Par ailleurs Allard et al. (2014) proposent que les réseaux d'astrocytes interconnectés par des jonctions communicantes, permettent le transport du glucose vers les neurones, et bien que l'étendue de ce réseau reste à déterminer.

À ce jour, aucune étude, à ma connaissance, n'a exploré en détail le couplage des cellules gliales au sein du CVD. Dans le cadre de mon projet de recherche, il serait pertinent d'étudier le couplage de ces cellules afin : 1) d'évaluer l'étendue des réseaux astrocytaires et pangliaux dans le CVD, en vérifiant si le chevauchement des territoires astrocytaires observé dans ces régions (**Figure 25**) est associé à un couplage cellulaire accru ; 2) de tester comment ce couplage est modifié par des changements du statut nutritionnel ; 3) de vérifier, d'un point de vue fonctionnel, les conséquences de l'interférence ARN sur la communication par jonctions communicantes. Cette étude aurait permis de vérifier que les astrocytes transduits par les AAV-shARN-Cx43 ne maintiennent pas de couplage entre eux ni avec d'autres cellules gliales, fournissant des informations précieuses sur l'impact de la perturbation de la Cx43 sur la communication cellulaire dans ces réseaux. Pour cela, des tranches aiguës auraient pu être préparées à partir d'animaux ayant préalablement reçu une administration d'AAV-shARN-Cx43 ou d'AVV-shARN-Scramble. La fluorescence préalable des astrocytes aurait facilité leur détection, et le patch de la cellule nécessaire à l'injection d'un colorant tel que la sulforhodamine B dans un astrocyte unique. Après un temps suffisant pour permettre la diffusion du colorant à travers les jonctions communicantes, la fixation des tranches et l'analyse histologiques auraient fourni un aperçu du couplage par les jonctions communicantes. Ces expériences auraient pu être menées sur des animaux avec des modifications préalables du statut nutritionnel (jeûne, obésité). Cela nécessite toutefois une expertise en patch-clamp des astrocytes sur des tissus de souris âgées (injection à 8 semaines suivie de 3 semaines pour l'incorporation et l'expression des vecteurs viraux).

III.4 - CONCLUSION

L'objectif principal de mon projet de thèse était de mieux comprendre comment les cellules gliales contribuent au maintien de l'équilibre énergétique. Pour ce faire, nous avons ciblé les complexes protéiques constitués de connexines, à savoir les HC et les CJC, car ils jouent un rôle essentiel dans les échanges entre astrocytes, la communication entre différents types de cellules gliales, ainsi que dans les interactions neurogliales. Nous avons formulé l'hypothèse qu'une perturbation de la communication paracrine et autocrine *via* les HC, ou des réseaux intercellulaires *via* les JC gliaux, pourrait perturber l'équilibre énergétique. La première phase du projet a confirmé que la communication à travers les Cx43HC a confirmé cette hypothèse : le blocage spécifique des Cx43HC réduisait la prise alimentaire et était associé à une activité neuronale accrue dans les centres de contrôle homéostatique de la prise alimentaire, l'HYP et le CVD.

Pour poursuivre ce travail, je me suis ensuite focalisé sur les cellules gliales du CVD. J'ai mis au point un modèle permettant une réduction massive de l'expression de la Cx43 dans les astrocytes de cette région, compromettant ainsi à la fois la communication *via* les JC et l'activité des HC de ces cellules. À l'échelle cellulaire, cette diminution d'expression a provoqué un remodelage notable du compartiment glial, se traduisant par une augmentation de la taille des astrocytes et une augmentation globale de leur couverture au sein du CVD. De plus, les cellules microgliales ont été affectées, affichant une augmentation drastique du nombre de leurs ramifications. Étonnamment, malgré ces changements profonds, l'équilibre énergétique est resté inchangé : aucune modification significative du poids corporel, de la prise alimentaire, des dépenses énergétiques ni des régulations glycémiques n'a été observée dans la fenêtre de temps étudiée (i.e. 9 semaines post-injection). Même les réponses à une surcharge calorique induite par un régime obésogène de 12 semaines sont demeurées inchangées.

Ce contraste saisissant entre la forte réduction de l'expression de la Cx43, le remodelage profond du compartiment glial et l'absence de perturbation de l'équilibre énergétique interpelle, surtout au vu des preuves croissantes dans la littérature impliquant les astrocytes du CVD dans le contrôle de la balance énergétique (MacDonald et al., 2019; Martinez & Kline, 2021; Troadec et al., 2022, **Figure 30**).

Nous proposons que le CVD possède une robustesse intrinsèque face aux perturbations homéostatiques, surpassant peut-être celle d'autres structures cérébrales comme l'hypothalamus. En effet, le CVD est une structure fondamentale du tronc cérébral, hautement conservée, impliquée dans le contrôle autonome de fonctions vitales telles que la prise alimentaire, l'homéostasie glucidique, la respiration et la fréquence cardiaque (Barraco, 1994; Jean, 1991). Des altérations majeures des circuits neuronaux du CVD pourraient entraîner des conséquences délétères sur la survie de l'organisme. Cette robustesse, généralement attribuée aux neurones, est associée à leur capacité d'ajuster leur excitabilité en réponse à des changements internes, tels que le niveau de calcium intracellulaire. Le maintien d'une activité stable est observé dans des circuits neuronaux simples chez les invertébrés et dans des systèmes plus complexes chez les vertébrés, bien que les mécanismes sous-jacents restent à élucider (pour revue, voir Carlini & Wagner (2017); Dickman & Wondolowski (2013); Northcutt & Schulz (2020); Turrigiano (2011)). Cette propriété a été décrite pour les réseaux de générateurs de patrons centraux (Central Pattern Generators, CPGs), qui produisent des motifs rythmiques pour des comportements répétitifs tels que la locomotion, la respiration et la digestion, indépendamment des rétroactions sensorielles (pour revue, voir Northcutt & Schulz, (2020)). Le NTS est connecté à plusieurs CPGs, notamment ceux impliqués dans la respiration (complexe pré-Bötzinger) et la déglutition (région de la formation réticulaire), et coordonne des réponses réflexes sympathiques et respiratoires en relayant les signaux des chimiorécepteurs et barorécepteurs périphériques (Alheid et al., 2011; Wang et al., 2024; Zoccal et al., 2014). Dans cette perspective, Gannot et al. (2024) ont récemment proposé un réseau neuronal impliquant plusieurs sous-populations neuronales du NTS qui contrôle les comportements défensifs de type toux chez la souris. De plus,

le CVD joue un rôle central dans l'intégration des signaux déclenchant le vomissement, un comportement rythmique complexe impliquant la coordination de multiples groupes musculaires, souvent considéré comme basé sur un CPG (Babic & Browning, 2014; Hornby, 2001).

Le maintien des activités rythmiques et vitales assurées par le CVD est primordial pour préserver les fonctions autonomes essentielles à la survie. Cette nécessité de stabilité pourrait s'étendre à l'ensemble de la structure, car ces activités rythmiques requièrent une intégration intacte des afférences vagales, et certains neurones de second ordre recevant ces signaux participent au contrôle de l'équilibre énergétique. Nos résultats apportent un éclairage nouveau et pourraient soutenir l'hypothèse d'une robustesse neuronale face à une altération du compartiment glial. Une autre perspective, étayée par le rôle important des astrocytes du CVD dans les régulations du système cardiovasculaire et des fonctions autonomes (Agulhon et al., 2013; Gourine et al., 2010; Kasymov et al., 2013; MacDonald et al., 2019; SheikhBahaei et al., 2018), est que les astrocytes du CVD eux-mêmes pourraient posséder une capacité d'adaptation remarquable aux perturbations de leur environnement interne, afin de maintenir l'homéostasie dans cette région cruciale pour la survie de l'organisme. Ainsi, l'observation d'un remodelage glial associé à une réduction de l'expression de la Cx43, sans altération des fonctions physiologiques, pourrait révéler un rôle fondamental des cellules gliales du CVD : une résilience exceptionnelle face à des perturbations majeures de leurs voies de communication.

IV. Bibliographie

Ⓐ Article original Ⓡ Revue de la littérature, Livres Ⓜ Matériels et Méthodes Ⓣ Références de l'équipe d'accueil **Annotation des références clés de mon projet de thèse**

A

Ⓐ Aars, N. A., & Jacobsen, B. K. (2016). Longitudinal changes in desired body weight compared to changes in body weight: Evidence of adaptation to weight gain? *BMC Obesity*, *3*(1), 40. https://doi.org/10.1186/s40608-016-0120-6

Ⓡ Abbott, N. J., Patabendige, A. A. K., Dolman, D. E. M., Yusof, S. R., & Begley, D. J. (2010). Structure and function of the blood–brain barrier. Neurobiology of Disease, 37(1), 13-25. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.07.030.

Ⓐ Abdyeva, A., Kurtova, E., Savinkova, I., Galkov, M., & Gorbacheva, L. (2024). Long-Term Exposure of Cultured Astrocytes to High Glucose Impact on Their LPS-Induced Activation. International Journal of Molecular Sciences, 25(2), 1122. https://doi.org/10.3390/ijms25021122

ⒶⓂ Abudara, V., Bechberger, J., Freitas-Andrade, M., De Bock, M., Wang, N., Bultynck, G., Naus, C. C., Leybaert, L., & Giaume, C. (2014). The connexin43 mimetic peptide Gap19 inhibits hemichannels without altering gap junctional communication in astrocytes. Frontiers in Cellular Neuroscience, 8, 306. https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00306 **Description des effets du Gap19 sur l'activité hémicanal des astrocytes et du TAT-Gap19, utilisé dans l'étude 1, avec des approches *ex vivo, in situ* et *in vivo*.**

Ⓡ Abudara, V., Retamal, M. A., Del Rio, R., & Orellana, J. A. (2018). Synaptic Functions of Hemichannels and Pannexons : A Double-Edged Sword. Frontiers in Molecular Neuroscience, 11, 435. https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00435.

Ⓐ Abudara, V., Roux, L., Dallérac, G., Matias, I., Dulong, J., Mothet, J. P., Rouach, N., & Giaume, C. (2015). Activated microglia impairs neuroglial interaction by opening Cx43 hemichannels in hippocampal astrocytes. Glia, 63(5), 795-811. https://doi.org/10.1002/glia.22785

Ⓐ Abukar, Y., May, C. N., & Ramchandra, R. (2016). Role of endothelin-1 in mediating changes in cardiac sympathetic nerve activity in heart failure. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 310(1), R94-R99. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00205.2015

Ⓐ Accorsi-Mendonça, D., Almado, C. E. L., Bonagamba, L. G. H., Castania, J. A., Moraes, D. J. A., & Machado, B. H. (2015). Enhanced Firing in NTS Induced by Short-Term Sustained Hypoxia Is Modulated by Glia-Neuron Interaction. Journal of Neuroscience, 35(17), 6903-6917. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4598-14.2015

Ⓐ Accorsi-Mendonça, D., Bonagamba, L. G. H., & Machado, B. H. (2019). Astrocytic modulation of glutamatergic synaptic transmission is reduced in NTS of rats submitted to short-term sustained hypoxia. Journal of Neurophysiology, 121(5), 1822-1830. https://doi.org/10.1152/jn.00279.2018

Ⓐ Accorsi-Mendonça, D., Zoccal, D. B., Bonagamba, L. G. H., & Machado, B. H. (2013). Glial cells modulate the synaptic transmission of NTS neurons sending projections to ventral medulla of Wistar rats. Physiological Reports, 1(4), e00080. https://doi.org/10.1002/phy2.80 **Résultats *ex vivo* suggérant une contribution tonique (par la libération de purines) des astrocytes à la transmission des afférences vagales.**

Ⓐ Acuna-Goycolea, C., & van den Pol, A. (2004). Glucagon-Like Peptide 1 Excites Hypocretin/Orexin Neurons by Direct and Indirect Mechanisms : Implications for Viscera-Mediated Arousal. The Journal of Neuroscience, 24(37), 8141-8152. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1607-04.2004

Ⓐ Adachi, A., Kobashi, M., & Funahashi, M. (1995). Glucose-Responsive Neurons In the Brainstem. Obesity Research, 3(S5), 735S-740S. https://doi.org/10.1002/j.1550-8528.1995.tb00493.x

Ⓡ Adan, R. A. H., Vanderschuren, L. J. M. J., & Fleur, S. E. la. (2008). Anti-obesity drugs and neural circuits of feeding. Trends in Pharmacological Sciences, 29(4), 208-217. https://doi.org/10.1016/j.tips.2008.01.008

Ⓡ Adela, R., & Banerjee, S. K. (2015). GDF-15 as a Target and Biomarker for Diabetes and Cardiovascular Diseases: A Translational Prospective. Journal of Diabetes Research, 2015(1), 490842. https://doi.org/10.1155/2015/490842

Ⓡ Adolph, E. F. (1961). Early Concepts of Physiological Regulations. Physiological Reviews, 41(4), 737-770. https://doi.org/10.1152/physrev.1961.41.4.737

Ⓐ Ady, V., Perroy, J., Tricoire, L., Piochon, C., Dadak, S., Chen, X., Dusart, I., Fagni, L., Lambolez, B., & Levenes, C. (2014). Type 1 metabotropic glutamate receptors (mGlu1) trigger the gating of GluD2 delta glutamate receptors. EMBO Reports, 15(1), 103-109. https://doi.org/10.1002/embr.201337371

Ⓡ Agnati, L. F., Guidolin, D., Guescini, M., Genedani, S., & Fuxe, K. (2010). Understanding wiring and volume transmission. Brain Research Reviews, 64(1), 137-159. https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2010.03.003

Ⓐ Agulhon, C., Boyt, K. M., Xie, A. X., Friocourt, F., Roth, B. L., & McCarthy, K. D. (2013). Modulation of the autonomic nervous system and behaviour by acute glial cell Gq protein-coupled receptor activation in vivo. The Journal of Physiology, 591(22), 5599-5609. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.261289

Ⓡ Ahima, R. S., Prabakaran, D., Mantzoros, C., Qu, D., Lowell, B., Maratos-Flier, E., & Flier, J. S. (1996). Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. Nature, 382(6588), 250-252. https://doi.org/10.1038/382250a0

Ⓡ Ahn, B. H., Kim, M., & Kim, S.-Y. (2022). Brain circuits for promoting homeostatic and non-homeostatic appetites. Experimental & Molecular Medicine, 54(4), Article 4. https://doi.org/10.1038/s12276-022-00758-4

Ⓐ Aklan, I., Sayar Atasoy, N., Yavuz, Y., Ates, T., Coban, I., Koksalar, F., Filiz, G., Topcu, I. C., Oncul, M., Dilsiz, P., Cebecioglu, U., Alp, M. I., Yilmaz, B., Davis, D. R., Hajdukiewicz, K., Saito, K., Konopka, W., Cui, H., & Atasoy, D. (2020). NTS Catecholamine Neurons Mediate Hypoglycemic Hunger via Medial Hypothalamic Feeding Pathways. Cell Metabolism, 31(2), 313-326.e5. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.11.016. **Première description de projections orexigènes impliquant des neurones du NTS. Les neurones NTSTH envoient des projections excitatrices vers les neurones ARC^{AgRP}.**

Ⓡ Alcantara, I. C., Tapia, A. P. M., Aponte, Y., & Krashes, M. J. (2022). Acts of appetite : Neural circuits governing the appetitive, consummatory, and terminating phases of feeding. Nature Metabolism, 4(7), 836-847. https://doi.org/10.1038/s42255-022-00611-y

Ⓐ Alhadeff, A. L., Baird, J.-P., Swick, J. C., Hayes, M. R., & Grill, H. J. (2014). Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Signaling in the Lateral Parabrachial Nucleus Contributes to the Control of Food Intake and Motivation to Feed. Neuropsychopharmacology, 39(9), 2233-2243. https://doi.org/10.1038/npp.2014.74

Ⓐ Alheid, G. F., Jiao, W., & McCrimmon, D. R. (2011). Caudal nuclei of the rat nucleus of the solitary tract differentially innervate respiratory compartments within the ventrolateral medulla. Neuroscience, 190, 207-227. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.06.005

Ⓐ Allard, C., Carneiro, L., Grall, S., Cline, B. H., Fioramonti, X., Chrétien, C., Baba-Aissa, F., Giaume, C., Pénicaud, L., & Leloup, C. (2014). Hypothalamic astroglial connexins are required for brain glucose sensing-induced insulin secretion. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 34(2), 339-346. https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.206. **Implication des jonctions communicantes et hémicanaux de Cx43 dans le maintien de l'équilibre énergétique (homéostasie du glucose). siARN dirigés contre la Cx43 dans le parenchyme hypothalamique de rats.**

Ⓜ Allen Institute for Brain Science, Glattfelder, K., Ng, L., & Morris, J. (2008). Area Postrema. Nature Precedings. https://doi.org/10.1038/npre.2008.2053.1

Ⓡ Allen, N. J., & Barres, B. A. (2009). Glia—More than just brain glue. Nature, 457(7230), 675-677. https://doi.org/10.1038/457675a

Ⓡ Allen, N. J., & Lyons, D. A. (2018). Glia as architects of central nervous system formation and function. Science, 362(6411), 181-185. https://doi.org/10.1126/science.aat0473

Ⓡ Almeida, P. G. C., Nani, J. V., Oses, J. P., Brietzke, E., & Hayashi, M. A. F. (2020). Neuroinflammation and glial cell activation in mental disorders. Brain, Behavior, & Immunity - Health, 2, 100034. https://doi.org/10.1016/j.bbih.2019.100034

Ⓐ Alonge, K. M., Mirzadeh, Z., Scarlett, J. M., Logsdon, A. F., Brown, J. M., Cabrales, E., Chan, C. K., Kaiyala, K. J., Bentsen, M. A., Banks, W. A., Guttman, M., Wight, T. N., Morton, G. J., & Schwartz, M. W. (2020). Hypothalamic perineuronal net assembly is required for sustained diabetes remission induced by fibroblast growth factor 1 in rats. Nature metabolism, 2(10), 1025-1033. https://doi.org/10.1038/s42255-020-00275-6

Ⓐ Alonso, A. M., Cork, S. C., Phuah, P., Hansen, B., Norton, M., Cheng, S., Xu, X., Suba, K., Ma, Y., Dowsett, G. KC., Tadross, J. A., Lam, B. YH., Yeo, G. SH., Herzog, H., Bloom, S. R., Arnold, M., Distaso, W., Murphy, K. G., & Salem, V. (2024). The vagus nerve mediates the physiological but not pharmacological effects of PYY3-36 on food intake. Molecular Metabolism, 81, 101895. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2024.101895

Ⓐ Altevogt, B. M., & Paul, D. L. (2004). Four Classes of Intercellular Channels between Glial Cells in the CNS. Journal of Neuroscience, 24(18), 4313-4323. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3303-03.2004

Ⓐ Amuzie, C. J., Harkema, J. R., & Pestka, J. J. (2008). Tissue distribution and proinflammatory cytokine induction by the trichothecene deoxynivalenol in the mouse : Comparison of nasal vs. oral exposure. Toxicology, 248(1), 39-44. https://doi.org/10.1016/j.tox.2008.03.005

Ⓡ Andermann, M. L., & Lowell, B. B. (2017). Toward a Wiring Diagram Understanding of Appetite Control. Neuron, 95(4), 757-778. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.06.014

Ⓡ Andersen, J. V., Schousboe, A., & Wellendorph, P. (2023). Astrocytes regulate inhibitory neurotransmission through GABA uptake, metabolism, and recycling. Essays in Biochemistry, 67(1), 77-91. https://doi.org/10.1042/EBC20220208

Ⓡ Anderson, J. M., & Van Itallie, C. M. (2009). Physiology and Function of the Tight Junction. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 1(2), a002584. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a002584

Ⓐ Anderson, J. W., Konz, E. C., Frederich, R. C., & Wood, C. L. (2001). Long-term weight-loss maintenance : A meta-analysis of US studies. The American Journal of Clinical Nutrition, 74(5), 579-584. https://doi.org/10.1093/ajcn/74.5.579

Ⓡ Andresen, M. C., & Paton, J. F. R. (2011). The Nucleus of the Solitary Tract : Processing Information from Viscerosensory Afferents. In Central Regulation of Autonomic Functions. Oxford University Press. https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195306637.003.0002

Ⓡ Andrews, Z. B. (2011). Central mechanisms involved in the orexigenic actions of ghrelin. Peptides, 32(11), 2248-2255. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2011.05.014

Ⓐ Anselmi, F., Hernandez, V. H., Crispino, G., Seydel, A., Ortolano, S., Roper, S. D., Kessaris, N., Richardson, W., Rickheit, G., Filippov, M. A., Monyer, H., & Mammano, F. (2008). ATP release through connexin hemichannels and gap junction transfer of second messengers propagate Ca2+ signals across the inner ear. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 105(48), 18770-18775. https://doi.org/10.1073/pnas.0800793105

Ⓐ Appleyard, S. M. (2005). Proopiomelanocortin Neurons in Nucleus Tractus Solitarius Are Activated by Visceral Afferents : Regulation by Cholecystokinin and Opioids. Journal of Neuroscience, 25(14), Article 14. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4177-04.2005. **Caractérisation des neurones du NTS de « second ordre », qui reçoivent des entrées directes des afférences vagales.**

Ⓐ Appleyard, S. M., Marks, D., Kobayashi, K., Okano, H., Low, M. J., & Andresen, M. C. (2007). Visceral Afferents Directly Activate Catecholamine Neurons in the Solitary Tract Nucleus. Journal of Neuroscience, 27(48), 13292-13302. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3502-07.2007. **Caractérisation des neurones du NTS de « second ordre », qui reçoivent des entrées directes des afférences vagales.**

Ⓐ Araque, A., Martín, E. D., Perea, G., Arellano, J. I., & Buño, W. (2002). Synaptically released acetylcholine evokes Ca2+ elevations in astrocytes in hippocampal slices. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 22(7), 2443-2450. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-07-02443.2002

Ⓡ Araque, A., Parpura, V., Sanzgiri, R. P., Haydon, P. G., Araque, A., Parpura, V., Sanzgiri, R. P., & Haydon, P. G. (1999). Tripartite synapses : Glia, the unacknowledged partner. Trends in Neurosciences, 22(5), 208-215. https://doi.org/10.1016/S0166-2236(98)01349-6

Ⓐ Arcuino, G., Lin, J. H.-C., Takano, T., Liu, C., Jiang, L., Gao, Q., Kang, J., & Nedergaard, M. (2002). Intercellular calcium signaling mediated by point-source burst release of ATP. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 99(15), 9840-9845. https://doi.org/10.1073/pnas.152588599

Ⓡ Argente-Arizón, P., Freire-Regatillo, A., Argente, J., & Chowen, J. A. (2015). Role of non-neuronal cells in body weight and appetite control. Frontiers in Endocrinology, 6, 42. https://doi.org/10.3389/fendo.2015.00042 **Revue de la littérature décrivant comment les cellules gliales participent au contrôle systémique de la balance énergétique.**

Ⓡ Arluison, M., Quignon, M., Nguyen, P., Thorens, B., Leloup, C., & Penicaud, L. (2004). Distribution and anatomical localization of the glucose transporter 2 (GLUT2) in the adult rat brain—An immunohistochemical study. Journal of Chemical Neuroanatomy, 28(3), 117-136. https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2004.05.009. **Les astrocytes expriment des transporteurs du glucose, principalement GLUT1 et GLUT2.**

Ⓐ Armstrong, D. M., Manley, L., Haycock, J. W., & Hersh, L. B. (1990). Co-localization of choline acetyltransferase and tyrosine hydroxylase within neurons of the dorsal motor nucleus of the vagus. Journal of Chemical Neuroanatomy, 3(2), 133-140.

Ⓡ Aronne, L. J. (2002). Classification of Obesity and Assessment of Obesity-Related Health Risks. Obesity Research, 10(S12), 105S-115S. https://doi.org/10.1038/oby.2002.203

Ⓐ Arosio, M., Ronchi, C. L., Beck-Peccoz, P., Gebbia, C., Giavoli, C., Cappiello, V., Conte, D., & Peracchi, M. (2004). Effects of modified sham feeding on ghrelin levels in healthy human subjects. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 89(10), 5101-5104. https://doi.org/10.1210/jc.2003-032222

Ⓡ Asarian, L., & Bächler, T. (2014). Neuroendocrine control of satiation. Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation, 19(3), 163-192. https://doi.org/10.1515/hmbci-2014-0010

Atwater, W. O., & Bryant, A. P. (1899). The Chemical Composition of American Food Materials. U.S. Government Printing Office.

® Augusto-Oliveira, M., Arrifano, G. P., Delage, C. I., Tremblay, M.-È., Crespo-Lopez, M. E., & Verkhratsky, A. (2022). Plasticity of microglia. Biological Reviews, 97(1), 217-250. https://doi.org/10.1111/brv.12797

® Auwerx, J., & Staels, B. (1998). Leptin. The Lancet, 351(9104), 737-742. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)06348-4

Ⓐ Avendaño, B. C., Montero, T. D., Chávez, C. E., von Bernhardi, R., & Orellana, J. A. (2015). Prenatal exposure to inflammatory conditions increases Cx43 and Panx1 unopposed channel opening and activation of astrocytes in the offspring effect on neuronal survival. Glia, 63(11), 2058-2072. https://doi.org/10.1002/glia.22877

Ⓐ Axelsen, L. N., Stahlhut, M., Mohammed, S., Larsen, B. D., Nielsen, M. S., Holstein-Rathlou, N.-H., Andersen, S., Jensen, O. N., Hennan, J. K., & Kjølbye, A. L. (2006). Identification of ischemia-regulated phosphorylation sites in connexin43 : A possible target for the antiarrhythmic peptide analogue rotigaptide (ZP123). Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 40(6), 790-798. https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2006.03.005

Ⓐ Azcona-Olivera, J. I., Ouyang, Y., Murtha, J., Chu, F. S., & Pestka, J. J. (1995). Induction of cytokine mRNAs in mice after oral exposure to the trichothecene vomitoxin (deoxynivalenol) : Relationship to toxin distribution and protein synthesis inhibition. Toxicology and Applied Pharmacology, 133(1), 109-120. https://doi.org/10.1006/taap.1995.1132

® Azevedo, E. P., Ivan, V. J., Friedman, J. M., & Stern, S. A. (2022). Higher-Order Inputs Involved in Appetite Control. Biological Psychiatry, 91(10), 869-878. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2021.07.015

B

® Babic, T., & Browning, K. N. (2014). The role of vagal neurocircuits in the regulation of nausea and vomiting. European Journal of Pharmacology, 722, 38-47. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.08.047

Ⓐ Babic, T., Browning, K. N., Kawaguchi, Y., Tang, X., & Travagli, R. A. (2012). Pancreatic insulin and exocrine secretion are under the modulatory control of distinct subpopulations of vagal motoneurones in the rat. The Journal of Physiology, 590(Pt 15), 3611-3622. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.234955

Ⓐ Babic, T., Browning, K. N., & Travagli, R. A. (2011). Differential organization of excitatory and inhibitory synapses within the rat dorsal vagal complex. American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology, 300(1), G21-G32. https://doi.org/10.1152/ajpgi.00363.2010

Ⓐ Babic, T., Townsend, R. L., Patterson, L. M., Sutton, G. M., Zheng, H., & Berthoud, H.-R. (2009). Phenotype of neurons in the nucleus of the solitary tract that express CCK-induced activation of the ERK signaling pathway. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 296(4), R845-R854. https://doi.org/10.1152/ajpregu.90531.2008

Ⓐ Bach, E. C., Halmos, K. C., & Smith, B. N. (2015). Enhanced NMDA Receptor-Mediated Modulation of Excitatory Neurotransmission in the Dorsal Vagal Complex of Streptozotocin-Treated, Chronically Hyperglycemic Mice. PLOS ONE, 10(3), e0121022. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121022

Ⓐ Bagnol, D., Lu, X. Y., Kaelin, C. B., Day, H. E., Ollmann, M., Gantz, I., Akil, H., Barsh, G. S., & Watson, S. J. (1999). Anatomy of an endogenous antagonist : Relationship between Agouti-related protein and proopiomelanocortin in brain. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 19(18), RC26. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-18-j0004.1999

Ⓐ Bailey, T. W., Appleyard, S. M., Jin, Y.-H., & Andresen, M. C. (2008). Organization and Properties of GABAergic Neurons in Solitary Tract Nucleus (NTS). Journal of Neurophysiology, 99(4), 1712-1722. https://doi.org/10.1152/jn.00038.2008

® Bains, J. S., & Oliet, S. H. R. (2007). Glia : They make your memories stick! Trends in Neurosciences, 30(8), 417-424. https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.06.007

® Bak, L. K., & Walls, A. B. (2018). CrossTalk opposing view : Lack of evidence supporting an astrocyte-to-neuron lactate shuttle coupling neuronal activity to glucose utilisation in the brain. The Journal of Physiology, 596(3), 351-353. https://doi.org/10.1113/JP274945

Ⓐ Balfour, R. H., Hansen, A. M. K., & Trapp, S. (2006). Neuronal responses to transient hypoglycaemia in the dorsal vagal complex of the rat brainstem. The Journal of Physiology, 570(Pt 3), 469-484. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.098822

Ⓐ Ball, K. K., Harik, L., Gandhi, G. K., Cruz, N. F., & Dienel, G. A. (2011). Reduced gap junctional communication among astrocytes in experimental diabetes : Contributions of altered connexin protein levels and oxidative–nitrosative modifications. Journal of Neuroscience Research, 89(12), 2052-2067. https://doi.org/10.1002/jnr.22663

Ⓐ Balland, E., Chen, W., Dodd, G. T., Conductier, G., Coppari, R., Tiganis, T., & Cowley, M. A. (2019). Leptin Signaling in the Arcuate Nucleus Reduces Insulin's Capacity to Suppress Hepatic Glucose Production in Obese Mice. Cell Reports, 26(2), 346-355.e3. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.12.061.

Ⓐ 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, S. G., & Prévot, V. (2014). Hypothalamic Tanycytes Are an ERK-Gated Conduit for Leptin into the Brain. Cell Metabolism, 19(2), Article 2. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.12.015. **Article pionnier décrivant le rôle des cellules épendymogliales de l'hypothalamus dans la régulation de l'équilibre énergétique.**

Ⓐ Ballesteros, M. A., Wolosin, J. D., Hogan, D. L., Koss, M. A., & Isenberg, J. I. (1991). Cholinergic regulation of human proximal duodenal mucosal bicarbonate secretion. The American Journal of Physiology, 261(2 Pt 1), G327-331. https://doi.org/10.1152/ajpgi.1991.261.2.G327

Ⓐ Balthasar, N., Dalgaard, L. T., Lee, C. E., Yu, J., Funahashi, H., Williams, T., Ferreira, M., Tang, V., McGovern, R. A., Kenny, C. D., Christiansen, L. M., Edelstein, E., Choi, B., Boss, O., Aschkenasi, C., Zhang, C., Mountjoy, K., Kishi, T., Elmquist, J. K., & Lowell, B. B. (2005). Divergence of Melanocortin Pathways in the Control of Food Intake and Energy Expenditure. Cell, 123(3), 493-505. https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.08.035

Ⓐ Banks, W. A., DiPalma, C. R., & Farrell, C. L. (1999). Impaired transport of leptin across the blood-brain barrier in obesity. Peptides, 20(11), 1341-1345. https://doi.org/10.1016/s0196-9781(99)00139-4

Ⓐ Bao, X., Lee, S. C., Reuss, L., & Altenberg, G. A. (2007). Change in permeant size selectivity by phosphorylation of connexin 43 gap-junctional hemichannels by PKC. Proceedings of the National Academy of Sciences, 104(12), 4919-4924. https://doi.org/10.1073/pnas.0603154104

Ⓐ Baptista, V., Zheng, Z. L., Coleman, F. H., Rogers, R. C., & Travagli, R. A. (2005). Cholecystokinin Octapeptide Increases Spontaneous Glutamatergic Synaptic Transmission to Neurons of the Nucleus Tractus Solitarius Centralis. Journal of Neurophysiology, 94(4), 2763-2771. https://doi.org/10.1152/jn.00351.2005

Ⓡ Barbe, M. T., Monyer, H., & Bruzzone, R. (2006). Cell-Cell Communication Beyond Connexins : The Pannexin Channels. Physiology, 21(2), 103-114. https://doi.org/10.1152/physiol.00048.2005

Ⓐ Barger, S. W., Goodwin, M. E., Porter, M. M., & Beggs, M. L. (2007). Glutamate release from activated microglia requires the oxidative burst and lipid peroxidation. Journal of Neurochemistry, 101(5), 1205-1213. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.04487.x

Ⓡ Barnett, S. A. (1956). Behaviour Components in the Feeding of Wild and Laboratory Rats. Behaviour, 9(1), 24-43. https://doi.org/10.1163/156853956X00237

Ⓡ Barraco, I. R. A. (1994). Nucleus of the solitary tract / edited by I. Robin A. Barraco. CRC Press. **Ouvrage de référence incontournable, offrant une description détaillée, anatomique et fonctionnelle du CVD. Bien qu'il ait une valeur historique, il demeure une base solide pour comprendre les fondements de cette région clé.**

Ⓡ Barraco, R., El-Ridi, M., Ergene, E., Parizon, M., & Bradley, D. (1992). An atlas of the rat subpostremal nucleus tractus solitarius. Brain Research Bulletin, 29(6), 703-765. https://doi.org/10.1016/0361-9230(92)90143-L

Ⓡ Barres, B. A. (2008). The mystery and magic of glia: A perspective on their roles in health and disease. Neuron, 60(3), 430-440. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.10.013. **Une revue marquante qui a contribué à intégrer les cellules gliales dans les modèles de fonctionnement cérébral en questionnant la perception traditionnelle de simples cellules de soutien.**

Ⓡ Barson, J. R. (2020). Orexin/hypocretin and dysregulated eating: Promotion of foraging behavior. Brain Research, 1731, 145915. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.08.018

Ⓐ Bassi, J. K., Connelly, A. A., Butler, A. G., Liu, Y., Ghanbari, A., Farmer, D. G. S., Jenkins, M. W., Melo, M. R., McDougall, S. J., & Allen, A. M. (2022). Analysis of the distribution of vagal afferent projections from different peripheral organs to the nucleus of the solitary tract in rats. The Journal of Comparative Neurology, 530(17), 3072-3103. https://doi.org/10.1002/cne.25398. **Caractérisation récente des afférences vagales et de leurs connexions avec le CVD.**

Ⓡ Battefeld, A., Klooster, J., & Kole, M. H. P. (2016). Myelinating satellite oligodendrocytes are integrated in a glial syncytium constraining neuronal high-frequency activity. Nature Communications, 7(1), 11298. https://doi.org/10.1038/ncomms11298

Ⓐ Batter, D. K., Corpina, R. A., Roy, C., Spray, D. C., Hertzberg, E. L., & Kessler, J. A. (1992). Heterogeneity in gap junction expression in astrocytes cultured from different brain regions. Glia, 6(3), 213-221. https://doi.org/10.1002/glia.440060309. **Couplage des astrocytes en culture, dérivés de différentes régions du cerveau dépendant de la Cx43, avec un couplage élevé dans l'hypothalamus par rapport au striatum.**

Ⓡ Bazargani, N., & Attwell, D. (2016). Astrocyte calcium signaling: The third wave. Nature Neuroscience, 19(2), 182-189. https://doi.org/10.1038/nn.4201

Ⓡ Bazett, H. C., & Penfield, W. G. (1922). A Study of the Sherrington Decerebrate Animal in the Chronic as well as the Acute Condition. Brain: A Journal of Neurology, 45, 185-265. https://doi.org/10.1093/brain/45.2.185

Ⓡ Beart, P. M., & O'Shea, R. D. (2007). Transporters for L-glutamate: An update on their molecular pharmacology and pathological involvement. British Journal of Pharmacology, 150(1), 5-17. https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706949

Ⓐ Bedner, P., Dupper, A., Hüttmann, K., Müller, J., Herde, M. K., Dublin, P., Deshpande, T., Schramm, J., Häussler, U., Haas, C. A., Henneberger, C., Theis, M., & Steinhäuser, C. (2015). Astrocyte uncoupling as a cause of human temporal lobe epilepsy. Brain, 138(5), 1208-1222. https://doi.org/10.1093/brain/awv067

Ⓡ Bedner, P., Steinhäuser, C., & Theis, M. (2012). Functional redundancy and compensation among members of gap junction protein families? Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, 1818(8), 1971-1984. https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.10.016

Ⓡ Belgardt, B. F., Okamura, T., & Brüning, J. C. (2009). Hormone and glucose signalling in POMC and AgRP neurons. The Journal of Physiology, 587(Pt 22), 5305-5314. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.179192

Ⓡ Bell, K. S., & O'Shaughnessy, K. L. (2022). The development and function of the brain barriers – an overlooked consideration for chemical toxicity. Frontiers in Toxicology, 4. https://doi.org/10.3389/ftox.2022.1000212

Ⓐ Bellesi, M., de Vivo, L., Tononi, G., & Cirelli, C. (2015). Effects of sleep and wake on astrocytes: Clues from molecular and ultrastructural studies. BMC Biology, 13(1), 66. https://doi.org/10.1186/s12915-015-0176-7

Ⓡ Bellisle, F. (2005). Faim et satiété, contrôle de la prise alimentaire. EMC - Endocrinologie, 2(4), 179-197. https://doi.org/10.1016/j.emcend.2005.08.003

Ⓡ Ben Achour, S., & Pascual, O. (2010). Glia: The many ways to modulate synaptic plasticity. Neurochemistry International, 57(4), 440-445. https://doi.org/10.1016/j.neuint.2010.02.013

Ⓡ Benarroch, E. E. (2016). Parabrachial nuclear complex. Neurology, 86(7), 676-683. https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002393

Ⓜ Benedykcinska, A., Ferreira, A., Lau, J., Broni, J., Richard-Loendt, A., Henriquez, N. V., & Brandner, S. (2016). Generation of brain tumours in mice by Cre-mediated recombination of neural progenitors in situ with the tamoxifen metabolite endoxifen. Disease Models & Mechanisms, 9(2), 211-220. https://doi.org/10.1242/dmm.022715. **L'endoxifène permet une recombinaison homologue par la CreERT2 lorsqu'il est administré dans les ventricules latéraux**

Ⓡ Benelam, B. (2009). Satiation, satiety and their effects on eating behaviour. Nutrition Bulletin, 34(2), 126-173. https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2009.01753.x

Ⓐ Berger, B. D., Wise, C. D., & Stein, L. (1973). Area postrema damage and bait shyness. Journal of Comparative and Physiological Psychology, 82(3), 475-479. https://doi.org/10.1037/h0034112

Ⓐ Berger, U. V., & Hediger, M. A. (2000). Distribution of the glutamate transporters GLAST and GLT-1 in rat circumventricular organs, meninges, and dorsal root ganglia. Journal of Comparative Neurology, 421(3), 385-399. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(20000605)421:3<385::AID-CNE7>3.0.CO;2-S

Ⓐ Berglund, E. D., Liu, T., Kong, X., Sohn, J.-W., Vong, L., Deng, Z., Lee, C. E., Lee, S., Williams, K. W., Olson, D. P., Scherer, P. E., Lowell, B. B., & Elmquist, J. K. (2014). Melanocortin 4 receptors in autonomic neurons regulate thermogenesis and glycemia. Nature Neuroscience, 17(7), 911-913. https://doi.org/10.1038/nn.3737

Ⓡ Bernard, C. (1813-1878) A. du texte, Vulpian, A. (1826-1887) A. du texte, & Bert, P. (1833-1886) A. du texte. (1885). Leçons sur les phénomènes de la vie, communs aux animaux et aux végétaux. [Précédé de] Discours de M. Vulpian aux funérailles de M. Claude Bernard. [Précédé de] Discours de M. Paul Bert aux funérailles de M. Claude Bernard (2e édition conforme à la première édition de 1878) / par Claude Bernard,... ; [Publié par A. Dastre]. https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k62986637

Ⓐ Bernardinelli, Y., Magistretti, P. J., & Chatton, J.-Y. (2004). Astrocytes generate Na+-mediated metabolic waves. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 101(41), 14937-14942. https://doi.org/10.1073/pnas.0405315101

Ⓡ Berridge, K. C., & Dayan, P. (2021). Liking. Current Biology, 31(24), R1555-R1557. https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.09.069

Ⓡ Berridge, K. C., & Kringelbach, M. L. (2008). Affective neuroscience of pleasure : Reward in humans and animals. Psychopharmacology, 199(3), 457-480. https://doi.org/10.1007/s00213-008-1099-6

Ⓡ Berthoud, H. R., & Neuhuber, W. L. (2000). Functional and chemical anatomy of the afferent vagal system. Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical, 85(1-3), 1-17. https://doi.org/10.1016/S1566-0702(00)00215-0

Ⓐ Berthoud, H. R., Trimble, E. R., Siegel, E. G., Bereiter, D. A., & Jeanrenaud, B. (1980). Cephalic-phase insulin secretion in normal and pancreatic islet-transplanted rats. The American Journal of Physiology, 238(4), E336-340. https://doi.org/10.1152/ajpendo.1980.238.4.E336

Ⓡ Berthoud, H.-R. (2002). Multiple neural systems controlling food intake and body weight. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 26(4), 393-428. https://doi.org/10.1016/S0149-7634(02)00014-3

Ⓡ Berthoud, H.-R. (2004). The Caudal Brainstem and the Control of Food Intake and Energy Balance. In E. M. Stricker & S. C. Woods (Éds.), Neurobiology of Food and Fluid Intake (p. 195-240). Springer US. https://doi.org/10.1007/0-306-48643-1_9

Ⓡ Berthoud, H.-R. (2006). Homeostatic and Non-homeostatic Pathways Involved in the Control of Food Intake and Energy Balance. Obesity, 14(S8), 197S-200S. https://doi.org/10.1038/oby.2006.308

Ⓡ Berthoud, H.-R. (2007). Interactions between the "cognitive" and "metabolic" brain in the control of food intake. Physiology & Behavior, 91(5), 486-498. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.12.016

Ⓡ Berthoud, H.-R. (2008). The vagus nerve, food intake and obesity. Regulatory Peptides, 149(1), 15-25. https://doi.org/10.1016/j.regpep.2007.08.024

Ⓡ Berthoud, H.-R., Sutton, G. M., Townsend, R. L., Patterson, L. M., & Zheng, H. (2006). Brainstem mechanisms integrating gut-derived satiety signals and descending forebrain information in the control of meal size. Physiology & Behavior, 89(4), 517-524. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.08.018

Ⓐ Betley, J. N., Xu, S., Cao, Z. F. H., Gong, R., Magnus, C. J., Yu, Y., & Sternson, S. M. (2015). Neurons for hunger and thirst transmit a negative-valence teaching signal. Nature, 521(7551), 180-185. https://doi.org/10.1038/nature14416

Ⓡ Beyer, E. C., & Berthoud, V. M. (2018). Gap junction gene and protein families: Connexins, innexins, and pannexins. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, 1860(1), 5-8. https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.05.016

Ⓐ Beyer, E. C., & Steinberg, T. H. (1991). Evidence that the gap junction protein connexin-43 is the ATP-induced pore of mouse macrophages. Journal of Biological Chemistry, 266(13), 7971-7974. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)92924-8

Ⓡ Bhurosy, T., & Jeewon, R. (2014). Overweight and Obesity Epidemic in Developing Countries : A Problem with Diet, Physical Activity, or Socioeconomic Status? The Scientific World Journal, 2014, 964236. https://doi.org/10.1155/2014/964236

Ⓡ Bieger, D., & Neuhuber, W. (2006). Neural circuits and mediators regulating swallowing in the brainstem. GI Motility Online. https://doi.org/10.1038/gimo74

Ⓐ Bienkowski, M. S., & Rinaman, L. (2008). Noradrenergic inputs to the paraventricular hypothalamus contribute to HPA axis and central Fos activation in rats after acute systemic endotoxin exposure. Neuroscience, 156(4), 1093-1102. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.08.011

Ⓐ Bignami, A., Eng, L. F., Dahl, D., & Uyeda, C. T. (1972). Localization of the glial fibrillary acidic protein in astrocytes by immunofluorescence. Brain Research, 43(2), 429-435. https://doi.org/10.1016/0006-8993(72)90398-8. **GFAP est un marqueur des astrocytes différenciés.**

Ⓡ Bilal, E.-M., Omar, E. H., & Radhakrishnan, J., Arumugam. (2023). Physiology and Function of Glial Cells in Health and Disease. IGI Global.

Ⓡ Billman, G. E. (2020). Homeostasis : The Underappreciated and Far Too Often Ignored Central Organizing Principle of Physiology. Frontiers in Physiology, 11, 200. https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00200

Ⓡ Bindocci, E., Savtchouk, I., Liaudet, N., Becker, D., Carriero, G., & Volterra, A. (2017). Three-dimensional Ca2+ imaging advances understanding of astrocyte biology. Science (New York, N.Y.), 356(6339), eaai8185. https://doi.org/10.1126/science.aai8185

Ⓐ Bird, E., Cardone, C. C., & Contreras, R. J. (1983). Area postrema lesions disrupt food intake induced by cerebroventricular infusions of 5-thioglucose in the rat. Brain Research, 270(1), 193-196. https://doi.org/10.1016/0006-8993(83)90815-6

Ⓡ Bishop VS, Sanderford MG. Angiotensin II modulation of the arterial baroreflex: role of the area postrema. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2000 May-Jun;27(5-6):428-31 doi: 10.1046/j.1440-1681.2000.03260.x. PMID: 10831248.

Ⓐ Blake, C. B., & Smith, B. N. (2014). cAMP-dependent insulin modulation of synaptic inhibition in neurons of the dorsal motor nucleus of the vagus is altered in diabetic mice. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 307(6), R711-R720. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00138.2014

Ⓡ Blevins, J. E., & Baskin, D. G. (2010). Hypothalamic-Brainstem Circuits Controlling Eating. Forum of Nutrition, 63, 133. https://doi.org/10.1159/000264401

Ⓐ Blevins, J. E., Morton, G. J., Williams, D. L., Caldwell, D. W., Bastian, L. S., Wisse, B. E., Schwartz, M. W., & Baskin, D. G. (2009). Forebrain melanocortin signaling enhances the hindbrain satiety response to CCK-8. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 296(3), R476-R484. https://doi.org/10.1152/ajpregu.90544.2008

Ⓐ Blevins, J. E., Schwartz, M. W., & Baskin, D. G. (2004). Evidence that paraventricular nucleus oxytocin neurons link hypothalamic leptin action to caudal brain stem nuclei controlling meal size. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 287(1), R87-R96. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00604.2003. **Afférences des régions rostrales du SNC vers le CVD modulent les réseaux orexigènes.**

Ⓐ Blouet, C., Jo, Y.-H., Li, X., & Schwartz, G. J. (2009). Mediobasal Hypothalamic Leucine Sensing Regulates Food Intake through Activation of a Hypothalamus–Brainstem Circuit. The Journal of Neuroscience, 29(26), 8302-8311. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1668-09.2009. **Relation entre le CVD et l'hypothalamus pour la détection des acides aminés.**

Ⓐ Blouet, C., & Schwartz, G. J. (2012). Brainstem nutrient sensing in the nucleus of the solitary tract inhibits feeding. Cell metabolism, 16(5), 579-587. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.10.003. **Le CVD est un régulateur majeur du métabolisme énergétique et glucidique.**

Ⓡ Blüher, M. (2019). Obesity : Global epidemiology and pathogenesis. Nature Reviews Endocrinology, 15(5), 288-298. https://doi.org/10.1038/s41574-019-0176-8

Ⓡ Blüher, M., Aras, M., Aronne, L. J., Batterham, R. L., Giorgino, F., Ji, L., Pietiläinen, K. H., Schnell, O., Tonchevska, E., & Wilding, J. P. H. (2023). New insights into the treatment of obesity. Diabetes, Obesity and Metabolism, 25(8), 2058-2072. https://doi.org/10.1111/dom.15077

Ⓡ Blundell, J., Rogers, P., & Hill, A. (1987). Evaluating the satiating power of foods : Implications for acceptance and consumption. In J. Colms, D. Booth, R. Pangborn, & O. Raunhardt (Éds.), Food acceptance and nutrition (p. 205-219).

Ⓡ Boccia, L., Gamakharia, S., Coester, B., Whiting, L., Lutz, T. A., & Le Foll, C. (2020). Amylin brain circuitry. Peptides, 132, 170366. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2020.170366

Ⓐ Bock, M. D., Smet, M. D., Verwaerde, S., Tahiri, H., Schumacher, S., Haver, V. V., Witschas, K., Steinhäuser, C., Rouach, N., Vandenbroucke, R. E., & Leybaert, L. (2022). Targeting gliovascular connexins prevents inflammatory blood-brain barrier leakage and astrogliosis. JCI Insight, 7(16), e135263. https://doi.org/10.1172/jci.insight.135263

Ⓐ Bonaz, B., Taylor, I., & Taché, Y. (1993). Peripheral peptide YY induces c-fos-like immunoreactivity in the rat brain. Neuroscience Letters, 163(1), 77-80. https://doi.org/10.1016/0304-3940(93)90233-b

Ⓣ Bonnet, M. S., Roux, J., Mounien, L., Dallaporta, M., & Troadec, J.-D. (2012). Advances in deoxynivalenol toxicity mechanisms : The brain as a target. Toxins, 4(11), 1120-1138. https://doi.org/10.3390/toxins4111120

Ⓐ Booth, D. A. (1972). Postabsorptively induced suppression of appetite and the energostatic control of feeding. Physiology & Behavior, 9(2), 199-202. https://doi.org/10.1016/0031-9384(72)90235-1

Ⓡ Borgmann, D., & Fenselau, H. (2024). Vagal pathways for systemic regulation of glucose metabolism. Seminars in Cell & Developmental Biology, 156, 244-252. https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2023.07.010

Ⓐ Borner, T., Shaulson, E. D., Ghidewon, M. Y., Barnett, A. B., Horn, C. C., Doyle, R. P., Grill, H. J., Hayes, M. R., & Jonghe, B. C. D. (2020). GDF15 Induces Anorexia through Nausea and Emesis. Cell Metabolism, 31(2), 351-362.e5. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.12.004

Ⓡ Borst, K., Dumas, A. A., & Prinz, M. (2021). Microglia : Immune and non-immune functions. Immunity, 54(10), 2194-2208. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.09.014

Ⓐ Boston, B. A., Blaydon, K. M., Varnerin, J., & Cone, R. D. (1997). Independent and additive effects of central POMC and leptin pathways on murine obesity. Science (New York, N.Y.), 278(5343), 1641-1644. https://doi.org/10.1126/science.278.5343.1641

Ⓐ Bouyakdan, K., Martin, H., Liénard, F., Budry, L., Taib, B., Rodaros, D., Chrétien, C., Biron, É., Husson, Z., Cota, D., Pénicaud, L., Fulton, S., Fioramonti, X., & Alquier, T. (2019). The gliotransmitter ACBP controls feeding and energy homeostasis via the melanocortin system. Journal of Clinical Investigation, 129(6), 2417-2430. https://doi.org/10.1172/JCI123454

Ⓐ Bouyakdan, K., Taïb, B., Budry, L., Zhao, S., Rodaros, D., Neess, D., Mandrup, S., Faergeman, Nils. J., & Alquier, T. (2015). A novel role for central ACBP/DBI as a regulator of long-chain fatty acid metabolism in astrocytes. Journal of Neurochemistry, 133(2), Article 2. https://doi.org/10.1111/jnc.13035

Ⓐ Bowser, D. N., & Khakh, B. S. (2007). Vesicular ATP is the predominant cause of intercellular calcium waves in astrocytes. The Journal of General Physiology, 129(6), 485-491. https://doi.org/10.1085/jgp.200709780

Ⓐ Boychuk, C. R., Gyarmati, P., Xu, H., & Smith, B. N. (2015). Glucose sensing by GABAergic neurons in the mouse nucleus tractus solitarii. Journal of Neurophysiology, 114(2), 999-1007. https://doi.org/10.1152/jn.00310.2015

Ⓐ Boychuk, C. R., Halmos, K. Cs., & Smith, B. N. (2015). Diabetes induces GABA receptor plasticity in murine vagal motor neurons. Journal of Neurophysiology, 114(1), 698-706. https://doi.org/10.1152/jn.00209.2015

Ⓐ Boychuk, C. R., & Smith, B. N. (2016). Glutamatergic drive facilitates synaptic inhibition of dorsal vagal motor neurons after experimentally induced diabetes in mice. Journal of Neurophysiology, 116(3), 1498-1506. https://doi.org/10.1152/jn.00325.2016

Ⓐ Boychuk, C. R., Smith, K. C., Peterson, L. E., Boychuk, J. A., Butler, C. R., Derera, I. D., McCarthy, J. J., & Smith, B. N. (2019). A hindbrain inhibitory microcircuit mediates vagally-coordinated glucose regulation. Scientific Reports, 9(1), 2722. https://doi.org/10.1038/s41598-019-39490-x

Ⓐ Boychuk, C. R., Smith, K. C., & Smith, B. N. (2017). Functional and molecular plasticity of γ and α1 GABAA receptor subunits in the dorsal motor nucleus of the vagus after experimentally induced diabetes. Journal of Neurophysiology, 118(5), 2833-2841. https://doi.org/10.1152/jn.00085.2017

Ⓡ Bradl, M., & Lassmann, H. (2010). Oligodendrocytes : Biology and pathology. Acta Neuropathologica, 119(1), 37-53. https://doi.org/10.1007/s00401-009-0601-5

Ⓐ Branca, R. T., Campbell, C. P., & Margules, D. L. (1972). Rats with area postrema lesions show the" lateral hypothalamic syndrome" and indications of enhanced conditioned taste-aversions. Federation Proceedings, 31, 397.

Ⓐ Breithausen, B., Kautzmann, S., Boehlen, A., Steinhäuser, C., & Henneberger, C. (2020). Limited contribution of astroglial gap junction coupling to buffering of extracellular K+ in CA1 stratum radiatum. Glia, 68(5), 918-931. https://doi.org/10.1002/glia.23751

Ⓜ Ⓐ Brierley, D. I., Holt, M. K., Singh, A., de Araujo, A., McDougle, M., Vergara, M., Afaghani, M. H., Lee, S. J., Scott, K., Maske, C., Langhans, W., Krause, E., de Kloet, A., Gribble, F. M., Reimann, F., Rinaman, L., de Lartigue, G., & Trapp, S. (2021). Central and peripheral GLP-1 systems independently suppress eating. Nature Metabolism, 3(2), 258-273. https://doi.org/10.1038/s42255-021-00344-4. **Injections dans le parenchyme du NTS par l'approche atlanto-occipitale.**

Ⓐ Brightman MW, Reese TS. Junctions between intimately apposed cell membranes in the vertebrate brain. J Cell Biol. 1969 Mar;40(3):648-77. doi: 10.1083/jcb.40.3.648.

Ⓐ Briski, K. P., & Marshall, E. S. (2000). Caudal brainstem Fos expression is restricted to periventricular catecholamine neuron-containing loci following intraventricular administration of 2-deoxy-d-glucose. Experimental Brain Research, 133(4), 547-551. https://doi.org/10.1007/s002210000448

Ⓡ Brobeck, J. R. (1948). Food Intake as a Mechanism of Temperature Regulation. The Yale Journal of Biology and Medicine, 20(6), 545-552.

Ⓡ Browning, K. N. (2015). Role of central vagal 5-HT3 receptors in gastrointestinal physiology and pathophysiology. Frontiers in Neuroscience, 9. https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00413

Ⓡ Browning, K. N., & Travagli, R. A. (2014). Central Nervous System Control of Gastrointestinal Motility and Secretion and Modulation of Gastrointestinal Functions. Comprehensive Physiology, 4(4), 1339-1368. https://doi.org/10.1002/cphy.c130055

Ⓡ Brüning, J. C., & Fenselau, H. (2023). Integrative neurocircuits that control metabolism and food intake. Science (New York, N.Y.), 381(6665), eabl7398. https://doi.org/10.1126/science.abl7398

Ⓐ Buller, K., Xu, Y., Dayas, C., & Day, T. (2001). Dorsal and ventral medullary catecholamine cell groups contribute differentially to systemic interleukin-1beta-induced hypothalamic pituitary adrenal axis responses. Neuroendocrinology, 73(2), 129-138. https://doi.org/10.1159/000054629

Ⓐ Burcelin, R., & Thorens, B. (2001). Evidence that extrapancreatic GLUT2-dependent glucose sensors control glucagon secretion. Diabetes, 50(6), 1282-1289. https://doi.org/10.2337/diabetes.50.6.1282

Ⓡ Burdakov, D., & Peleg-Raibstein, D. (2020). The hypothalamus as a primary coordinator of memory updating. Physiology & Behavior, 223, 112988. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.112988

Ⓐ Bushong, E. A., Martone, M. E., Jones, Y. Z., & Ellisman, M. H. (2002). Protoplasmic astrocytes in CA1 stratum radiatum occupy separate anatomical domains. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 22(1), 183-192. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-01-00183.2002. **Domaines fonctionnels des astrocytes.**

Ⓐ Butler, A. A., Kesteson, R. A., Khong, K., Cullen, M. J., Pelleymounter, M. A., Dekoning, J., Baetscher, M., & Cone, R. D. (2000). A Unique Metalolic Sysdrone Causes Obesity in the Melanocortin-3 Receptor-Deficient Mouse. Endocrinology, 141(9), 3518-3521. https://doi.org/10.1210/endo.141.9.7791

Ⓐ Butler, M. J., Perrini, A. A., & Eckel, L. A. (2020). Estradiol treatment attenuates high fat diet-induced microgliosis in ovariectomized rats. Hormones and behavior, 120, 104675. https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2020.104675

Ⓡ Butt, A. M. (2006). Neurotransmitter-mediated calcium signalling in oligodendrocyte physiology and pathology. Glia, 54(7), 666-675. https://doi.org/10.1002/glia.20424

Ⓡ Butt, A. M. (2011). ATP : A ubiquitous gliotransmitter integrating neuron–glial networks. Seminars in Cell & Developmental Biology, 22(2), 205-213. https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2011.02.023

Ⓐ Buyse, M., Ovesjö, M. L., Goïot, H., Guilmeau, S., Péranzi, G., Moizo, L., Walker, F., Lewin, M. J., Meister, B., & Bado, A. (2001). Expression and regulation of leptin receptor proteins in afferent and efferent neurons of the vagus nerve. The European Journal of Neuroscience, 14(1), 64-72. https://doi.org/10.1046/j.0953-816x.2001.01628.x

C

Ⓡ Cabanac, M., Duclaux, R., & Spector, N. H. (1971). Sensory Feedback in Regulation of Body Weight : Is there a Ponderostat? Nature, 229(5280), Article 5280. https://doi.org/10.1038/229125a0

Ⓐ Cabral, A., Cornejo, M. P., Fernandez, G., De Francesco, P. N., Garcia-Romero, G., Uriarte, M., Zigman, J. M., Portiansky, E., Reynaldo, M., & Perello, M. (2017). Circulating Ghrelin Acts on GABA Neurons of the Area Postrema and Mediates Gastric Emptying in Male Mice. Endocrinology, 158(5), 1436-1449. https://doi.org/10.1210/en.2016-1815

Ⓡ Cai, D., & Khor, S. (2019). "Hypothalamic Microinflammation" Paradigm in Aging and Metabolic Diseases. Cell Metabolism, 30(1), 19-35. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.05.021

Ⓐ Cai, Y., Hay, M., & Bishop, V. S. (1996). Synaptic connections and interactions between area postrema and nucleus tractus solitarius. Brain Research, 724(1), 121-124. https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00282-x

Ⓡ Camara-Lemarroy, C. R., & Burton, J. M. (2019). Area postrema syndrome : A short history of a pearl in demyelinating diseases. Multiple Sclerosis Journal, 25(3), 325-329. https://doi.org/10.1177/1352458518813105

Ⓐ Campos, C. A., Bowen, A. J., Schwartz, M. W., & Palmiter, R. D. (2016). Parabrachial CGRP Neurons Control Meal Termination. Cell Metabolism, 23(5), 811-820. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.04.006

Ⓡ Cannon, walter bradford. (1926). Jubilee Volume for Charles Richet, Transactions of the Congress of American Physicians and Surgeons. 12(3), 91-93.

Ⓡ Cannon, WB (1934) The Wisdom of the Body. *Nature* **133**, 82 . https://doi.org/10.1038/133082a0

Ⓡ Cansell, C., Denis, R. G., Joly-Amado, A., Castel, J., & Luquet, S. H. (2012). Arcuate AgRP neurons and the regulation of energy balance. Frontiers in Endocrinology, 3. https://doi.org/10.3389/fendo.2012.00169

Ⓐ Cao, W.-H., Madden, C. J., & Morrison, S. F. (2010). Inhibition of brown adipose tissue thermogenesis by neurons in the ventrolateral medulla and in the nucleus tractus solitarius. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 299(1), R277-R290. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00039.2010

Ⓐ Card, J. P., Johnson, A. L., Llewellyn-Smith, I. J., Zheng, H., Anand, R., Brierley, D. I., Trapp, S., & Rinaman, L. (2018). GLP-1 neurons form a local synaptic circuit within the rodent nucleus of the solitary tract. The Journal of Comparative Neurology, 526(14), 2149-2164. https://doi.org/10.1002/cne.24482

Ⓡ Card, J. P., & Sved, A. F. (2011). Central Autonomic Pathways. In I. J. Llewellyn-Smith & A. J. M. Verberne (Éds.), Central Regulation of Autonomic Functions (p. 0). Oxford University Press. https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195306637.003.0001

Ⓡ Carlini, N., & Wagner, D. (2017). Towards Evaluating the Robustness of Neural Networks. 2017 IEEE Symposium on Security and Privacy (SP), 39-57. https://doi.org/10.1109/SP.2017.49

Ⓡ Caron, A., & Richard, D. (2017). Neuronal systems and circuits involved in the control of food intake and adaptive thermogenesis. Annals of the New York Academy of Sciences, 1391(1), 35-53. https://doi.org/10.1111/nyas.13263

Ⓐ Carter, M. E., Han, S., & Palmiter, R. D. (2015). Parabrachial calcitonin gene-related peptide neurons mediate conditioned taste aversion. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 35(11), 4582-4586. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3729-14.2015

Ⓡ Caruso, G., Di Pietro, L., & Caraci, F. (2023). Gap Junctions and Connexins in Microglia-Related Oxidative Stress and Neuroinflammation : Perspectives for Drug Discovery. Biomolecules, 13(3), 505. https://doi.org/10.3390/biom13030505

Ⓐ Caspar, D. L., Goodenough, D. A., Makowski, L., & Phillips, W. C. (1977). Gap junction structures. I. Correlated electron microscopy and x-ray diffraction. Journal of Cell Biology, 74(2), 605-628. https://doi.org/10.1083/jcb.74.2.605

Ⓡ Castonguay, T. W., Applegate, E. A., Upton, D. E., & Stern, J. S. (1983). Hunger and appetite : Old concepts/new distinctions. Nutrition Reviews, 41(4), 101-110. https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1983.tb07163.x

Ⓐ Champagnat, J., Denavit-Saubié, M., Grant, K., & Shen, K. F. (1986). Organization of synaptic transmission in the mammalian solitary complex, studied in vitro. The Journal of Physiology, 381(1), 551-573. https://doi.org/10.1113/jphysiol.1986.sp016343

Ⓡ Chandra, R., & Liddle, and R. A. (2020). Regulation of Pancreatic Secretion. Pancreapedia: The Exocrine Pancreas Knowledge Base. https://doi.org/10.3998/panc.2020.14

Ⓐ Chang, J.-C., Huang, W.-L., Liu, C.-Y., Tseng, M. M.-C., Yang, C. C. H., & Kuo, T. B. J. (2021). Heart Rate Variability Reactivity to Food Image Stimuli is Associated with Body Mass Index. Applied Psychophysiology and Biofeedback, 46(3), 271-277. https://doi.org/10.1007/s10484-021-09514-2

Ⓐ Chao, D. H. M., Kirchner, M. K., Pham, C., Foppen, E., Denis, R. G. P., Castel, J., Morel, C., Montalban, E., Hassouna, R., Bui, L.-C., Renault, J., Mouffle, C., García-Cáceres, C., Tschöp, M. H., Li, D., Martin, C., Stern, J. E., & Luquet, S. H. (2022). Hypothalamic astrocytes control systemic glucose metabolism and energy balance. Cell Metabolism, 34(10), 1532-1547.e6. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2022.09.002. **Les astrocytes du PVN subissent un remodelage important en cas d'obésité influençant les niveaux de glutamate du parenchyme, avec des conséquences sur le métabolisme du glucose et l'équilibre énergétique.**

Ⓡ Chapelot, D., & Charlot, K. (2019). Physiology of energy homeostasis : Models, actors, challenges and the glucoadipostatic loop. Metabolism: Clinical and Experimental, 92, 11-25. https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.11.012

Ⓡ Chatton, J.-Y., Magistretti, P. J., & Barros, L. F. (2016). Sodium signaling and astrocyte energy metabolism. Glia, 64(10), 1667-1676. https://doi.org/10.1002/glia.22971

Ⓡ Chaudhri, O., Small, C., & Bloom, S. (2006). Gastrointestinal hormones regulating appetite. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 361(1471), 1187-1209. https://doi.org/10.1098/rstb.2006.1856

Ⓜ Chauhan, M., Daugherty, A. L., Khadir, F. (Ellie), Duzenli, O. F., Hoffman, A., Tinklenberg, J. A., Kang, P. B., Aslanidi, G., & Pacak, C. A. (2024). AAV-DJ is superior to AAV9 for targeting brain and spinal cord, and de-targeting liver across multiple delivery routes in mice. Journal of Translational Medicine, 22(1), 824. https://doi.org/10.1186/s12967-024-05599-5 **Les vecteurs AAV-DJ8 sous le promoteur GFAP ont une haute efficacité de transduction des cellules gliales, en particulier des astrocytes.**

Ⓐ Chen, C. H., & Rogers, R. C. (1995). Central inhibitory action of peptide YY on gastric motility in rats. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 269(4), R787-R792. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1995.269.4.R787.

Ⓐ Chen, J., Cheng, M., Wang, L., Zhang, L., Xu, D., Cao, P., Wang, F., Herzog, H., Song, S., & Zhan, C. (2020). A Vagal-NTS Neural Pathway that Stimulates Feeding. Current Biology, 30(20), 3986-3998.e5. https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.07.084. **Première description de projections orexigènes impliquant des neurones du NTS. Les neurones NTSTH envoient des projections excitatrices vers les neurones ARC^{AgRP}.**

Ⓜ Chen, K., Qi, X., Zhu, L., Li, M., Cong, B., & Li, Y. (2024). Quantitative analysis of microglia morphological changes in the hypothalamus of chronically stressed rats. Brain Research Bulletin, 206, 110861. https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2023.110861.

Ⓐ Cheng, A., Tang, H., Cai, J., Zhu, M., Zhang, X., Rao, M., & Mattson, M. P. (2004). Gap junctional communication is required to maintain mouse cortical neural progenitor cells in a proliferative state. Developmental Biology, 272(1), 203-216. https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2004.04.031

Ⓐ Cheng, W., Gonzalez, I., Pan, W., Tsang, A. H., Adams, J., Ndoka, E., Gordian, D., Khoury, B., Roelofs, K., Evers, S. S., MacKinnon, A., Wu, S., Frikke-Schmidt, H., Flak, J. N., Trevaskis, J. L., Rhodes, C. J., Fukada, S., Seeley, R. J., Sandoval, D. A., … Myers, M. G. (2020). Calcitonin Receptor Neurons in the Mouse Nucleus Tractus Solitarius Control Energy Balance via the Non-aversive Suppression of Feeding. Cell Metabolism, 31(2), 301-312.e5. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.12.012

Ⓡ Cheng, W., Gordian, D., Ludwig, M. Q., Pers, T. H., Seeley, R. J., & Myers, M. G. (2022). Hindbrain circuits in the control of eating behaviour and energy balance. Nature Metabolism, 4(7), 826-835. https://doi.org/10.1038/s42255-022-

00606-9. **Revue récente décrivant comment les circuits du CVD participent au contrôle du comportement alimentaire et de l'homéostasie du glucose. Un accent important est également mis sur les réseaux du PBN.**

Ⓐ Cheng, W., Ndoka, E., Hutch, C., Roelofs, K., MacKinnon, A., Khoury, B., Magrisso, J., Kim, K. S., Rhodes, C. J., Olson, D. P., Seeley, R. J., Sandoval, D., & Myers, M. G. (2020). Leptin receptor-expressing nucleus tractus solitarius neurons suppress food intake independently of GLP1 in mice. JCI Insight, 5(7), e134359, 134359. https://doi.org/10.1172/jci.insight.134359

Ⓐ Cheng, W., Ndoka, E., Maung, J. N., Pan, W., Rupp, A. C., Rhodes, C. J., Olson, D. P., & Myers, M. G. (2021). NTS Prlh overcomes orexigenic stimuli and ameliorates dietary and genetic forms of obesity. Nature Communications, 12(1), 5175. https://doi.org/10.1038/s41467-021-25525-3

Ⓡ Cheung, G., Chever, O., & Rouach, N. (2014). Connexons and pannexons : Newcomers in neurophysiology. Frontiers in Cellular Neuroscience, 8. https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00348

Ⓐ Chever, O., Lee, C.-Y., & Rouach, N. (2014). Astroglial connexin43 hemichannels tune basal excitatory synaptic transmission. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 34(34), 11228-11232. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0015-14.2014. **Dans l'hippocampe, la signalisation via les Cx43HC module la transmission synaptique, leur blocage avec le GAP26 réduisant la fréquence des fEPSPs dans les neurones CA1, un effet associé à la libération d'ATP par ces hémicanaux.**

Ⓐ Chever, O., Pannasch, U., Ezan, P., & Rouach, N. (2014). Astroglial connexin 43 sustains glutamatergic synaptic efficacy. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, 369(1654), 20130596. https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0596

Ⓐ Chounlamountry, K., & Kessler, J.-P. (2011). The ultrastructure of perisynaptic glia in the nucleus tractus solitarii of the adult rat : Comparison between single synapses and multisynaptic arrangements. Glia, 59(4), 655-663. https://doi.org/10.1002/glia.21135. **Les astrocytes du NTS et du DMNX, bien que présentant une couverture synaptique partielle par rapport à d'autres régions cérébrales, disposent d'une densité membranaire astrogliale élevée, permettant un isolement fonctionnel efficace des synapses.**

Ⓐ Chrobok, L., Northeast, R. C., Myung, J., Cunningham, P. S., Petit, C., & Piggins, H. D. (2020). Timekeeping in the hindbrain : A multi-oscillatory circadian centre in the mouse dorsal vagal complex. Communications Biology, 3(1), 1-12. https://doi.org/10.1038/s42003-020-0960-y. **Les variations circadiennes de l'expression des jonctions serrées et de la perméabilité à l'interface AP/NTS, observées notamment en début de nuit (phase active des rongeurs), favorisent le passage de molécules circulantes et influencent l'excitabilité neuronale du NTS.**

Ⓐ Clark, J. T., Kalra, P. S., Crowley, W. R., & Kalra, S. P. (1984). Neuropeptide Y and human pancreatic polypeptide stimulate feeding behavior in rats. Endocrinology, 115(1), 427-429. https://doi.org/10.1210/endo-115-1-427

Ⓜ Clarke, D. D. (1991). Fluoroacetate and fluorocitrate : Mechanism of action. Neurochemical Research, 16(9), 1055-1058. https://doi.org/10.1007/BF00965850

Ⓐ Clasen, R. A., Pandolfi, S., & Hass, G. M. (1970). Vital staining, serum albumin and the blood-brain barrier. Journal of Neuropathology and Experimental Neurology, 29(2), 266-284.

Ⓜ Clifton, P. G. (2000). Meal patterning in rodents : Psychopharmacological and neuroanatomical studies. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 24(2), 213-222. https://doi.org/10.1016/s0149-7634(99)00074-3

Ⓡ Clifton, P. G. (2017). Neural circuits of eating behaviour : Opportunities for therapeutic development. Journal of Psychopharmacology, 31(11), 1388-1402. https://doi.org/10.1177/0269881117738629

Ⓡ Clyburn, C., & Browning, K. N. (2021). Glutamatergic plasticity within neurocircuits of the dorsal vagal complex and the regulation of gastric functions. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 320(5), G880-G887. https://doi.org/10.1152/ajpgi.00014.2021. **Revue sur le rôle de la transmission glutamatergique dans le CVD dans la régulation des fonctions gastro-intestinales, mettant en lumière les connexions entre le NTS et le DMNX. Elle expose également les données récentes impliquant les astrocytes dans la modulation de la synapse NTS-DMNX.**

Ⓐ Clyburn, C., Carson, K. E., Smith, C. R., Travagli, R. A., & Browning, K. N. (2023). Brainstem astrocytes control homeostatic regulation of caloric intake. The Journal of Physiology, 601(4), 801-829. https://doi.org/10.1113/JP283566. **L'inhibition du métabolisme astrocytaire dans le CVD altère l'adaptation précoce au HFD, augmentant l'apport calorique aigu.**

Ⓐ Clyburn, C., Travagli, R. A., Arnold, A. C., & Browning, K. N. (2021). DMV extrasynaptic NMDA receptors regulate caloric intake in rats. JCI Insight, 6(9), e139785, 139785. https://doi.org/10.1172/jci.insight.139785

Ⓐ Clyburn, C., Travagli, R. A., & Browning, K. N. (2018). Acute high-fat diet upregulates glutamatergic signaling in the dorsal motor nucleus of the vagus. American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology, 314(5), G623-G634. https://doi.org/10.1152/ajpgi.00395.2017

Trois précédents articles : Implication des astrocytes du CVD dans l'adaptation précoce à un surplus calorique (HFD court) : l'activation transitoire des astrocytes dans le NTS et le DMNX, induite par une exposition aiguë à un régime HFD, est essentielle pour l'activation des récepteurs NMDA des neurones du DMNX, et module la synapse NTS-DMNX, l'inhibition du métabolisme astrocytaire perturbe la plasticité de la synapse NTS-DMNX.

Ⓜ Coester, B., Foll, C. L., & Lutz, T. A. (2020). Viral depletion of calcitonin receptors in the area postrema: A proof-of-concept study. Physiology & Behavior, 223, 112992. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.112992 **Difficulté à cibler l'AP par des injections stéréotaxiques**

Ⓡ Cohn, C., & Joseph, D. (1962). Influence of body weight and body fat on appetite of « normal » lean and obese rats. The Yale Journal of Biology and Medicine, 34(6), 598-607.

Ⓐ Colldén, G., Mangano, C., & Meister, B. (2010). P2X2 purinoreceptor protein in hypothalamic neurons associated with the regulation of food intake. Neuroscience, 171(1), 62-78. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.08.036

Ⓐ Compère, V., Lanfray, D., Castel, H., Morin, F., Leprince, J., Dureuil, B., Vaudry, H., Pelletier, G., & Tonon, M. C. (2010). Acute food deprivation reduces expression of diazepam-binding inhibitor, the precursor of the anorexigenic octadecaneuropeptide ODN, in mouse glial cells. Journal of Molecular Endocrinology, 44(5), 295-299. https://doi.org/10.1677/JME-09-0176

Ⓐ Conceição, E. P. S., Reynolds, C. A., Morrison, S. F., & Madden, C. J. (2021). Activation of Transient Receptor Potential Vanilloid 1 Channels in the Nucleus of the Solitary Tract and Activation of Dynorphin Input to the Median Preoptic Nucleus Contribute to Impaired BAT Thermogenesis in Diet-Induced Obesity. eNeuro, 8(2), ENEURO.0048-21.2021. https://doi.org/10.1523/ENEURO.0048-21.2021

Ⓐ Condorelli, D. F., Trovato-Salinaro, A., Mudò, G., Mirone, M. B., & Belluardo, N. (2003). Cellular expression of connexins in the rat brain : Neuronal localization, effects of kainate-induced seizures and expression in apoptotic neuronal cells. European Journal of Neuroscience, 18(7), 1807-1827. https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02910.x

Ⓐ Considine, R. V., Sinha, M. K., Heiman, M. L., Kriauciunas, A., Stephens, T. W., Nyce, M. R., Ohannesian, J. P., Marco, C. C., McKee, L. J., Bauer, T. L., & Caro, J. F. (1996). Serum Immunoreactive-Leptin Concentrations in Normal-Weight and Obese Humans. New England Journal of Medicine, 334(5), 292-295. https://doi.org/10.1056/NEJM199602013340503

Ⓡ Contreras, J. E., Sáez, J. C., Bukauskas, F. F., & Bennett, M. V. L. (2003). Gating and regulation of connexin 43 (Cx43) hemichannels. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 100(20), 11388-11393. https://doi.org/10.1073/pnas.1434298100

Ⓐ Contreras, R. J., Beckstead, R. M., & Norgren, R. (1982). The central projections of the trigeminal, facial, glossopharyngeal and vagus nerves : An autoradiographic study in the rat. Journal of the Autonomic Nervous System, 6(3), 303-322. https://doi.org/10.1016/0165-1838(82)90003-0

Ⓐ Contreras, R. J., Fox, E., & Drugovich, M. L. (1982). Area postrema lesions produce feeding deficits in the rat : Effects of preoperative dieting and 2-deoxy-D-glucose. Physiology & Behavior, 29(5), 875-884. https://doi.org/10.1016/0031-9384(82)90338-9

Ⓐ Contreras, R. J., & Stetson, P. W. (1981). Changes in salt intake lesions of the area postrema and the nucleus of the solitary tract in rats. Brain Research, 211(2), 355-366. https://doi.org/10.1016/0006-8993(81)90707-1. **Articles historiques impliquant le CVD dans le contrôle du comportement alimentaire**

Ⓡ Cooper, I. D., Brookler, K. H., Kyriakidou, Y., Elliott, B. T., & Crofts, C. A. P. (2021). Metabolic Phenotypes and Step by Step Evolution of Type 2 Diabetes : A New Paradigm. Biomedicines, 9(7), 800. https://doi.org/10.3390/biomedicines9070800

Ⓡ Cooper, S. J. (2008). From Claude Bernard to Walter Cannon. Emergence of the concept of homeostasis. Appetite, 51(3), 419-427. https://doi.org/10.1016/j.appet.2008.06.005

Ⓐ Cork, S. C., Richards, J. E., Holt, M. K., Gribble, F. M., Reimann, F., & Trapp, S. (2015). Distribution and characterisation of Glucagon-like peptide-1 receptor expressing cells in the mouse brain. Molecular Metabolism, 4(10), 718-731. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2015.07.008

Ⓡ Cornil, Y. (2017). Mind Over Stomach : A Review of the Cognitive Drivers of Food Satiation. Journal of the Association for Consumer Research. https://doi.org/10.1086/693111

Ⓐ Corwin, R. L., Wojnicki, F. H., Fisher, J. O., Dimitriou, S. G., Rice, H. B., & Young, M. A. (1998). Limited access to a dietary fat option affects ingestive behavior but not body composition in male rats. Physiology & Behavior, 65(3), 545-553. https://doi.org/10.1016/s0031-9384(98)00201-7

Ⓐ Cotrina, M. L., Lin, J. H., Alves-Rodrigues, A., Liu, S., Li, J., Azmi-Ghadimi, H., Kang, J., Naus, C. C., & Nedergaard, M. (1998). Connexins regulate calcium signaling by controlling ATP release. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 95(26), 15735-15740. https://doi.org/10.1073/pnas.95.26.15735. **Les**

Cx43HC d'astrocytes en culture peuvent d'ouvrir en réponse à des augmentations physiologiques de $[Ca^{2+}]i$ et libèrent de l'ATP qui participe à la propagation d'ondes calciques.

Ⓡ Cowley, M. A. (2003). Hypothalamic melanocortin neurons integrate signals of energy state. European Journal of Pharmacology, 480(1-3), 3-11. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2003.08.087

Ⓐ Cowley, M. A., Smart, J. L., Rubinstein, M., Cerdán, M. G., Diano, S., Horvath, T. L., Cone, R. D., & Low, M. J. (2001). Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. Nature, 411(6836), 480-484. https://doi.org/10.1038/35078085

Ⓐ Cowley, M. A., Smith, R. G., Diano, S., Tschöp, M., Pronchuk, N., Grove, K. L., Strasburger, C. J., Bidlingmaier, M., Esterman, M., Heiman, M. L., Garcia-Segura, L. M., Nillni, E. A., Mendez, P., Low, M. J., Sotonyi, P., Friedman, J. M., Liu, H., Pinto, S., Colmers, W. F., … Horvath, T. L. (2003). The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. Neuron, 37(4), 649-661. https://doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00063-1

Ⓐ Cox, J. E., & Randich, A. (2004). Enhancement of feeding suppression by PYY3-36 in rats with area postrema ablations. Peptides, 25(6), 985-989. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2004.03.003

Ⓡ Craig, W. (1917). Appetites and Aversions as Constituents of Instincts. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 3(12), 685-688.

Ⓡ Crambert, G., & Geering, K. (2003). FXYD Proteins : New Tissue-Specific Regulators of the Ubiquitous Na,K-ATPase. Science's STKE, 2003(166), re1-re1. https://doi.org/10.1126/stke.2003.166.re1

Ⓡ Cruciani, V., & Mikalsen, S.-O. (2006). The vertebrate connexin family. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS, 63(10), 1125-1140. https://doi.org/10.1007/s00018-005-5571-8

Ⓡ Cryer, P. E. (1997). Hierarchy of physiological responses to hypoglycemia : Relevance to clinical hypoglycemia in type I (insulin dependent) diabetes mellitus. Hormone and Metabolic Research = Hormon- Und Stoffwechselforschung = Hormones Et Metabolisme, 29(3), 92-96. https://doi.org/10.1055/s-2007-978997

Ⓐ Cui, R. J., Li, X., & Appleyard, S. M. (2011). Ghrelin inhibits visceral afferent activation of catecholamine neurons in the solitary tract nucleus. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 31(9), 3484-3492. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3187-10.2011

Ⓐ Cunningham, E. T., Miselis, R. R., & Sawchenko, P. E. (1994). The relationship of efferent projections from the area postrema to vagal motor and brain stem catecholamine-containing cell groups : An axonal transport and immunohistochemical study in the rat. Neuroscience, 58(3), 635-648. https://doi.org/10.1016/0306-4522(94)90087-6

Ⓡ Cutsforth-Gregory, J. K., & Benarroch, E. E. (2017). Nucleus of the solitary tract, medullary reflexes, and clinical implications. Neurology, 88(12), 1187-1196. https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003751

D

Ⓐ D'Agostino, G., Lyons, D. J., Cristiano, C., Burke, L. K., Madara, J. C., Campbell, J. N., Garcia, A. P., Land, B. B., Lowell, B. B., Dileone, R. J., & Heisler, L. K. (2016). Appetite controlled by a cholecystokinin nucleus of the solitary tract to hypothalamus neurocircuit. eLife, 5, e12225. https://doi.org/10.7554/eLife.12225

Ⓣ Dallaporta, M., Bonnet, M. S., Horner, K., Trouslard, J., Jean, A., & Troadec, J.-D. (2010). Glial cells of the nucleus tractus solitarius as partners of the dorsal hindbrain regulation of energy balance : A proposal for a working hypothesis. Brain Research, 1350, 35-42. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.04.025 **Nous résumons les indices impliquant les cellules gliales du CVD au contrôle de la balance énergétique, et faisons l'hypothèse que les cellules astrogliales participent à l'intégration des signaux métaboliques.**

Ⓣ Dallaporta, M., Pecchi, E., Pio, J., Jean, A., Horner, K. C., & Troadec, J. D. (2009). Expression of leptin receptor by glial cells of the nucleus tractus solitarius : Possible involvement in energy homeostasis. Journal of Neuroendocrinology, 21(1), 57-67. https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01799.x **Nous rapportons pour la première fois que les vagliocytes et les astrocytes du CVD expriment des LepR (toutes les isoformes centrales).**

Ⓡ Dallérac, G., & Rouach, N. (2016). Astrocytes as new targets to improve cognitive functions. Progress in Neurobiology, 144, 48-67. https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2016.01.003

Ⓐ D'Ascenzo, M., Fellin, T., Terunuma, M., Revilla-Sanchez, R., Meaney, D. F., Auberson, Y. P., Moss, S. J., & Haydon, P. G. (2007). mGluR5 stimulates gliotransmission in the nucleus accumbens. Proceedings of the National Academy of Sciences, 104(6), 1995-2000. https://doi.org/10.1073/pnas.0609408104

Ⓡ Davern, P. J. (2014). A role for the lateral parabrachial nucleus in cardiovascular function and fluid homeostasis. Frontiers in Physiology, 5. https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00436

Ⓐ De Bock, M., Vandenbroucke, R. E., Decrock, E., Culot, M., Cecchelli, R., & Leybaert, L. (2014). A new angle on blood-CNS interfaces : A role for connexins? FEBS Letters, 588(8), 1259-1270.

https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.02.060. **Les Cx43HC des cellules endothéliales régulent la perméabilité de la BHE.**

Ⓡ De Silva, A., & Bloom, S. R. (2012). Gut Hormones and Appetite Control : A Focus on PYY and GLP-1 as Therapeutic Targets in Obesity. Gut and Liver, 6(1), 10-20. https://doi.org/10.5009/gnl.2012.6.1.10

Ⓡ de Castro, J. M., & Plunkett, S. (2002). A general model of intake regulation. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 26(5), 581-595. https://doi.org/10.1016/s0149-7634(02)00018-0

Ⓐ Decrock, E., Hoorelbeke, D., Ramadan, R., Delvaeye, T., De Bock, M., Wang, N., Krysko, D. V., Baatout, S., Bultynck, G., Aerts, A., Vinken, M., & Leybaert, L. (2017). Calcium, oxidative stress and connexin channels, a harmonious orchestra directing the response to radiotherapy treatment? Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research, 1864(6), 1099-1120. https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.02.007

Ⓡ del Río-Hortega Bereciartu, J. (2020). Pío del Río-Hortega : The Revolution of Glia. The Anatomical Record, 303(5), 1232-1241. https://doi.org/10.1002/ar.24266

Ⓡ Delvaeye, T., Vandenabeele, P., Bultynck, G., Leybaert, L., & Krysko, D. V. (2018). Therapeutic Targeting of Connexin Channels : New Views and Challenges. Trends in Molecular Medicine, 24(12), 1036-1053. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.10.005

Ⓐ Deng, X., Guarita, D. R., Pedroso, M. R., Kreiss, C., Wood, P. G., Sved, A. F., & Whitcomb, D. C. (2001). PYY inhibits CCK-stimulated pancreatic secretion through the area postrema in unanesthetized rats. American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 281(2), R645-653. https://doi.org/10.1152/ajpregu.2001.281.2.R645

Ⓐ Dermietzel, R., Hertberg, E. L., Kessler, J. A., & Spray, D. C. (1991). Gap junctions between cultured astrocytes : Immunocytochemical, molecular, and electrophysiological analysis. Journal of Neuroscience, 11(5), 1421-1432. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.11-05-01421.1991. **Une des premières preuves d'une implication des JC formées de Cx43 dans la communication intercellulaire entre astrocytes**

Ⓡ Deutsch, J. A., & Gonzalez, M. F. (1978). Food intake reduction : Satiation or aversion? Behavioral Biology, 24(3), 317-326. https://doi.org/10.1016/S0091-6773(79)90171-8

Ⓡ Diamond, A. (2013). Executive Functions. Annual review of psychology, 64, 135-168. https://doi.org/10.1146/annurev-psych-113011-143750

Ⓡ Dickman, D., & Wondolowski, J. (2013). Emerging links between homeostatic synaptic plasticity and neurological disease. Frontiers in Cellular Neuroscience, 7. https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00223

Ⓡ Dietrich, M. O., & Horvath, T. L. (2009). Feeding signals and brain circuitry. European Journal of Neuroscience, 30(9), 1688-1696. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06963.x

Ⓡ Dietz, A. G., Goldman, S. A., & Nedergaard, M. (2020). Glial cells in schizophrenia : A unified hypothesis. The Lancet Psychiatry, 7(3), 272-281. https://doi.org/10.1016/S2215-0366(19)30302-5

Ⓐ DiRocco, R. J., & Grill, H. J. (1979). The forebrain is not essential for sympathoadrenal hyperglycemic response to glucoprivation. Science (New York, N.Y.), 204(4397), 1112-1114. https://doi.org/10.1126/science.451558

Ⓐ Djogo, T., Robins, S. C., Schneider, S., Kryzskaya, D., Liu, X., Mingay, A., Gillon, C. J., Kim, J. H., Storch, K.-F., Boehm, U., Bourque, C. W., Stroh, T., Dimou, L., & Kokoeva, M. V. (2016). Adult NG2-Glia Are Required for Median Eminence-Mediated Leptin Sensing and Body Weight Control. Cell Metabolism, 23(5), 797-810. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.04.013

Ⓡ Dockray, G., Dimaline, R., & Varro, A. (2005). Gastrin : Old hormone, new functions. Pflügers Archiv, 449(4), 344-355. https://doi.org/10.1007/s00424-004-1347-5

Ⓡ Dockray, G. J. (2009). Cholecystokinin and gut–brain signalling. Regulatory Peptides, 155(1), 6-10. https://doi.org/10.1016/j.regpep.2009.03.015

Ⓐ Dodd, G. T., Michael, N. J., Lee-Young, R. S., Mangiafico, S. P., Pryor, J. T., Munder, A. C., Simonds, S. E., Brüning, J. C., Zhang, Z.-Y., Cowley, M. A., Andrikopoulos, S., Horvath, T. L., Spanswick, D., & Tiganis, T. (2018). Insulin regulates POMC neuronal plasticity to control glucose metabolism. eLife, 7, e38704. https://doi.org/10.7554/eLife.38704

Ⓐ do Rego, J.-C., Orta, M.-H., Leprince, J., Tonon, M.-C., Vaudry, H., & Costentin, J. (2007). Pharmacological Characterization of the Receptor Mediating the Anorexigenic Action of the Octadecaneuropeptide : Evidence for an Endozepinergic Tone Regulating Food Intake. Neuropsychopharmacology, 32(7), 1641-1648. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301280

Ⓡ Douglass, J. D., Dorfman, M. D., & Thaler, J. P. (2017). Glia : Silent partners in energy homeostasis and obesity pathogenesis. Diabetologia, 60(2), 226-236. https://doi.org/10.1007/s00125-016-4181-3 **Revue de la littérature décrivant comment les cellules gliales participent au contrôle systémique de la balance énergétique.**

Ⓐ Dowsett, G. K. C., Lam, B. Y. H., Tadross, J. A., Cimino, I., Rimmington, D., Coll, A. P., Polex-Wolf, J., Knudsen, L. B., Pyke, C., & Yeo, G. S. H. (2021). A survey of the mouse hindbrain in the fed and fasted states using single-nucleus RNA sequencing. Molecular Metabolism, 53, 101240. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2021.101240. **S'inscrit dans les études récentes de séquençage qui ont contribuent grandement à combler mieux identifier des populations cellulaires du CVD impliquées dans le contrôle de l'équilibre énergétique. Cette étude suggère une contribution des oligodendrocytes et des polydendrocytes du CVD dans le contrôle de la balance énergétique.**

Ⓜ Dragunow, M., & Faull, R. (1989). The use of c-fos as a metabolic marker in neuronal pathway tracing. Journal of Neuroscience Methods, 29(3), 261-265. https://doi.org/10.1016/0165-0270(89)90150-7

Ⓐ Dunn-Meynell, A. A., Sanders, N. M., Compton, D., Becker, T. C., Eiki, J., Zhang, B. B., & Levin, B. E. (2009). Relationship among Brain and Blood Glucose Levels and Spontaneous and Glucoprivic Feeding. The Journal of Neuroscience, 29(21), 7015-7022. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0334-09.2009

Ⓡ Durkee, C. A., & Araque, A. (2019). Diversity and Specificity of Astrocyte-neuron Communication. Neuroscience, 396, 73-78. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.11.010

Ⓡ Duvernoy, H. M., & Risold, P.-Y. (2007). The circumventricular organs : An atlas of comparative anatomy and vascularization. Brain Research Reviews, 56(1), 119-147. https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.06.002

E

Ⓐ Ebihara, L., & Steiner, E. (1993). Properties of a nonjunctional current expressed from a rat connexin46 cDNA in Xenopus oocytes. Journal of General Physiology, 102(1), 59-74. https://doi.org/10.1085/jgp.102.1.59

Ⓐ Edwards, G. L., & Ritter, R. C. (1982). Area postrema lesions increase drinking to angiotensin and extracellular dehydration. Physiology & Behavior, 29(5), 943-947. https://doi.org/10.1016/0031-9384(82)90348-1. **Articles historiques impliquant le CVD dans le contrôle du comportement alimentaire**

Ⓐ Eiberger, Jür., Degen, J., Romualdi, A., Deutsch, U., Willecke, K., & Söhl, G. (2001). Connexin Genes in the Mouse and Human Genome. Cell Communication & Adhesion, 8(4-6), 163-165. https://doi.org/10.3109/15419060109080717

Ⓐ El-Haschimi, K., Pierroz, D. D., Hileman, S. M., Bjørbæk, C., & Flier, J. S. (2000). Two defects contribute to hypothalamic leptin resistance in mice with diet-induced obesity. The Journal of Clinical Investigation, 105(12), 1827-1832. https://doi.org/10.1172/JCI9842

Ⓡ Elizondo-Vega, R. J., Recabal, A., & Oyarce, K. (2019). Nutrient Sensing by Hypothalamic Tanycytes. Frontiers in Endocrinology, 10, 244. https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00244

Ⓡ Elmquist, J. K., Elias, C. F., & Saper, C. B. (1999). From lesions to leptin : Hypothalamic control of food intake and body weight. Neuron, 22(2), 221-232. https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)81084-3

Ⓐ Emmerson, P. J., Wang, F., Du, Y., Liu, Q., Pickard, R. T., Gonciarz, M. D., Coskun, T., Hamang, M. J., Sindelar, D. K., Ballman, K. K., Foltz, L. A., Muppidi, A., Alsina-Fernandez, J., Barnard, G. C., Tang, J. X., Liu, X., Mao, X., Siegel, R., Sloan, J. H., … Wu, X. (2017). The metabolic effects of GDF15 are mediated by the orphan receptor GFRAL. Nature Medicine, 23(10), 1215-1219. https://doi.org/10.1038/nm.4393

Ⓐ Emond, M., Ladenheim, E. E., Schwartz, G. J., & Moran, T. H. (2001). Leptin amplifies the feeding inhibition and neural activation arising from a gastric nutrient preload. Physiology & Behavior, 72(1-2), 123-128. https://doi.org/10.1016/s0031-9384(00)00393-0

Ⓐ Enkvist, M. O., & McCarthy, K. D. (1994). Astroglial gap junction communication is increased by treatment with either glutamate or high K+ concentration. Journal of Neurochemistry, 62(2), 489-495. https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1994.62020489.x

Ⓡ Epifantseva, I., & Shaw, R. M. (2018). Intracellular trafficking pathways of Cx43 gap junction channels. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, 1860(1), 40-47. https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.05.018

Ⓡ Erecińska, M., & Silver, I. A. (1990). Metabolism and role of glutamate in mammalian brain. Progress in Neurobiology, 35(4), 245-296. https://doi.org/10.1016/0301-0082(90)90013-7

Ⓡ Erickson, K. I., Creswell, J. D., Verstynen, T. D., & Gianaros, P. J. (2014). Health Neuroscience : Defining a New Field. Current Directions in Psychological Science, 23(6), 446-453. https://doi.org/10.1177/0963721414549350

Ⓐ Ericsson, A., Liu, C., Hart, R. P., & Sawchenko, P. E. (1995). Type 1 interleukin-1 receptor in the rat brain : Distribution, regulation, and relationship to sites of IL-1-induced cellular activation. The Journal of Comparative Neurology, 361(4), 681-698. https://doi.org/10.1002/cne.903610410

Ⓡ Erlanson-Albertsson, C. (2005). How Palatable Food Disrupts Appetite Regulation. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 97(2), 61-73. https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2005.pto_179.x

Ⓐ Escartin, C., Galea, E., Lakatos, A., O'Callaghan, J. P., Petzold, G. C., Serrano-Pozo, A., Steinhäuser, C., Volterra, A., Carmignoto, G., Agarwal, A., Allen, N. J., Araque, A., Barbeito, L., Barzilai, A., Bergles, D. E., Bonvento, G., Butt, A. M., Chen, W.-T., Cohen-Salmon, M., … Verkhratsky, A. (2021). Reactive astrocyte nomenclature, definitions, and future directions. Nature Neuroscience, 24(3), 312-325. https://doi.org/10.1038/s41593-020-00783-4. **Revue de référence sur la définition de la réactivité astrocytaire.**

Ⓡ Eugenin, E. A., Basilio, D., Sáez, J. C., Orellana, J. A., Raine, C. S., Bukauskas, F., Bennett, M. V. L., & Berman, J. W. (2012). The role of gap junction channels during physiologic and pathologic conditions of the human central nervous system. Journal of Neuroimmune Pharmacology: The Official Journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology, 7(3), 499-518. https://doi.org/10.1007/s11481-012-9352-5

Ⓐ Eugenín, E. A., Eckardt, D., Theis, M., Willecke, K., Bennett, M. V. L., & Sáez, J. C. (2001). Microglia at brain stab wounds express connexin 43 and in vitro form functional gap junctions after treatment with interferon-γ and tumor necrosis factor-α. Proceedings of the National Academy of Sciences, 98(7), 4190-4195. https://doi.org/10.1073/pnas.051634298. **5 % des cellules microgliales issues de cultures primaires de rats et de souris expriment la Cx43.**

Ⓡ Eulenburg, V., & Gomeza, J. (2010). Neurotransmitter transporters expressed in glial cells as regulators of synapse function. Brain Research Reviews, 63(1), 103-112. https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2010.01.003

F

Ⓡ Faber, C. L., Deem, J. D., Campos, C. A., Taborsky, G. J., & Morton, G. J. (2020). CNS control of the endocrine pancreas. Diabetologia, 63(10), 2086-2094. https://doi.org/10.1007/s00125-020-05204-6

Ⓡ Falardeau, D., Dubois, S., & Kolta, A. (2023). The coordination of chewing. Current Opinion in Neurobiology, 83, 102805. https://doi.org/10.1016/j.conb.2023.102805

Ⓡ Fan, W., Boston, B. A., Kesterson, R. A., Hruby, V. J., & Cone, R. D. (1997). Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. Nature, 385(6612), Article 6612. https://doi.org/10.1038/385165a0

Ⓐ Fan, W., Ellacott, K. L. J., Halatchev, I. G., Takahashi, K., Yu, P., & Cone, R. D. (2004). Cholecystokinin-mediated suppression of feeding involves the brainstem melanocortin system. Nature Neuroscience, 7(4), Article 4. https://doi.org/10.1038/nn1214

Ⓡ Fan, X., & Agid, Y. (2018). At the Origin of the History of Glia. Neuroscience, 385, 255-271. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.05.050

Ⓡ FAO, FIDA, OMS, PAM, & UNICEF. (2024). L'État de la sécurité alimentaire et de la nutrition dans le monde 2024. FAO ; FIDA ; OMS ; PAM ; UNICEF ; https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/cd1254fr

Ⓡ Fao, I. (2023). The State of Food Security and Nutrition in the World 2023. FAO ; IFAD ; UNICEF ; WFP ; WHO ; https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/cc3017en

Ⓐ Farkas, E., Szilvásy-Szabó, A., Ruska, Y., Sinkó, R., Rasch, M. G., Egebjerg, T., Pyke, C., Gereben, B., Knudsen, L. B., & Fekete, C. (2021). Distribution and ultrastructural localization of the glucagon-like peptide-1 receptor (GLP-1R) in the rat brain. Brain Structure & Function, 226(1), 225-245. https://doi.org/10.1007/s00429-020-02189-1

Ⓐ Farooqi, I. S., Jebb, S. A., Langmack, G., Lawrence, E., Cheetham, C. H., Prentice, A. M., Hughes, I. A., McCamish, M. A., & O'Rahilly, S. (1999). Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. The New England Journal of Medicine, 341(12), 879-884. https://doi.org/10.1056/NEJM199909163411204

Ⓜ Feil, S., Valtcheva, N., & Feil, R. (2009). Inducible Cre mice. Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.), 530, 343-363. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-471-1_18

Ⓐ Fekete, C., Mihály, E., Luo, L. G., Kelly, J., Clausen, J. T., Mao, Q., Rand, W. M., Moss, L. G., Kuhar, M., Emerson, C. H., Jackson, I. M., & Lechan, R. M. (2000). Association of cocaine- and amphetamine-regulated transcript-immunoreactive elements with thyrotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus and its role in the regulation of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis during fasting. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 20(24), 9224-9234. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-24-09224.2000

Ⓐ Feldman, M., Richardson, C. T., Taylor, I. L., & Walsh, J. H. (1979). Effect of Atropine on Vagal Release of Gastrin and Pancreatic Polypeptide. Journal of Clinical Investigation, 63(2), 294-298.

Ⓡ Felix, L., Delekate, A., Petzold, G. C., & Rose, C. R. (2020). Sodium Fluctuations in Astroglia and Their Potential Impact on Astrocyte Function. Frontiers in Physiology, 11. https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00871

Ⓜ Felker, A., Nieuwenhuize, S., Dolbois, A., Blazkova, K., Hess, C., Low, L. W. L., Burger, S., Samson, N., Carney, T. J., Bartunek, P., Nevado, C., & Mosimann, C. (2016). In Vivo Performance and Properties of Tamoxifen Metabolites for

CreERT2 Control. PloS One, 11(4), e0152989. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152989 **L'endoxifène présente une meilleure stabilité et un potentiel d'induction plus fiable une fois dilué que le 4-OHT.**

Ⓡ Fellin, T., & Carmignoto, G. (2004). Neurone-to-astrocyte signalling in the brain represents a distinct multifunctional unit. The Journal of Physiology, 559(1), 3-15. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.063214

Ⓐ Ferguson, A. V., & Bains, J. S. (1997). Actions of angiotensin in the subfornical organ and area postrema : Implications for long term control of autonomic output. Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology, 24(1), 96-101. https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.1997.tb01790.x

Ⓡ Fernandez, A. M., & Torres-Alemán, I. (2012). The many faces of insulin-like peptide signalling in the brain. Nature Reviews. Neuroscience, 13(4), 225-239. https://doi.org/10.1038/nrn3209

Ⓡ Ferrario, C. R., Labouèbe, G., Liu, S., Nieh, E. H., Routh, V. H., Xu, S., & O'Connor, E. C. (2016). Homeostasis Meets Motivation in the Battle to Control Food Intake. Journal of Neuroscience, 36(45), 11469-11481. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2338-16.2016

Ⓐ Filippi, B. M., Abraham, M. A., Silva, P. N., Rasti, M., LaPierre, M. P., Bauer, P. V., Rocheleau, J. V., & Lam, T. K. T. (2017). Dynamin-Related Protein 1-Dependent Mitochondrial Fission Changes in the Dorsal Vagal Complex Regulate Insulin Action. Cell Reports, 18(10), 2301-2309. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.02.035 **Les astrocytes du CVD, en modulant la fission mitochondriale via l'inhibition de Drp1, jouent un rôle clé dans la protection contre la résistance à l'insuline, l'hyperphagie et la prise de poids induites par un régime riche en graisses (HFD), tout en réduisant la consommation alimentaire et en maintenant une sensibilité à l'insuline**

Ⓐ Filippi, B. M., Bassiri, A., Abraham, M. A., Duca, F. A., Yue, J. T. Y., & Lam, T. K. T. (2014). Insulin Signals Through the Dorsal Vagal Complex to Regulate Energy Balance. Diabetes, 63(3), 892-899. https://doi.org/10.2337/db13-1044

Ⓐ Filippi, B. M., Yang, C. S., Tang, C., & Lam, T. K. T. (2012). Insulin Activates Erk1/2 Signaling in the Dorsal Vagal Complex to Inhibit Glucose Production. Cell Metabolism, 16(4), 500-510. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.09.005

Ⓐ Finkbeiner, S. (1992). Calcium waves in astrocytes-filling in the gaps. Neuron, 8(6), 1101-1108. https://doi.org/10.1016/0896-6273(92)90131-v

Ⓡ Flatt, J. P. (1995). Use and storage of carbohydrate and fat. The American Journal of Clinical Nutrition, 61(4 Suppl), 952S-959S. https://doi.org/10.1093/ajcn/61.4.952S

Ⓐ Flynn, F. W., & Grill, H. J. (1983). Insulin elicits ingestion in decerebrate rats. Science (New York, N.Y.), 221(4606), 188-190. https://doi.org/10.1126/science.6344221. **Articles historiques impliquant le CVD dans les contre-régulations induites par la glucoprivation.**

Ⓡ Forbes GB, Welle SL. Lean body mass in obesity. Int J Obes. 1983;7(2):99-107. PMID: 6862762.

Ⓡ Frank, M. G. (2019). The Role of Glia in Sleep Regulation and Function. In H.-P. Landolt & D.-J. Dijk (Éds.), Sleep-Wake Neurobiology and Pharmacology (p. 83-96). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/164_2017_87

Ⓡ Frayn, K. N. (2002). Adipose tissue as a buffer for daily lipid flux. Diabetologia, 45(9), 1201-1210. https://doi.org/10.1007/s00125-002-0873-y

Ⓡ Freire-Regatillo, A., Argente-Arizón, P., Argente, J., García-Segura, L. M., & Chowen, J. A. (2017). Non-Neuronal Cells in the Hypothalamic Adaptation to Metabolic Signals. Frontiers in Endocrinology, 8. https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00051 **Revue de la littérature décrivant comment les cellules gliales participent au contrôle systémique de la balance énergétique.**

Ⓡ Friedman, M. (2008). Food intake : Control, regulation, and the illusion of dysregulation. In Appetite and Food Intake-Behavioral and Physiological Considerations (p. 1-19). CRC Press.

Ⓡ Frizzell, R. T., Jones, E. M., Davis, S. N., Biggers, D. W., Myers, S. R., Connolly, C. C., Neal, D. W., Jaspan, J. B., & Cherrington, A. D. (1993). Counterregulation during hypoglycemia is directed by widespread brain regions. Diabetes, 42(9), 1253-1261. https://doi.org/10.2337/diab.42.9.1253

Ⓡ Frost, J. L., & Schafer, D. P. (2016). Microglia : Architects of the Developing Nervous System. Trends in Cell Biology, 26(8), 587-597. https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.02.006

Ⓐ Fry, M., & Ferguson, A. V. (2009). Ghrelin modulates electrical activity of area postrema neurons. American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 296(3), R485-492. https://doi.org/10.1152/ajpregu.90555.2008

Ⓡ Fry, M., & Ferguson, A. V. (2010). Ghrelin : Central Nervous System Sites of Action in Regulation of Energy Balance. International Journal of Peptides, 2010(1), 616757. https://doi.org/10.1155/2010/616757

Ⓐ Fujikawa, R., & Jinno, S. (2022). Identification of hyper-ramified microglia in the CA1 region of the mouse hippocampus potentially associated with stress resilience. The European Journal of Neuroscience, 56(8), 5137-5153.

https://doi.org/10.1111/ejn.15812. **Dans l'hippocampe, une hyper-ramification des microglies était plus fréquente chez des souris présentant une résilience au stress induit par défaite sociale > quid dans le modèle de sh-ARN-Cx43 du CVD ?**

Ⓐ Funahashi, M., & Adachi, A. (1993). Glucose-responsive neurons exist within the area postrema of the rat : In vitro study on the isolated slice preparation. Brain Research Bulletin, 32(5), 531-535. https://doi.org/10.1016/0361-9230(93)90303-s

Ⓡ Funk, G. D. (2010). The 'connexin' between astrocytes, ATP and central respiratory chemoreception. The Journal of Physiology, 588(Pt 22), 4335-4337. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.200196

Ⓡ Furness, J. B. (2012). The enteric nervous system and neurogastroenterology. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 9(5), 286-294. https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.32

Ⓐ Füzesi, T., Wittmann, G., Lechan, R. M., Liposits, Z., & Fekete, C. (2009). Noradrenergic Innervation of Hypophysiotropic Thyrotropin-Releasing Hormone-Synthesizing Neurons in Rats. Brain research, 1294, 38-44. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.07.094

G

Ⓐ Gabery, S., Salinas, C. G., Paulsen, S. J., Ahnfelt-Rønne, J., Alanentalo, T., Baquero, A. F., Buckley, S. T., Farkas, E., Fekete, C., Frederiksen, K. S., Helms, H. C. C., Jeppesen, J. F., John, L. M., Pyke, C., Nøhr, J., Lu, T. T., Polex-Wolf, J., Prevot, V., Raun, K., … Hogendorf, W. F. J. (2020). Semaglutide lowers body weight in rodents via distributed neural pathways. JCI Insight, 5(6), e133429, 133429. https://doi.org/10.1172/jci.insight.133429

Ⓣ Gaige, S., Barbouche, R., **Barbot, M.**, Boularand, S., Dallaporta, M., Abysique, A., & Troadec, J.-D. (2022). Constitutively active microglial populations limit anorexia induced by the food contaminant deoxynivalenol. Journal of Neuroinflammation, 19(1), 280. https://doi.org/10.1186/s12974-022-02631-7. **Dans cette étude, nous utilisons plusieurs marqueurs immunohistochimiques pour caractériser les cellules microgliales du CVD et de l'HYPmb. Nous mettons en évidence des cellules microgliales activées restreintes aux OCV dont l'AP et capables de phagocytose. L'inactivation de ces cellules par la minocycline a entraîné une anorexie avec une dose de DON, une mycotoxine présente dans les céréales, inefficace chez les souris témoins.**

Ⓣ Gaigé, S., Djelloul, M., Tardivel, C., Airault, C., Félix, B., Jean, A., Lebrun, B., Troadec, J.-D., & Dallaporta, M. (2014). Modification of energy balance induced by the food contaminant T-2 toxin : A multimodal gut-to-brain connection. Brain, Behavior, and Immunity, 37, 54-72. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2013.12.008

Ⓐ Gaillet, S., Lachuer, J., Malaval, F., Assenmacher, I., & Szafarczyk, A. (1991). The involvement of noradrenergic ascending pathways in the stress-induced activation of ACTH and corticosterone secretions is dependent on the nature of stressors. Experimental Brain Research, 87(1), 173-180. https://doi.org/10.1007/BF00228518

Ⓐ Galarreta, M., & Hestrin, S. (1999). A network of fast-spiking cells in the neocortex connected by electrical synapses. Nature, 402(6757), 72-75. https://doi.org/10.1038/47029

Ⓡ Gallo, V., & Ghiani, C. A. (2000). Glutamate receptors in glia : New cells, new inputs and new functions. Trends in Pharmacological Sciences, 21(7), 252-258. https://doi.org/10.1016/s0165-6147(00)01494-2

Ⓐ Ganat, Y. M., Silbereis, J., Cave, C., Ngu, H., Anderson, G. M., Ohkubo, Y., Ment, L. R., & Vaccarino, F. M. (2006). Early postnatal astroglial cells produce multilineage precursors and neural stem cells in vivo. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 26(33), 8609-8621. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2532-06.2006 **Description des souris GFAP-CreERT2 utilisées dans l'étude 2.**

Ⓐ Ganchrow, D., Ganchrow, J. R., Cicchini, V., Bartel, D. L., Kaufman, D., Girard, D., & Whitehead, M. C. (2013). Nucleus of the solitary tract in the C57BL/6J mouse : Subnuclear parcellation, chorda tympani nerve projections, and brainstem connections. The Journal of Comparative Neurology, 522(7), 1565-1596. https://doi.org/10.1002/cne.23484. **Cartographie cytoarchitecturale du NTS chez la souris**

Ⓐ Gandhi, G. K., Ball, K. K., Cruz, N. F., & Dienel, G. A. (2010). Hyperglycaemia and diabetes impair gap junctional communication among astrocytes. ASN Neuro, 2(2), e00030. https://doi.org/10.1042/AN20090048. **Implication des JC astrocytaire dans la réponse à l'hypoglycémie sur *in vitro*. En conditions d'hyperglycémie, la dimition du couplage par JC s'accompagne de modifications morphologiques, d'altérations du cytosquelette (GFAP, vimentine), d'une libération accrue de cytokines inflammatoires et d'un stress oxydatif élevé.**

Ⓐ Gannot, N., Li, X., Phillips, C. D., Ozel, A. B., Uchima Koecklin, K. H., Lloyd, J. P., Zhang, L., Emery, K., Stern, T., Li, J. Z., & Li, P. (2024). A vagal–brainstem interoceptive circuit for cough-like defensive behaviors in mice. Nature Neuroscience, 27(9), 1734-1744. https://doi.org/10.1038/s41593-024-01712-5

Ⓡ Ganong, W. F. (2000). Circumventricular Organs : Definition And Role In The Regulation Of Endocrine And Autonomic Function. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 27(5-6), 422-427. https://doi.org/10.1046/j.1440-1681.2000.03259.x

Ⓡ Gao, A. W., Cantó, C., & Houtkooper, R. H. (2014). Mitochondrial response to nutrient availability and its role in metabolic disease. EMBO Molecular Medicine, 6(5), 580-589. https://doi.org/10.1002/emmm.201303782

Ⓐ Gao, H., Glatzer, N. R., Williams, K. W., Derbenev, A. V., Liu, D., & Smith, B. N. (2009). Morphological and electrophysiological features of motor neurons and putative interneurons in the dorsal vagal complex of rats and mice. Brain research, 1291, 40-52. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.07.024

Ⓐ Garcia de Mateos-Verchere, J., Leprince, J., Tonon, M.-C., Vaudry, H., & Costentin, J. (2001). The octadecaneuropeptide [diazepam-binding inhibitor (33–50)] exerts potent anorexigenic effects in rodents. European Journal of Pharmacology, 414(2-3), Article 2-3. https://doi.org/10.1016/S0014-2999(01)00771-3

Ⓡ García-Cáceres, C., Balland, E., Prevot, V., Luquet, S., Woods, S. C., Koch, M., Horvath, T. L., Yi, C.-X., Chowen, J. A., Verkhratsky, A., Araque, A., Bechmann, I., & Tschöp, M. H. (2019). Role of astrocytes, microglia, and tanycytes in brain control of systemic metabolism. Nature Neuroscience, 22(1), Article 1. https://doi.org/10.1038/s41593-018-0286-y
Revue de la littérature décrivant comment les cellules gliales participent au contrôle systémique de la balance énergétique.

Ⓡ García-Cáceres, C., Fuente-Martín, E., Argente, J., & Chowen, J. A. (2012). Emerging role of glial cells in the control of body weight. Molecular Metabolism, 1(1), 37-46. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2012.07.001

Ⓡ García-Marín, V., García-López, P., & Freire, M. (2007). Cajal's contributions to glia research. Trends in Neurosciences, 30(9), 479-487. https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.06.008

Ⓡ Garcia-Segura, L. M., Chowen, J. A., & Naftolin, F. (1996). Endocrine Glia : Roles of Glial Cells in the Brain Actions of Steroid and Thyroid Hormones and in the Regulation of Hormone Secretion. Frontiers in Neuroendocrinology, 17(2), 180-211. https://doi.org/10.1006/frne.1996.0005

Ⓐ Garfield, A. S., Patterson, C., Skora, S., Gribble, F. M., Reimann, F., Evans, M. L., Myers, M. G., & Heisler, L. K. (2012). Neurochemical Characterization of Body Weight-Regulating Leptin Receptor Neurons in the Nucleus of the Solitary Tract. Endocrinology, 153(10), 4600-4607. https://doi.org/10.1210/en.2012-1282

Ⓐ Garrett, N., & Daw, N. D. (2020). Biased belief updating and suboptimal choice in foraging decisions. Nature Communications, 11(1), Article 1. https://doi.org/10.1038/s41467-020-16964-5

Ⓐ Gasparini, S., Howland, J. M., Thatcher, A. J., & Geerling, J. C. (2020). Central afferents to the nucleus of the solitary tract in rats and mice. The Journal of Comparative Neurology, 528(16), 2708-2728. https://doi.org/10.1002/cne.24927

Ⓐ Gaykema, R. P., Newmyer, B. A., Ottolini, M., Raje, V., Warthen, D. M., Lambeth, P. S., Niccum, M., Yao, T., Huang, Y., Schulman, I. G., Harris, T. E., Patel, M. K., Williams, K. W., & Scott, M. M. (2017). Activation of murine pre-proglucagon-producing neurons reduces food intake and body weight. The Journal of Clinical Investigation, 127(3), 1031-1045. https://doi.org/10.1172/JCI81335

Ⓡ Geary, N. (2023). Energy homeostasis from Lavoisier to control theory. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 378(1885), 20220201. https://doi.org/10.1098/rstb.2022.0201

Ⓐ Genoud, C., Houades, V., Kraftsik, R., Welker, E., & Giaume, C. (2015). Proximity of excitatory synapses and astroglial gap junctions in layer IV of the mouse barrel cortex. Neuroscience, 291, 241-249. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.01.051

Ⓐ Georgescu, T., Lyons, D., Doslikova, B., Garcia, A. P., Marston, O., Burke, L. K., Chianese, R., Lam, B. Y. H., Yeo, G. S. H., Rochford, J. J., Garfield, A. S., & Heisler, L. K. (2020). Neurochemical Characterization of Brainstem Pro-Opiomelanocortin Cells. Endocrinology, 161(4). https://doi.org/10.1210/endocr/bqaa032

Ⓐ Gerstberger, R., & Fahrenholz, F. (1989). Autoradiographic localization of V1 vasopressin binding sites in rat brain and kidney. European Journal of Pharmacology, 167(1), 105-116. https://doi.org/10.1016/0014-2999(89)90752-8

Ⓐ Giaume, C., Fromaget, C., Aoumari, A. E., Cordier, J., Glowinski, J., & Grost, D. (1991). Gap junctions in cultured astrocytes : Single-channel currents and characterization of channel-forming protein. Neuron, 6(1), 133-143. https://doi.org/10.1016/0896-6273(91)90128-M

Ⓡ Giaume, C., Kirchhoff, F., Matute, C., Reichenbach, A., & Verkhratsky, A. (2007). Glia : The fulcrum of brain diseases. Cell Death & Differentiation, 14(7), 1324-1335. https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402144

Ⓡ Giaume, C., Koulakoff, A., Roux, L., Holcman, D., & Rouach, N. (2010). Astroglial networks : A step further in neuroglial and gliovascular interactions. Nature Reviews. Neuroscience, 11(2), 87-99. https://doi.org/10.1038/nrn2757

Ⓡ Giaume, C., & Liu, X. (2012). From a glial syncytium to a more restricted and specific glial networking. Journal of Physiology, Paris, 106(1-2), 34-39. https://doi.org/10.1016/j.jphysparis.2011.09.001

Ⓡ Giaume, C., Naus, C. C., Sáez, J. C., & Leybaert, L. (2021). Glial Connexins and Pannexins in the Healthy and Diseased Brain. Physiological Reviews, 101(1), 93-145. https://doi.org/10.1152/physrev.00043.2018 **Une synthèse actuelle des connaissances sur les connexines, mettant en lumière le rôle central de la Cx43.**

Ⓜ Giaume, C., Orellana, J. A., Abudara, V., & Sáez, J. C. (2012). Connexin-based channels in astrocytes : How to study their properties. Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.), 814, 283-303. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-452-0_19

Ⓜ Giaume, C., & Theis, M. (2010). Pharmacological and genetic approaches to study connexin-mediated channels in glial cells of the central nervous system. Brain Research Reviews, 63(1), 160-176. https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2009.11.005

L'équipe de Giaume, puis celle de Rouach au Collège de France, est à l'origine de nombreux travaux pionniers sur les connexines astrocytaires, en particulier la Cx43, identifiée comme une protéine clé de la signalisation gliale, des réseaux neuronaux et des fonctions cérébrales.

Ⓐ Gibbs, J., Young, R. C., & Smith, G. P. (1973). Cholecystokinin decreases food intake in rats. Journal of Comparative and Physiological Psychology, 84(3), 488-495. https://doi.org/10.1037/h0034870

Ⓡ Giduck, S. A., Threatte, R. M., & Kare, M. R. (1987). Cephalic reflexes : Their role in digestion and possible roles in absorption and metabolism. The Journal of Nutrition, 117(7), 1191-1196. https://doi.org/10.1093/jn/117.7.1191

Ⓐ Giepmans, B. N. G., Verlaan, I., & Moolenaar, W. H. (2001). Connexin-43 Interactions with ZO-1 and α- and β-tubulin. Cell Communication & Adhesion, 8(4-6), 219-223. https://doi.org/10.3109/15419060109080727

Ⓐ Gil, K., Bugajski, A., & Thor, P. (2011). Electrical vagus nerve stimulation decreases food consumption and weight gain in rats fed a high-fat diet. Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society, 62(6), 637-646.

Ⓐ Gilg, S., & Lutz, T. A. (2006). The orexigenic effect of peripheral ghrelin differs between rats of different age and with different baseline food intake, and it may in part be mediated by the area postrema. Physiology & Behavior, 87(2), 353-359. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.10.015

Ⓣ Girardet, C., Bonnet, M. S., Jdir, R., Sadoud, M., Thirion, S., Tardivel, C., Roux, J., Lebrun, B., Mounien, L., Trouslard, J., Jean, A., Dallaporta, M., & Troadec, J.-D. (2011). Central inflammation and sickness-like behavior induced by the food contaminant deoxynivalenol : A PGE2-independent mechanism. Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology, 124(1), 179-191. https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr219

Ⓐ Goehler, L. E., Erisir, A., & Gaykema, R. P. A. (2006). Neural–immune interface in the rat area postrema. Neuroscience, 140(4), 1415-1434. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.03.048

Ⓡ Goldstein, D. S., & Kopin, I. J. (2017). Homeostatic systems, biocybernetics, and autonomic neuroscience. Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical, 208, 15-28. https://doi.org/10.1016/j.autneu.2017.09.001

Ⓡ Golgi, C. (1873). Suella struttura della sostanza grigia del cervello (comunicazione preventiva). Gazzetta Medica Italiana, Lombardia, 33, 244-246.

Ⓡ González-García, I., & García-Cáceres, C. (2021). Hypothalamic Astrocytes as a Specialized and Responsive Cell Population in Obesity. International Journal of Molecular Sciences, 22(12), 6176. https://doi.org/10.3390/ijms22126176

Ⓐ Gourine, A. V., Kasymov, V., Marina, N., Tang, F., Figueiredo, M. F., Lane, S., Teschemacher, A. G., Spyer, K. M., Deisseroth, K., & Kasparov, S. (2010). Astrocytes Control Breathing Through pH-Dependent Release of ATP. Science, 329(5991), 571-575. https://doi.org/10.1126/science.1190721. **La libération d'ATP par les astrocytes du CVD joue un rôle crucial dans la régulation des fonctions physiologiques contrôlées par cette structure (ici la respiration).**

Ⓡ Goyal, R. K., Guo, Y., & Mashimo, H. (2019). Advances in the physiology of gastric emptying. Neurogastroenterology & Motility, 31(4), e13546. https://doi.org/10.1111/nmo.13546

Ⓡ Green, T. R. F., & Rowe, R. K. (2024). Quantifying microglial morphology : An insight into function. Clinical and Experimental Immunology, 216(3), 221-229. https://doi.org/10.1093/cei/uxae023

Ⓡ Grill, H. J., & Hayes, M. R. (2012). Hindbrain neurons as an essential hub in the neuroanatomically distributed control of energy balance. Cell Metabolism, 16(3), 296-309. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.06.015 **Revue de référence sur le rôle du CVD dans la régulation du comportement alimentaire et le maintien de l'homéostasie glucidique.**

Ⓐ Grill, H. J., & Kaplan, J. M. (1992). Sham feeding in intact and chronic decerebrate rats. The American Journal of Physiology, 262(6 Pt 2), R1070-1074. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1992.262.6.R1070 **Articles historiques impliquant le CVD dans le contrôle du comportement alimentaire**

Ⓡ Grill, H. J., & Kaplan, J. M. (2002). The neuroanatomical axis for control of energy balance. Frontiers in Neuroendocrinology, 23(1), 2-40. https://doi.org/10.1006/frne.2001.0224

Ⓐ Grill, H. J., & Norgren, R. (1978a). Chronically decerebrate rats demonstrate satiation but not bait shyness. Science (New York, N.Y.), 201(4352), 267-269. https://doi.org/10.1126/science.663655 **Articles historiques impliquant le CVD dans le contrôle du comportement alimentaire**

Ⓡ Grill, H. J., & Norgren, R. (1978b). The taste reactivity test. II. Mimetic responses to gustatory stimuli in chronic thalamic and chronic decerebrate rats. Brain Research, 143(2), 281-297. https://doi.org/10.1016/0006-8993(78)90569-3

Ⓐ Grill, H. J., & Smith, G. P. (1988). Cholecystokinin decreases sucrose intake in chronic decerebrate rats. The American Journal of Physiology, 254(6 Pt 2), R853-856. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1988.254.6.R853 **Articles historiques impliquant le CVD dans le contrôle du comportement alimentaire**

Ⓐ Gropp, E., Shanabrough, M., Borok, E., Xu, A. W., Janoschek, R., Buch, T., Plum, L., Balthasar, N., Hampel, B., Waisman, A., Barsh, G. S., Horvath, T. L., & Brüning, J. C. (2005). Agouti-related peptide-expressing neurons are mandatory for feeding. Nature Neuroscience, 8(10), 1289-1291. https://doi.org/10.1038/nn1548

Ⓜ Grynkiewicz, G., Poenie, M., & Tsien, R. Y. (1985). A new generation of Ca2+ indicators with greatly improved fluorescence properties. The Journal of Biological Chemistry, 260(6), 3440-3450. PMID: 3838314.

Ⓡ Guillebaud, F. (2019). VGluT2 neuronal population of the arcuate nucleus : Towards a more balanced vision of food intake control. The Journal of Physiology, 597(11), 2835-2837. https://doi.org/10.1113/JP277842

ⓉⓂ Guillebaud, F., Duquenne, M., Djelloul, M., Pierre, C., Poirot, K., Roussel, G., Riad, S., Lanfray, D., Morin, F., Jean, A., Tonon, M.-C., Gaigé, S., Lebrun, B., Dallaporta, M., Leprince, J., Prevot, V., & Troadec, J.-D. (2020). Glial Endozepines Reverse High-Fat Diet-Induced Obesity by Enhancing Hypothalamic Response to Peripheral Leptin. Molecular Neurobiology, 57(8), Article 8. https://doi.org/10.1007/s12035-020-01944-z **Les astrocytes du CVD et de l'HYPmb ainsi que les vagliocytes les tanycytes expriment des endozépines, des molécules (possiblement des gliotransmetteurs) qui modulent la prise alimentaire en activant les voies anorexigènes via un mécanisme dépendant de la leptine et facilitant son transport tanycytique vers l'hypothalamus.**

Ⓣ Guillebaud, F., Girardet, C., Abysique, A., Gaigé, S., Barbouche, R., Verneuil, J., Jean, A., Leprince, J., Tonon, M.-C., Dallaporta, M., Lebrun, B., & Troadec, J.-D. (2017). Glial Endozepines Inhibit Feeding-Related Autonomic Functions by Acting at the Brainstem Level. Frontiers in Neuroscience, 11, 308. https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00308.**Les vagliocytes pourraient libérer l'ODN (de la famille des endozépines) et modifier l'excitabilité des neurocircuits NTS impliqués dans le contrôle de la prise alimentaire. Dans cet article, les vagliocytes sont ciblés avec un protocole proche de celui décrit dans l'étude 2.**

Ⓐ Gulley, S., Covasa, M., Ritter, R. C., & Sayegh, A. I. (2005). Cholecystokinin1 receptors mediate the increase in Fos-like immunoreactivity in the rat myenteric plexus following intestinal oleate infusion. Physiology & Behavior, 86(1-2), 128-135. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.07.001

Ⓜ Gump, J. M., & Dowdy, S. F. (2007). TAT transduction : The molecular mechanism and therapeutic prospects. Trends in Molecular Medicine, 13(10), 443-448. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2007.08.002 **Pour cibler spécifiquement les Cx43HC, nous avons utilisé le peptide TAT-Gap19, facilitant son internalisation cellulaire via la séquence TAT.**

Ⓜ Gundelfinger, E. D., Reissner, C., & Garner, C. C. (2015). Role of Bassoon and Piccolo in Assembly and Molecular Organization of the Active Zone. Frontiers in Synaptic Neuroscience, 7, 19. https://doi.org/10.3389/fnsyn.2015.00019

Ⓡ Gundersen, V., Storm-Mathisen, J., & Bergersen, L. H. (2015). Neuroglial Transmission. Physiological Reviews, 95(3), 695-726. https://doi.org/10.1152/physrev.00024.2014

Ⓡ Guo, H., Chen, P., Luo, R., Zhang, Y., Xu, X., & Gou, X. (2022). The Roles of Ciliary Neurotrophic Factor—From Neuronutrition to Energy Metabolism. Protein and Peptide Letters, 29(10), 815-828. https://doi.org/10.2174/0929866529666220905105800

Ⓐ Guo, J. J., Browning, K. N., Rogers, R. C., & Travagli, R. A. (2001). Catecholaminergic neurons in rat dorsal motor nucleus of vagus project selectively to gastric corpus. American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology, 280(3), G361-367. https://doi.org/10.1152/ajpgi.2001.280.3.G361

H

Ⓐ Hagan, M. M., Rushing, P. A., Pritchard, L. M., Schwartz, M. W., Strack, A. M., Van der Ploeg, L. H. T., Woods, S. C., & Seeley, R. J. (2000). Long-term orexigenic effects of AgRP-(83—132) involve mechanisms other than melanocortin receptor blockade. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 279(1), R47-R52. https://doi.org/10.1152/ajpregu.2000.279.1.R47

Ⓡ Halassa, M. M., Fellin, T., & Haydon, P. G. (2007). The tripartite synapse : Roles for gliotransmission in health and disease. Trends in Molecular Medicine, 13(2), 54-63. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2006.12.005

Ⓡ Hall, K. D., Hammond, R. A., & Rahmandad, H. (2014). Dynamic Interplay Among Homeostatic, Hedonic, and Cognitive Feedback Circuits Regulating Body Weight. American Journal of Public Health, 104(7), 1169-1175. https://doi.org/10.2105/AJPH.2014.301931

Ⓡ Hall, K. D., Heymsfield, S. B., Kemnitz, J. W., Klein, S., Schoeller, D. A., & Speakman, J. R. (2012). Energy balance and its components : Implications for body weight regulation123. The American Journal of Clinical Nutrition, 95(4), 989-994. https://doi.org/10.3945/ajcn.112.036350

Ⓐ Hall, K. D., Sacks, G., Chandramohan, D., Chow, C. C., Wang, Y. C., Gortmaker, S. L., & Swinburn, B. A. (2011). Quantification of the effect of energy imbalance on bodyweight. The Lancet, 378(9793), 826-837. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60812-X

Ⓐ Halmos, K. C., Gyarmati, P., Xu, H., Maimaiti, S., Jancsó, G., Benedek, G., & Smith, B. N. (2015). Molecular and functional changes in glucokinase expression in the brainstem dorsal vagal complex in a murine model of type 1 diabetes. Neuroscience, 306, 115-122. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.08.023

Ⓜ Hammond, S. L., Leek, A. N., Richman, E. H., & Tjalkens, R. B. (2017). Cellular selectivity of AAV serotypes for gene delivery in neurons and astrocytes by neonatal intracerebroventricular injection. PLOS ONE, 12(12), e0188830. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188830 **Les vecteurs AAV-DJ8 sous le promoteur GFAP ont une haute efficacité de transduction des cellules gliales, en particulier des astrocytes.**

Ⓐ Han, W., Tellez, L. A., Perkins, M. H., Perez, I. O., Qu, T., Ferreira, J., Ferreira, T. L., Quinn, D., Liu, Z.-W., Gao, X., Kaelberer, M. M., Bohórquez, D. V., Shammah-Lagnado, S. J., de Lartigue, G., & de Araujo, I. E. (2018). A Neural Circuit for Gut-Induced Reward. Cell, 175(3), 665-678.e23. https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.08.049

Ⓡ Hanisch, U.-K. (2002). Microglia as a source and target of cytokines. Glia, 40(2), 140-155. https://doi.org/10.1002/glia.10161

Ⓡ Hao, S., Yang, Y., Helmy, M., & Wang, H. (2020). Neural Regulation of Feeding Behavior. In H. Wang (Éd.), Neural Circuits of Innate Behaviors (p. 23-33). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-15-7086-5_3

Ⓐ Harkany, T., Tretiakov, E., Varela, L., Jarc, J., Rebernik, P., Newbold, S., Keimpema, E., Verkhratsky, A., Horvath, T., & Romanov, R. (2024). Molecularly stratified hypothalamic astrocytes are cellular foci for obesity. Research Square, rs.3.rs. https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3748581/v1 **Grâce à la méthode « AstroTRAP », la diversité des astrocytes de l'hypothalamus médiobasal (HYPmb) est mieux décrite, mettant en évidence des sous-populations d'astrocytes associées à des fonctions métaboliques spécifiques dans l'ARC, notamment la régulation de l'appétit, ainsi que le métabolisme des lipides et des hormones.**

Ⓡ Harris, A. L. (2007). Connexin channel permeability to cytoplasmic molecules. Progress in Biophysics and Molecular Biology, 94(1-2), 120-143. https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2007.03.011

Ⓐ Harris, R. B., Kasser, T. R., & Martin, R. J. (1986). Dynamics of recovery of body composition after overfeeding, food restriction or starvation of mature female rats. The Journal of Nutrition, 116(12), 2536-2546. https://doi.org/10.1093/jn/116.12.2536

ⓂⒶ Hasegawa, Y., Chen, S.-Y., Sheng, L., Jena, P. K., Kalanetra, K. M., Mills, D. A., Wan, Y.-J. Y., & Slupsky, C. M. (2020). Long-term effects of western diet consumption in male and female mice. Scientific Reports, 10(1), 14686. https://doi.org/10.1038/s41598-020-71592-9

Ⓐ Hasel, P., Rose, I. V. L., Sadick, J. S., Kim, R. D., & Liddelow, S. A. (2021). Neuroinflammatory astrocyte subtypes in the mouse brain. Nature Neuroscience, 24(10), 1475-1487. https://doi.org/10.1038/s41593-021-00905-6

ⓂⒶ Hassel, B., Paulsen, R. E., Johnsen, A., & Fonnum, F. (1992). Selective inhibition of glial cell metabolism in vivo by fluorocitrate. Brain Research, 576(1), 120-124. https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)90616-h

Ⓡ Hasser, E. M., Cunningham, J. T., Sullivan, M. J., Curtis, K. S., Blaine, E. H., & Hay, M. (2000). Area postrema and sympathetic nervous system effects of vasopressin and angiotensin II. Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology, 27(5-6), 432-436. https://doi.org/10.1046/j.1440-1681.2000.03261.x

Ⓡ Havel, P. J. (2001). Peripheral signals conveying metabolic information to the brain : Short-term and long-term regulation of food intake and energy homeostasis. Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.), 226(11), 963-977. https://doi.org/10.1177/153537020122601102

Ⓡ Hayes, M. R., Borner, T., & De Jonghe, B. C. (2021). The Role of GIP in the Regulation of GLP-1 Satiety and Nausea. Diabetes, 70(9), 1956-1961. https://doi.org/10.2337/dbi21-0004

Ⓐ Hayes, M. R., Bradley, L., & Grill, H. J. (2009). Endogenous Hindbrain Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Activation Contributes to the Control of Food Intake by Mediating Gastric Satiation Signaling. Endocrinology, 150(6), 2654-2659. https://doi.org/10.1210/en.2008-1479

Ⓐ Hayes, M. R., De Jonghe, B. C., & Kanoski, S. E. (2010). Role of the glucagon-like-peptide-1 receptor in the control of energy balance. Physiology & Behavior, 100(5), 503-510. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.02.029

Ⓐ Hayes, M. R., Skibicka, K. P., & Grill, H. J. (2008). Caudal Brainstem Processing Is Sufficient for Behavioral, Sympathetic, and Parasympathetic Responses Driven by Peripheral and Hindbrain Glucagon-Like-Peptide-1 Receptor Stimulation. Endocrinology, 149(8), 4059-4068. https://doi.org/10.1210/en.2007-1743

Ⓐ Hayes, M. R., Skibicka, K. P., Leichner, T. M., Guarnieri, D. J., DiLeone, R. J., Bence, K. K., & Grill, H. J. (2010). Endogenous leptin signaling in the caudal nucleus tractus solitarius and area postrema is required for energy balance regulation. Cell Metabolism, 11(1), 77-83. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.10.009

Ⓡ He, W., & Wu, G. (2020). Metabolism of Amino Acids in the Brain and Their Roles in Regulating Food Intake. Advances in Experimental Medicine and Biology, 1265, 167-185. https://doi.org/10.1007/978-3-030-45328-2_10

Ⓐ Hedegaard, M. A., & Holst, B. (2020). The Complex Signaling Pathways of the Ghrelin Receptor. Endocrinology, 161(4), bqaa020. https://doi.org/10.1210/endocr/bqaa020

Ⓡ Hegyi, K., Fülöp, K., Kovács, K., Tóth, S., & Falus, A. (2004). Leptin-induced signal transduction pathways. Cell Biology International, 28(3), 159-169. https://doi.org/10.1016/j.cellbi.2003.12.003

Ⓐ Heldsinger, A., Grabauskas, G., Song, I., & Owyang, C. (2011). Synergistic Interaction between Leptin and Cholecystokinin in the Rat Nodose Ganglia Is Mediated by PI3K and STAT3 Signaling Pathways : IMPLICATIONS FOR LEPTIN AS A REGULATOR OF SHORT TERM SATIETY *. Journal of Biological Chemistry, 286(13), 11707-11715. https://doi.org/10.1074/jbc.M110.198945

Ⓡ Henn, R. E., Noureldein, M. H., Elzinga, S. E., Kim, B., Savelieff, M. G., & Feldman, E. L. (2022). Glial-neuron crosstalk in health and disease : A focus on metabolism, obesity, and cognitive impairment. Neurobiology of Disease, 170, 105766. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105766

Ⓐ Henneberger, C., Papouin, T., Oliet, S. H. R., & Rusakov, D. A. (2010). Long-term potentiation depends on release of d-serine from astrocytes. Nature, 463(7278), 232-236. https://doi.org/10.1038/nature08673

Ⓐ Herbert, H., Moga, M. M., & Saper, C. B. (1990). Connections of the parabrachial nucleus with the nucleus of the solitary tract and the medullary reticular formation in the rat. The Journal of Comparative Neurology, 293(4), 540-580. https://doi.org/10.1002/cne.902930404

Ⓐ Herbert, H., & Saper, C. B. (1990). Cholecystokinin-, galanin-, and corticotropin-releasing factor-like immunoreactive projections from the nucleus of the solitary tract to the parabrachial nucleus in the rat. Journal of Comparative Neurology, 293(4), 581-598. https://doi.org/10.1002/cne.902930405

Ⓡ Herman, C. P., & Polivy, J. (1984). A boundary model for the regulation of eating. Research Publications - Association for Research in Nervous and Mental Disease, 62, 141-156.

Ⓐ Hermann, G. E., Viard, E., & Rogers, R. C. (2014). Hindbrain Glucoprivation Effects on Gastric Vagal Reflex Circuits and Gastric Motility in the Rat Are Suppressed by the Astrocyte Inhibitor Fluorocitrate. The Journal of Neuroscience, 34(32), 10488-10496. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1406-14.2014 **Le fluorocitrate, supprime l'activation des neurones du NTS et l'augmentation de la motilité gastrique induite par la glucoprivation.**

Ⓐ Hertz, L. (1965). Possible Role of Neuroglia : A Potassium-Mediated Neuronal – Neuroglial – Neuronal Impulse Transmission System. Nature, 206(4989), 1091-1094. https://doi.org/10.1038/2061091a0

Ⓐ Hetherington, A. W., & Ranson, S. W. (1940). Hypothalamic lesions and adiposity in the rat. The Anatomical Record, 78(2), 149-172. https://doi.org/10.1002/ar.1090780203

Ⓐ Hevener, A. L., Bergman, R. N., & Donovan, C. M. (2000). Portal vein afferents are critical for the sympathoadrenal response to hypoglycemia. Diabetes, 49(1), 8-12. https://doi.org/10.2337/diabetes.49.1.8

Ⓐ Heyman, M. B., Young, V. R., Fuss, P., Tsay, R., Joseph, L., & Roberts, S. B. (1992). Underfeeding and body weight regulation in normal-weight young men. The American Journal of Physiology, 263(2 Pt 2), R250-257. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1992.263.2.R250

Ⓐ Heymsfield, S. B., Greenberg, A. S., Fujioka, K., Dixon, R. M., Kushner, R., Hunt, T., Lubina, J. A., Patane, J., Self, B., Hunt, P., & McCamish, M. (1999). Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults : A randomized, controlled, dose-escalation trial. JAMA, 282(16), 1568-1575. https://doi.org/10.1001/jama.282.16.1568

Ⓐ Hild, W., Chang, J. J., & Tasaki, I. (1958). Electrical responses of astrocytic glia from the mammalian central nervous system cultivated in vitro. Experientia, 14(6), 220-221. https://doi.org/10.1007/BF02159099

Ⓐ Hill, D. R., Campbell, N. J., Shaw, T. M., & Woodruff, G. N. (1987). Autoradiographic localization and biochemical characterization of peripheral type CCK receptors in rat CNS using highly selective nonpeptide CCK antagonists. The

Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 7(9), 2967-2976. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.07-09-02967.1987

Ⓐ Hofer, A., & Dermietzel, R. (1998). Visualization and functional blocking of gap junction hemichannels (connexons) with antibodies against external loop domains in astrocytes. Glia, 24(1), 141-154. https://doi.org/10.1002/(sici)1098-1136(199809)24:1<141::aid-glia13>3.0.co;2-r **Premier rapport de l'ouverture des Cx43HC dans des cultures d'astrocytes en absence de Ca^{2+} extracellulaire.**

Ⓐ Hoffmann, A., Kann, O., Ohlemeyer, C., Hanisch, U.-K., & Kettenmann, H. (2003). Elevation of Basal Intracellular Calcium as a Central Element in the Activation of Brain Macrophages (Microglia) : Suppression of Receptor-Evoked Calcium Signaling and Control of Release Function. Journal of Neuroscience, 23(11), 4410-4419. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-11-04410.2003

Ⓐ Hofmann, G. C., Hasser, E. M., & Kline, D. D. (2021). Unilateral vagotomy alters astrocyte and microglial morphology in the nucleus tractus solitarii of the rat. American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 320(6), R945-R959. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00019.2021 **La microglie du CVD répond la vagotomie en adoptant un phénotype réactif.**

Ⓡ Holt, M. K. (2022). The ins and outs of the caudal nucleus of the solitary tract : An overview of cellular populations and anatomical connections. Journal of Neuroendocrinology, 34(6), e13132. https://doi.org/10.1111/jne.13132 **Revue récente et synthétique, décrivant les fonctions majeures du NTS postrémal et caudal et détaillant ses interactions bidirectionnelles avec le reste du SNC.**

Ⓐ Holt, M. K., Pomeranz, L. E., Beier, K. T., Reimann, F., Gribble, F. M., & Rinaman, L. (2019). Synaptic Inputs to the Mouse Dorsal Vagal Complex and Its Resident Preproglucagon Neurons. The Journal of Neuroscience, 39(49), 9767-9781. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2145-19.2019

Ⓐ Holt, M. K., Richards, J. E., Cook, D. R., Brierley, D. I., Williams, D. L., Reimann, F., Gribble, F. M., & Trapp, S. (2019). Preproglucagon Neurons in the Nucleus of the Solitary Tract Are the Main Source of Brain GLP-1, Mediate Stress-Induced Hypophagia, and Limit Unusually Large Intakes of Food. Diabetes, 68(1), 21-33. https://doi.org/10.2337/db18-0729

Ⓡ Holtzman, J. D. (2006). Food and Memory. Annual Review of Anthropology, 35(Volume 35, 2006), 361-378. https://doi.org/10.1146/annurev.anthro.35.081705.123220

Ⓐ Honda, T., Wada, E., Battey, J. F., & Wank, S. A. (1993). Differential Gene Expression of CCKA and CCKB Receptors in the Rat Brain. Molecular and Cellular Neuroscience, 4(2), 143-154. https://doi.org/10.1006/mcne.1993.1018

Ⓐ Hoogland, T. M., Kuhn, B., Göbel, W., Huang, W., Nakai, J., Helmchen, F., Flint, J., & Wang, S. S.-H. (2009). Radially expanding transglial calcium waves in the intact cerebellum. Proceedings of the National Academy of Sciences, 106(9), 3496-3501. https://doi.org/10.1073/pnas.0809269106

Ⓡ Hormuzdi, S. G., Filippov, M. A., Mitropoulou, G., Monyer, H., & Bruzzone, R. (2004). Electrical synapses : A dynamic signaling system that shapes the activity of neuronal networks. Biochimica Et Biophysica Acta, 1662(1-2), 113-137. https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2003.10.023

Ⓡ Hornby, P. J. (2001). Central neurocircuitry associated with emesis. The American Journal of Medicine, 111(8, Supplement 1), 106-112. https://doi.org/10.1016/S0002-9343(01)00849-X

Ⓐ Horvath, T. L., Bechmann, I., Naftolin, F., Kalra, S. P., & Leranth, C. (1997). Heterogeneity in the neuropeptide Y-containing neurons of the rat arcuate nucleus : GABAergic and non-GABAergic subpopulations. Brain Research, 756(1), 283-286. https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)00184-4

Ⓐ Houades, V., Rouach, N., Ezan, P., Kirchhoff, F., Koulakoff, A., & Giaume, C. (2006). Shapes of astrocyte networks in the juvenile brain. Neuron Glia Biology, 2(1), 3-14. https://doi.org/10.1017/S1740925X06000081

Ⓡ Hsu, J.-Y., Crawley, S., Chen, M., Ayupova, D. A., Lindhout, D. A., Higbee, J., Kutach, A., Joo, W., Gao, Z., Fu, D., To, C., Mondal, K., Li, B., Kekatpure, A., Wang, M., Laird, T., Horner, G., Chan, J., McEntee, M., … Allan, B. B. (2017). Non-homeostatic body weight regulation through a brainstem-restricted receptor for GDF15. Nature, 550(7675), 255-259. https://doi.org/10.1038/nature24042

Ⓐ Hsuchou, H., He, Y., Kastin, A. J., Tu, H., Markadakis, E. N., Rogers, R. C., Fossier, P. B., & Pan, W. (2009). Obesity induces functional astrocytic leptin receptors in hypothalamus. Brain, 132(4), 889-902. https://doi.org/10.1093/brain/awp029

Ⓐ Hsuchou, H., Pan, W., Barnes, M. J., & Kastin, A. J. (2009). Leptin receptor mRNA in rat brain astrocytes. Peptides, 30(12), 2275-2280. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2009.08.023

Ⓐ Huang, C., Han, X., Li, X., Lam, E., Peng, W., Lou, N., Torres, A., Yang, M., Garre, J. M., Tian, G.-F., Bennett, M. V. L., Nedergaard, M., & Takano, T. (2012). Critical role of connexin 43 in secondary expansion of traumatic spinal cord injury. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 32(10), 3333-3338.

https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1216-11.2012 **Dans un modèle de lésion médullaire, la libération persistante d'ATP par les hémicanaux Cx43 a contribué à l'aggravation des lésions secondaires et freiné la récupération fonctionnelle.**

Ⓐ Huang, D., Grady, F. S., Peltekian, L., & Geerling, J. C. (2021). Efferent projections of Vglut2, Foxp2, and Pdyn parabrachial neurons in mice. The Journal of Comparative Neurology, 529(4), 657-693. https://doi.org/10.1002/cne.24975

Ⓐ Huang, J., Hara, Y., Anrather, J., Speth, R. C., Iadecola, C., & Pickel, V. M. (2003). Angiotensin II subtype 1A (AT1A) receptors in the rat sensory vagal complex : Subcellular localization and association with endogenous angiotensin. Neuroscience, 122(1), 21-36. https://doi.org/10.1016/s0306-4522(03)00606-7

Ⓐ Hyde, T. M., & Miselis, R. R. (1983). Effects of area postrema/caudal medial nucleus of solitary tract lesions on food intake and body weight. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 244(4), R577-R587. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1983.244.4.R577 **Articles historiques impliquant le CVD dans le contrôle du comportement alimentaire**

I

Ⓜ Imai, Y., Ibata, I., Ito, D., Ohsawa, K., & Kohsaka, S. (1996). A novel gene iba1 in the major histocompatibility complex class III region encoding an EF hand protein expressed in a monocytic lineage. Biochemical and Biophysical Research Communications, 224(3), 855-862. https://doi.org/10.1006/bbrc.1996.1112

Ⓐ Ingram, S. M., Krause II, R. G., Baldino Jr., F., Skeen, L. C., & Lewis, M. E. (1989). Neuronal localization of cholecystokinin mRNA in the rat brain by using in situ hybridization histochemistry. Journal of Comparative Neurology, 287(2), 260-272. https://doi.org/10.1002/cne.902870209

Ⓡ Iordanova, R., & Reddivari, A. K. R. (2024). Neuroanatomy, Medulla Oblongata. In StatPearls. StatPearls Publishing. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551589/

Ⓐ Ishii, Y., Blundell, J. E., Halford, J. C. G., & Rodgers, R. J. (2003). Palatability, food intake and the behavioural satiety sequence in male rats. Physiology & Behavior, 80(1), 37-47. https://doi.org/10.1016/S0031-9384(03)00207-5

Ⓡ Izadi, M. S., & Radahmadi, M. (2022). Overview of the central amygdala role in feeding behaviour. British Journal of Nutrition, 127(6), 953-960. https://doi.org/10.1017/S0007114521002312

J

Ⓡ Jais, A., & Brüning, J. C. (2021). Arcuate nucleus-dependent regulation of metabolism—Pathways to obesity and diabetes mellitus. Endocrine Reviews, bnab025. https://doi.org/10.1210/endrev/bnab025

Ⓐ James, W. P., Davies, H. L., Bailes, J., & Dauncey, M. J. (1978). Elevated metabolic rates in obesity. Lancet (London, England), 1(8074), 1122-1125. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(78)90300-8

Ⓡ J Janssen, P., Vanden Berghe, P., Verschueren, S., Lehmann, A., Depoortere, I., & Tack, J. (2011). Review article : The role of gastric motility in the control of food intake. Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 33(8), 880-894. https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2011.04609.x

Ⓐ Jarvis, C. R., & Andrew, R. D. (1988). Correlated electrophysiology and morphology of the ependyma in rat hypothalamus. The Journal of Neuroscience, 8(10), 3691. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.08-10-03691.1988

Ⓡ Jean, A. (1991). Le noyau du faisceau solitaire : Aspects neuroanatomiques, neurochimiques et fonctionnels. Archives Internationales de Physiologie, de Biochimie et de Biophysique, 99(5), A3-A52. https://doi.org/10.3109/13813459109145916 **Bien que datant de 1991, cette revue reste une référence incontournable sur les aspects anatomiques et histochimiques du NTS.**

Ⓡ Jean, A. (2001). Brain Stem Control of Swallowing : Neuronal Network and Cellular Mechanisms. Physiological Reviews, 81(2), Article 2. https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.2.929

Ⓐ Jeanson, T., Pondaven, A., Ezan, P., Mouthon, F., Charvériat, M., & Giaume, C. (2015). Antidepressants Impact Connexin 43 Channel Functions in Astrocytes. Frontiers in Cellular Neuroscience, 9, 495. https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00495

Ⓡ Jellinger, K. A. (2003). The tripartite synapse Glia in Synaptic Transmission. European Journal of Neurology, 10(2), 196-197. https://doi.org/10.1046/j.1468-1331.2003.05568.x

Ⓐ Jensen, C. B., Pyke, C., Rasch, M. G., Dahl, A. B., Knudsen, L. B., & Secher, A. (2018). Characterization of the Glucagonlike Peptide-1 Receptor in Male Mouse Brain Using a Novel Antibody and In Situ Hybridization. Endocrinology, 159(2), 665-675. https://doi.org/10.1210/en.2017-00812

Ⓡ Jha, M. K., Jo, M., Kim, J.-H., & Suk, K. (2019). Microglia-Astrocyte Crosstalk : An Intimate Molecular Conversation. The Neuroscientist, 25(3), 227-240. https://doi.org/10.1177/1073858418783959

Ⓐ Jheng, H.-F., Tsai, P.-J., Guo, S.-M., Kuo, L.-H., Chang, C.-S., Su, I.-J., Chang, C.-R., & Tsai, Y.-S. (2012). Mitochondrial fission contributes to mitochondrial dysfunction and insulin resistance in skeletal muscle. Molecular and Cellular Biology, 32(2), 309-319. https://doi.org/10.1128/MCB.05603-11

Ⓐ Jimenez-Gonzalez, M., Li, R., Pomeranz, L. E., Alvarsson, A., Marongiu, R., Hampton, R. F., Kaplitt, M. G., Vasavada, R. C., Schwartz, G. J., & Stanley, S. A. (2022). Mapping and targeted viral activation of pancreatic nerves in mice reveal their roles in the regulation of glucose metabolism. Nature biomedical engineering, 6(11), 1298-1316. https://doi.org/10.1038/s41551-022-00909-y

Ⓐ Jin, S., & Diano, S. (2018). Mitochondrial Dynamics and Hypothalamic Regulation of Metabolism. Endocrinology, 159(10), 3596-3604. https://doi.org/10.1210/en.2018-00667

Ⓐ Jin, Y.-H., Bailey, T. W., & Andresen, M. C. (2004). Cranial afferent glutamate heterosynaptically modulates GABA release onto second-order neurons via distinctly segregated metabotropic glutamate receptors. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 24(42), 9332-9340. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1991-04.2004

Ⓡ Jobst, E. E., Enriori, P. J., & Cowley, M. A. (2004). The electrophysiology of feeding circuits. Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM, 15(10), 488-499. https://doi.org/10.1016/j.tem.2004.10.007

Ⓐ Johannsen, D. L., Knuth, N. D., Huizenga, R., Rood, J. C., Ravussin, E., & Hall, K. D. (2012). Metabolic slowing with massive weight loss despite preservation of fat-free mass. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 97(7), 2489-2496. https://doi.org/10.1210/jc.2012-1444

Ⓐ John, S. A., Kondo, R., Wang, S. Y., Goldhaber, J. I., & Weiss, J. N. (1999). Connexin-43 hemichannels opened by metabolic inhibition. The Journal of Biological Chemistry, 274(1), 236-240. https://doi.org/10.1074/jbc.274.1.236

Ⓡ Johnson, A. K., & Gross, P. M. (1993). Sensory circumventricular organs and brain homeostatic pathways. The FASEB Journal, 7(8), 678-686. https://doi.org/10.1096/fasebj.7.8.8500693

Ⓡ Johnson, R. W. (2002). The concept of sickness behavior : A brief chronological account of four key discoveries. Veterinary Immunology and Immunopathology, 87(3-4), 443-450. https://doi.org/10.1016/s0165-2427(02)00069-7

Ⓐ Johnstone, A. M., Murison, S. D., Duncan, J. S., Rance, K. A., & Speakman, J. R. (2005). Factors influencing variation in basal metabolic rate include fat-free mass, fat mass, age, and circulating thyroxine but not sex, circulating leptin, or triiodothyronine. The American Journal of Clinical Nutrition, 82(5), 941-948. https://doi.org/10.1093/ajcn/82.5.941

K

Ⓡ Kahn, B. B. (1998). Type 2 diabetes : When insulin secretion fails to compensate for insulin resistance. Cell, 92(5), 593-596. https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81125-3

Ⓡ Kakouri, A., Kanti, G., Kapantais, E., Kokkinos, A., Lanaras, L., Farajian, P., Galanakis, C., Georgantopoulos, G., Vlahos, N. F., Mastorakos, G., Bargiota, A., & Valsamakis, G. (2021). New Incretin Combination Treatments under Investigation in Obesity and Metabolism : A Systematic Review. Pharmaceuticals (Basel, Switzerland), 14(9), 869. https://doi.org/10.3390/ph14090869

Ⓐ Kalia, M., Fuxe, K., Goldstein, M., Harfstrand, A., Agnati, L. F., & Coyle, J. T. (1984). Evidence for the existence of putative dopamine-, adrenaline- and noradrenaline-containing vagal motor neurons in the brainstem of the rat. Neuroscience Letters, 50(1-3), 57-62. https://doi.org/10.1016/0304-3940(84)90462-2

Ⓐ Kálmán, M., Oszwald, E., & Pócsai, K. (2023). Three-plane description of astroglial architecture and gliovascular connections of area postrema in rat : Long tanycyte connections to other parts of brainstem. The Journal of Comparative Neurology, 531(8), 866-887. https://doi.org/10.1002/cne.25470 **Les vagliocytes expriment des protéines de jonctions serrées, comme la claudine et la Zonula Occludens-1.**

Ⓐ Kamasawa, N., Sik, A., Morita, M., Yasumura, T., Davidson, K. G. V., Nagy, J. I., & Rash, J. E. (2005). Connexin-47 and connexin-32 in gap junctions of oligodendrocyte somata, myelin sheaths, paranodal loops and Schmidt-Lanterman incisures : Implications for ionic homeostasis and potassium siphoning. Neuroscience, 136(1), 65-86. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.08.027

Ⓐ Kang, J., Kang, N., Lovatt, D., Torres, A., Zhao, Z., Lin, J., & Nedergaard, M. (2008). Connexin 43 hemichannels are permeable to ATP. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 28(18), 4702-4711. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5048-07.2008 **Données convaincantes indiquant que les Cx43HC peuvent permettre la libération d'ATP.**

Ⓐ Kaplan, J. M., & Grill, H. J. (1989). Swallowing during ongoing fluid ingestion in the rat. Brain Research, 499(1), 63-80. https://doi.org/10.1016/0006-8993(89)91135-9 **Articles historiques impliquant le CVD dans le contrôle du comportement alimentaire.**

Ⓐ Kasymov, V., Larina, O., Castaldo, C., Marina, N., Patrushev, M., Kasparov, S., & Gourine, A. V. (2013). Differential Sensitivity of Brainstem versus Cortical Astrocytes to Changes in pH Reveals Functional Regional Specialization of Astroglia. Journal of Neuroscience, 33(2), 435-441. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2813-12.2013

Ⓐ Katakowski, M., Buller, B., Wang, X., Rogers, T., & Chopp, M. (2010). Functional MicroRNA Is Transferred between Glioma Cells. Cancer Research, 70(21), 8259-8263. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-0604

Ⓐ Kawai, Y., & Senba, E. (1996). Organization of excitatory and inhibitory local networks in the caudal nucleus of tractus solitarius of rats revealed in in vitro slice preparation. Journal of Comparative Neurology, 373(3), 309-321. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19960923)373:3<309::AID-CNE1>3.0.CO;2-6

Ⓐ Kawatani, M., Yamada, Y., & Kawatani, M. (2018). Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) action in the mouse area postrema neurons. Peptides, 107, 68-74. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2018.07.010

Ⓐ Kennedy, G. C. (1953). The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, 140(901), 578-596. https://doi.org/10.1098/rspb.1953.0009

Ⓡ Kettenmann, H., Hanisch, U.-K., Noda, M., & Verkhratsky, A. (2011). Physiology of Microglia. Physiological Reviews, 91(2), 461-553. https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2010

Ⓡ Kettenmann, H., & Verkhratsky, A. (2008). Neuroglia : The 150 years after. Trends in Neurosciences, 31(12), 653-659. https://doi.org/10.1016/j.tins.2008.09.003

Ⓡ Khakh, B. S., & Deneen, B. (2019). The Emerging Nature of Astrocyte Diversity. Annual Review of Neuroscience, 42(Volume 42, 2019), 187-207. https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-070918-050443

Ⓐ Kim, J. G., Suyama, S., Koch, M., Jin, S., Argente-Arizon, P., Argente, J., Liu, Z.-W., Zimmer, M. R., Jeong, J. K., Szigeti-Buck, K., Gao, Y., Garcia-Caceres, C., Yi, C.-X., Salmaso, N., Vaccarino, F. M., Chowen, J., Diano, S., Dietrich, M. O., Tschöp, M. H., & Horvath, T. L. (2014). Leptin signaling in astrocytes regulates hypothalamic neuronal circuits and feeding. Nature Neuroscience, 17(7), 908-910. https://doi.org/10.1038/nn.3725

Ⓡ Kim, K.-S., Seeley, R. J., & Sandoval, D. A. (2018). Signalling from the periphery to the brain that regulates energy homeostasis. Nature Reviews Neuroscience, 19(4), Article 4. https://doi.org/10.1038/nrn.2018.8

Ⓡ Kim, M., Heo, G., & Kim, S.-Y. (2022). Neural signalling of gut mechanosensation in ingestive and digestive processes. Nature Reviews Neuroscience, 23(3), 135-156. https://doi.org/10.1038/s41583-021-00544-7

Ⓐ Kim, S.-R., & Kim, S.-Y. (2021). Functional Dissection of Glutamatergic and GABAergic Neurons in the Bed Nucleus of the Stria Terminalis. Molecules and Cells, 44(2), 63-67. https://doi.org/10.14348/molcells.2021.0006

Ⓡ Kimelberg, H. K. (2004). The problem of astrocyte identity. Neurochemistry International, 45(2-3), 191-202. https://doi.org/10.1016/j.neuint.2003.08.015

Ⓐ Kinzig, K. P., D'Alessio, D. A., Herman, J. P., Sakai, R. R., Vahl, T. P., Figueiredo, H. F., Murphy, E. K., & Seeley, R. J. (2003). CNS Glucagon-Like Peptide-1 Receptors Mediate Endocrine and Anxiety Responses to Interoceptive and Psychogenic Stressors. The Journal of Neuroscience, 23(15), 6163-6170. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-15-06163.2003

Ⓐ Kishi, T., Aschkenasi, C. J., Lee, C. E., Mountjoy, K. G., Saper, C. B., & Elmquist, J. K. (2003). Expression of melanocortin 4 receptor mRNA in the central nervous system of the rat. The Journal of Comparative Neurology, 457(3), 213-235. https://doi.org/10.1002/cne.10454

Ⓐ Kittner, H., Franke, H., Harsch, J. I., El-Ashmawy, I. M., Seidel, B., Krügel, U., & Illes, P. (2006). Enhanced food intake after stimulation of hypothalamic P2Y1 receptors in rats : Modulation of feeding behaviour by extracellular nucleotides. The European Journal of Neuroscience, 24(7), 2049-2056. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05071.x

Ⓐ Klaassen, L. J., Sun, Z., Steijaert, M. N., Bolte, P., Fahrenfort, I., Sjoerdsma, T., Klooster, J., Claassen, Y., Shields, C. R., Eikelder, H. M. M. T., Janssen-Bienhold, U., Zoidl, G., McMahon, D. G., & Kamermans, M. (2011). Synaptic Transmission from Horizontal Cells to Cones Is Impaired by Loss of Connexin Hemichannels. PLOS Biology, 9(7), e1001107. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001107

Ⓡ Klip, A., & Hawkins, M. (2005). Desperately seeking sugar : Glial cells as hypoglycemia sensors. The Journal of Clinical Investigation, 115(12), 3403-3405. https://doi.org/10.1172/JCI27208

Ⓡ Knudsen, L. B., & Lau, J. (2019). The Discovery and Development of Liraglutide and Semaglutide. Frontiers in Endocrinology, 10, 155. https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00155

Ⓡ Koepsell, H. (2020). Glucose transporters in brain in health and disease. Pflugers Archiv: European Journal of Physiology, 472(9), 1299-1343. https://doi.org/10.1007/s00424-020-02441-x

Ⓡ Kofuji, P., & Newman, E. A. (2004). Potassium buffering in the central nervous system. Neuroscience, 129(4), 1045-1056. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.06.008

Ⓐ Kohnke, S., Buller, S., Nuzzaci, D., Ridley, K., Lam, B., Pivonkova, H., Bentsen, M. A., Alonge, K. M., Zhao, C., Tadross, J., Holmqvist, S., Shimizu, T., Hathaway, H., Li, H., Macklin, W., Schwartz, M. W., Richardson, W. D., Yeo, G. S. H., Franklin, R. J. M., … Blouet, C. (2021). Nutritional regulation of oligodendrocyte differentiation regulates perineuronal net remodeling in the median eminence. Cell Reports, 36(2). https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109362

Ⓐ Kondo, R. P., Wang, S.-Y., John, S. A., Weiss, J. N., & Goldhaber, J. I. (2000). Metabolic Inhibition Activates a Non-selective Current Through Connexin Hemichannels in Isolated Ventricular Myocytes. Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 32(10), 1859-1872. https://doi.org/10.1006/jmcc.2000.1220

Ⓡ Konturek, S. J., & Konturek, J. W. (2000). Cephalic phase of pancreatic secretion. Appetite, 34(2), 197-205. https://doi.org/10.1006/appe.1999.0281

Ⓐ Konturek, S. J., Konturek, P. C., Pawlik, T., Sliwowski, Z., Ochmański, W., & Hahn, E. G. (2004). Duodenal mucosal protection by bicarbonate secretion and its mechanisms. Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society, 55 Suppl 2, 5-17.

Ⓡ Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2016). Neurobiology of addiction : A neurocircuitry analysis. The Lancet. Psychiatry, 3(8), 760-773. https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)00104-8

Ⓐ Koren, M. S., & Holmes, M. D. (2006). Vagus nerve stimulation does not lead to significant changes in body weight in patients with epilepsy. Epilepsy & Behavior, 8(1), 246-249. https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2005.10.001

Ⓡ Korzhevskii, D. E., & Kirik, O. V. (2016). Brain Microglia and Microglial Markers. Neuroscience and Behavioral Physiology, 46(3), 284-290. https://doi.org/10.1007/s11055-016-0231-z

Ⓡ Koval, M. (2006). Pathways and control of connexin oligomerization. Trends in Cell Biology, 16(3), 159-166. https://doi.org/10.1016/j.tcb.2006.01.006

Ⓡ Krashes, M. J., Lowell, B. B., & Garfield, A. S. (2016). Melanocortin-4 receptor–regulated energy homeostasis. Nature Neuroscience, 19(2), 206-219. https://doi.org/10.1038/nn.4202

Ⓐ Krolczyk, G., Zurowski, D., Sobocki, J., Słowiaczek, M. P., Laskiewicz, J., Matyja, A., Zaraska, K., Zaraska, W., & Thor, P. J. (2001). Effects of continuous microchip (MC) vagal neuromodulation on gastrointestinal function in rats. Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society, 52(4 Pt 1), 705-715.

Ⓐ Krowicki, Z. k., Sharkey, K. a., Serron, S. c., Nathan, N. a., & Hornby, P. j. (1997). Distribution of nitric oxide synthase in rat dorsal vagal complex and effects of microinjection of nitric oxide compounds upon gastric motor function. Journal of Comparative Neurology, 377(1), 49-69. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19970106)377:1<49::AID-CNE6>3.0.CO;2-J

Ⓐ Kuchibhotla, K. V., Lattarulo, C. R., Hyman, B. T., & Bacskai, B. J. (2009). Synchronous hyperactivity and intercellular calcium waves in astrocytes in Alzheimer mice. Science (New York, N.Y.), 323(5918), 1211-1215. https://doi.org/10.1126/science.1169096

Ⓐ Kuga, N., Sasaki, T., Takahara, Y., Matsuki, N., & Ikegaya, Y. (2011). Large-Scale Calcium Waves Traveling through Astrocytic Networks In Vivo. Journal of Neuroscience, 31(7), 2607-2614. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5319-10.2011

Ⓡ Kullmann, S., Kleinridders, A., Small, D. M., Fritsche, A., Häring, H.-U., Preissl, H., & Heni, M. (2020). Central nervous pathways of insulin action in the control of metabolism and food intake. The Lancet Diabetes & Endocrinology, 8(6), 524-534. https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30113-3

Ⓐ Kunze, A., Congreso, M. R., Hartmann, C., Wallraff-Beck, A., Hüttmann, K., Bedner, P., Requardt, R., Seifert, G., Redecker, C., Willecke, K., Hofmann, A., Pfeifer, A., Theis, M., & Steinhäuser, C. (2009). Connexin expression by radial glia-like cells is required for neurogenesis in the adult dentate gyrus. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 106(27), 11336-11341. https://doi.org/10.1073/pnas.0813160106

Ⓐ Kupari, J., Häring, M., Agirre, E., Castelo-Branco, G., & Ernfors, P. (2019). An Atlas of Vagal Sensory Neurons and Their Molecular Specialization. Cell Reports, 27(8), 2508-2523.e4. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.04.096

L Ⓡ Laird, D. W. (2006). Life cycle of connexins in health and disease. Biochemical Journal, 394(3), 527-543. https://doi.org/10.1042/BJ20051922. **Revue incontournable sur le turn over des connexines dans des conditions physiologiques et pathologiques.**

Ⓐ Lam, C. K. L., Chari, M., Rutter, G. A., & Lam, T. K. T. (2011). Hypothalamic nutrient sensing activates a forebrain-hindbrain neuronal circuit to regulate glucose production in vivo. Diabetes, 60(1), 107-113. https://doi.org/10.2337/db10-0994

Ⓐ Lam, T. K. T., Gutierrez-Juarez, R., Pocai, A., & Rossetti, L. (2005). Regulation of blood glucose by hypothalamic pyruvate metabolism. Science (New York, N.Y.), 309(5736), 943-947. https://doi.org/10.1126/science.1112085

Ⓐ Lambert, P. D., Anderson, K. D., Sleeman, M. W., Wong, V., Tan, J., Hijarunguru, A., Corcoran, T. L., Murray, J. D., Thabet, K. E., Yancopoulos, G. D., & Wiegand, S. J. (2001). Ciliary neurotrophic factor activates leptin-like pathways and reduces body fat, without cachexia or rebound weight gain, even in leptin-resistant obesity. Proceedings of the National Academy of Sciences, 98(8), 4652-4657. https://doi.org/10.1073/pnas.061034298

Ⓐ Lamy, C. M., Sanno, H., Labouèbe, G., Picard, A., Magnan, C., Chatton, J.-Y., & Thorens, B. (2014). Hypoglycemia-Activated GLUT2 Neurons of the Nucleus Tractus Solitarius Stimulate Vagal Activity and Glucagon Secretion. Cell Metabolism, 19(3), 527-538. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.02.003

Ⓡ Lanciego, J. L., & Wouterlood, F. G. (2020). Neuroanatomical tract-tracing techniques that did go viral. Brain Structure & Function, 225(4), 1193-1224. https://doi.org/10.1007/s00429-020-02041-6

Ⓐ Lanfray, D., Arthaud, S., Ouellet, J., Compere, V., Do Rego, J.-L., Leprince, J., Lefranc, B., Castel, H., Bouchard, C., Monge-Roffarello, B., Richard, D., Pelletier, G., Vaudry, H., Tonon, M.-C., & Morin, F. (2013). Gliotransmission and Brain Glucose Sensing : Critical Role of Endozepines. Diabetes, 62(3), Article 3. https://doi.org/10.2337/db11-0785

Ⓐ Langer, J., Stephan, J., Theis, M., & Rose, C. R. (2012). Gap junctions mediate intercellular spread of sodium between hippocampal astrocytes in situ. Glia, 60(2), 239-252. https://doi.org/10.1002/glia.21259

Ⓡ Langhans, W., Watts, A. G., & Spector, A. C. (2023). The elusive cephalic phase insulin response : Triggers, mechanisms, and functions. Physiological Reviews, 103(2), 1423-1485. https://doi.org/10.1152/physrev.00025.2022

ⓂⓇ Langlet, F. (2020). Targeting tanycytes : Balance between efficiency and specificity. Neuroendocrinology. https://doi.org/10.1159/000505549 **Injection de TAT-Cre dans le 3V pour cibler spécifiquement les tanycytes.**

ⓂⒶ Langlet, F., Levin, B. E., Luquet, S., Mazzone, M., Messina, A., Dunn-Meynell, A. A., Balland, E., Lacombe, A., Mazur, D., Carmeliet, P., Bouret, S. G., Prevot, V., & Dehouck, B. (2013). Tanycytic VEGF-A Boosts Blood-Hypothalamus Barrier Plasticity and Access of Metabolic Signals to the Arcuate Nucleus in Response to Fasting. Cell Metabolism, 17(4), Article 4. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.03.004. **Injection de TAT-Cre dans le 3V pour cibler spécifiquement les tanycytes.**

Ⓐ Langlet, F., Mullier, A., Bouret, S. G., Prevot, V., & Dehouck, B. (2013). Tanycyte-like cells form a blood-cerebrospinal fluid barrier in the circumventricular organs of the mouse brain. The Journal of Comparative Neurology, 521(15), 3389-3405. https://doi.org/10.1002/cne.23355 **Principales analogies et différences entre les tanycytes et les tanycytes-like-cells dont les vagliocytes.**

Ⓡ Lapato, A. S., & Tiwari-Woodruff, S. K. (2018). Connexins and pannexins : At the junction of neuro-glial homeostasis & disease. Journal of Neuroscience Research, 96(1), 31-44. https://doi.org/10.1002/jnr.24088

Ⓐ LaPierre, M. P., Abraham, M. A., Yue, J. T. Y., Filippi, B. M., & Lam, T. K. T. (2015). Glucagon signalling in the dorsal vagal complex is sufficient and necessary for high-protein feeding to regulate glucose homeostasis in vivo. EMBO Reports, 16(10), 1299-1307. https://doi.org/10.15252/embr.201540492

Ⓐ Larsen, P. J., Tang-Christensen, M., Holst, J. J., & Orskov, C. (1997). Distribution of glucagon-like peptide-1 and other preproglucagon-derived peptides in the rat hypothalamus and brainstem. Neuroscience, 77(1), 257-270. https://doi.org/10.1016/s0306-4522(96)00434-4

ⓂⒶ Lau, J., Farzi, A., Qi, Y., Heilbronn, R., Mietzsch, M., Shi, Y.-C., & Herzog, H. (2018). CART neurons in the arcuate nucleus and lateral hypothalamic area exert differential controls on energy homeostasis. Molecular Metabolism, 7, 102. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.10.015 **Modalités d'administration du 4-OHT utilisées dans l'étude 2.**

Ⓐ Lauf, U., Giepmans, B. N. G., Lopez, P., Braconnot, S., Chen, S.-C., & Falk, M. M. (2002). Dynamic trafficking and delivery of connexons to the plasma membrane and accretion to gap junctions in living cells. Proceedings of the National Academy of Sciences, 99(16), 10446-10451. https://doi.org/10.1073/pnas.162055899

Ⓐ Lawson, L. J., Perry, V. H., Dri, P., & Gordon, S. (1990). Heterogeneity in the distribution and morphology of microglia in the normal adult mouse brain. Neuroscience, 39(1), 151-170. https://doi.org/10.1016/0306-4522(90)90229-w

Ⓡ Le Magnen, J. (1972). Regulation of food intake. Physiologic-biochemical aspects (peripheral regulatory factors). Advances in Psychosomatic Medicine, 7, 73-90.

Ⓡ LeBlanc, J. (2000). Nutritional implications of cephalic phase thermogenic responses. Appetite, 34(2), 214-216. https://doi.org/10.1006/appe.1999.0283

Ⓣ Lebrun, B., **Barbot, M.**, Tonon, M.-C., Prévot, V., Leprince, J., & Troadec, J.-D. (2021). Glial endozepines and energy balance: Old peptides with new tricks. Glia, 69(5), 1079-1093. https://doi.org/10.1002/glia.23927 **Cette revue vise à faire le point sur les connaissances actuelles concernant le rôle des endozépines, produites par les cellules gliales,**

dans la régulation centrale et périphérique de l'équilibre énergétique, en mettant en lumière la diversité de leurs mécanismes d'action et les questions encore en suspens.

Ⓣ Lebrun, B., Tardivel, C., Félix, B., Abysique, A., Troadec, J.-D., Gaigé, S., & Dallaporta, M. (2015). Dysregulation of energy balance by trichothecene mycotoxins : Mechanisms and prospects. Neurotoxicology, 49, 15-27. https://doi.org/10.1016/j.neuro.2015.04.009

Ⓡ Lecca, D., Ceruti, S., Fumagalli, M., & Abbracchio, M. P. (2012). Purinergic trophic signalling in glial cells : Functional effects and modulation of cell proliferation, differentiation, and death. Purinergic Signalling, 8(3), 539-557. https://doi.org/10.1007/s11302-012-9310-y

Ⓡ Lechan, R. M., & Fekete, C. (2004). Feedback regulation of thyrotropin-releasing hormone (TRH) : Mechanisms for the non-thyroidal illness syndrome. Journal of Endocrinological Investigation, 27(6 Suppl), 105-119.

Ⓐ Lee, H. Y., Whiteside, M. B., & Herkenham, M. (1998). Area postrema removal abolishes stimulatory effects of intravenous interleukin-1β on hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and c-fos mRNA in the hypothalamic paraventricular nucleus. Brain Research Bulletin, 46(6), 495-503. https://doi.org/10.1016/S0361-9230(98)00045-8

Ⓐ Lee, Y. S., Challis, B. G., Thompson, D. A., Yeo, G. S. H., Keogh, J. M., Madonna, M. E., Wraight, V., Sims, M., Vatin, V., Meyre, D., Shield, J., Burren, C., Ibrahim, Z., Cheetham, T., Swift, P., Blackwood, A., Hung, C.-C. C., Wareham, N. J., Froguel, P., … Farooqi, I. S. (2006). A POMC variant implicates beta-melanocyte-stimulating hormone in the control of human energy balance. Cell Metabolism, 3(2), 135-140. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.01.006

Ⓐ Lehre, K. P., & Danbolt, N. C. (1998). The number of glutamate transporter subtype molecules at glutamatergic synapses : Chemical and stereological quantification in young adult rat brain. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 18(21), 8751-8757. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-21-08751.1998

Ⓐ Leibel, R. L., Rosenbaum, M., & Hirsch, J. (1995). Changes in Energy Expenditure Resulting from Altered Body Weight. New England Journal of Medicine, 332(10), 621-628. https://doi.org/10.1056/NEJM199503093321001

Ⓐ Leloup, C., Arluison, M., Lepetit, N., Cartier, N., Marfaing-Jallat, P., Ferré, P., & Pénicaud, L. (1994). Glucose transporter 2 (GLUT 2) : Expression in specific brain nuclei. Brain Research, 638(1-2), 221-226. https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)90653-x **Dans le CVD, les astrocytes expriment GLUT2.**

Ⓡ Levin, B. E. (2002). Metabolic sensors : Viewing glucosensing neurons from a broader perspective. Physiology & Behavior, 76(3), 397-401. https://doi.org/10.1016/s0031-9384(02)00763-1

Ⓡ Levin, B. E., Magnan, C., Dunn-Meynell, A., & Le Foll, C. (2011). Metabolic sensing and the brain : Who, what, where, and how? Endocrinology, 152(7), 2552-2557. https://doi.org/10.1210/en.2011-0194

Ⓐ Levine, J. M., Enquist, L. W., & Card, J. P. (1998). Reactions of oligodendrocyte precursor cells to alpha herpesvirus infection of the central nervous system. Glia, 23(4), 316-328. https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1136(199808)23:4<316::AID-GLIA4>3.0.CO;2-0

Ⓡ Levitsky, D. A. (2002). Putting behavior back into feeding behavior : A tribute to George Collier. Appetite, 38(2), 143-148. https://doi.org/10.1006/appe.2001.0465

Ⓡ Levitsky, D. A. (2005). The non-regulation of food intake in humans : Hope for reversing the epidemic of obesity. Physiology & Behavior, 86(5), 623-632. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.08.053

Ⓐ Lhomme, T., Clasadonte, J., Imbernon, M., Fernandois, D., Sauve, F., Caron, E., Lima, N. da S., Heras, V., Martinez-Corral, I., Mueller-Fielitz, H., Rasika, S., Schwaninger, M., Nogueiras, R., & Prevot, V. (2021). Tanycytic networks mediate energy balance by feeding lactate to glucose-insensitive POMC neurons. The Journal of Clinical Investigation, 131(18). https://doi.org/10.1172/JCI140521 **Étude montrant que les Cx43GJ des tanycytes facilitent le transfert de lactate vers les neurones POMC, un processus compromis par la perte de Cx43 et associé à une baisse de Glut2 et de la lactate déshydrogénase.**

Ⓐ Li, M. M., Madara, J. C., Steger, J. S., Krashes, M. J., Balthasar, N., Campbell, J. N., Resch, J. M., Conley, N. J., Garfield, A. S., & Lowell, B. B. (2019). The Paraventricular Hypothalamus Regulates Satiety and Prevents Obesity via Two Genetically Distinct Circuits. Neuron, 102(3), 653-667.e6. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.02.028

Ⓐ Li, Q., Zhou, B., Su, M., Liao, P., Lei, F., Li, X., Liao, D., Zhang, X., & Jiang, R. (2023). Visualization and Characterization of the Brain Regional Heterogeneity of Astrocyte–Astrocyte Structural Interactions by Using Improved Iontophoresis with Dual-Fluorescent Dyes. Brain Sciences, 13(12), Article 12. https://doi.org/10.3390/brainsci13121644

Ⓐ Li, R. J. W., Batchuluun, B., Zhang, S.-Y., Abraham, M. A., Wang, B., Lim, Y.-M., Yue, J. T. Y., & Lam, T. K. T. (2021). Nutrient infusion in the dorsal vagal complex controls hepatic lipid and glucose metabolism in rats. iScience, 24(4). https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102366

Ⓐ Li, R. J. W., Chiu, J. F. M., Bruce, K., Zhang, S.-Y., Barros, D. R., Yue, J. T. Y., & Lam, T. K. T. (2023). A glucose-sensing mechanism with glucose transporter 1 and pyruvate kinase in the area postrema regulates hepatic glucose production in rats. Journal of Biological Chemistry, 299(5). https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.104633

Ⓡ Li, S.-B., & de Lecea, L. (2020). The hypocretin (orexin) system : From a neural circuitry perspective. Neuropharmacology, 167, 107993. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.107993

Ⓐ Li, Y., Wu, X., Zhao, Y., Chen, S., & Owyang, C. (2006). Ghrelin acts on the dorsal vagal complex to stimulate pancreatic protein secretion. American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology, 290(6), G1350-1358. https://doi.org/10.1152/ajpgi.00493.2005

Ⓡ Liang, Z., Wang, X., Hao, Y., Qiu, L., Lou, Y., Zhang, Y., Ma, D., & Feng, J. (2020). The Multifaceted Role of Astrocyte Connexin 43 in Ischemic Stroke Through Forming Hemichannels and Gap Junctions. Frontiers in Neurology, 11. https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00703

Ⓐ Liddle, R. A., Goldfine, I. D., Rosen, M. S., Taplitz, R. A., & Williams, J. A. (1985). Cholecystokinin bioactivity in human plasma. Molecular forms, responses to feeding, and relationship to gallbladder contraction. The Journal of Clinical Investigation, 75(4), 1144-1152. https://doi.org/10.1172/JCI111809

Ⓡ Linnerbauer, M., & Rothhammer, V. (2020). Protective Functions of Reactive Astrocytes Following Central Nervous System Insult. Frontiers in Immunology, 11. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.573256

Ⓐ Liu, J., Conde, K., Zhang, P., Lilascharoen, V., Xu, Z., Lim, B. K., Seeley, R. J., Zhu, J. J., Scott, M. M., & Pang, Z. P. (2017). Enhanced AMPA Receptor Trafficking Mediates the Anorexigenic Effect of Endogenous Glucagon-like Peptide-1 in the Paraventricular Hypothalamus. Neuron, 96(4), 897-909.e5. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.09.042

Ⓡ Livingstone, M. B. E., & Pourshahidi, L. K. (2014). Portion Size and Obesity. Advances in Nutrition, 5(6), 829-834. https://doi.org/10.3945/an.114.007104

Ⓡ Livneh, Y., Sugden, A. U., Madara, J. C., Essner, R. A., Flores, V. I., Sugden, L. A., Resch, J. M., Lowell, B. B., & Andermann, M. L. (2020). Estimation of Current and Future Physiological States in Insular Cortex. Neuron, 105(6), 1094-1111.e10. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.12.027

Ⓡ Llewellyn-Smith, I. J., Verberne, A. J. M., Llewellyn-Smith, I. J., & Verberne, A. J. M. (Éds.). (2011). Central Regulation of Autonomic Functions, Second Edition (Second Edition, Second Edition). Oxford University Press.

Ⓐ Locke, A. E., Kahali, B., Berndt, S. I., Justice, A. E., Pers, T. H., Day, F. R., Powell, C., Vedantam, S., Buchkovich, M. L., Yang, J., Croteau-Chonka, D. C., Esko, T., Fall, T., Ferreira, T., Gustafsson, S., Kutalik, Z., Luan, J., Mägi, R., Randall, J. C., … Speliotes, E. K. (2015). Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. Nature, 518(7538), 197-206. https://doi.org/10.1038/nature14177

Ⓡ López, M., & Nogueiras, R. (2023). Ghrelin. Current Biology, 33(21), R1133-R1135. https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.09.009

Ⓡ López-Gambero, A. J., Martínez, F., Salazar, K., Cifuentes, M., & Nualart, F. (2019). Brain Glucose-Sensing Mechanism and Energy Homeostasis. Molecular Neurobiology, 56(2), 769-796. https://doi.org/10.1007/s12035-018-1099-4

Ⓐ Lowes, V. L., Sun, K., Li, Z., & Ferguson, A. V. (1995). Vasopressin actions on area postrema neurons in vitro. The American Journal of Physiology, 269(2 Pt 2), R463-468. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1995.269.2.R463

Ⓐ Lu, D., Willard, D., Patel, I. R., Kadwell, S., Overton, L., Kost, T., Luther, M., Chen, W., Woychik, R. P., Wilkison, W. O., & Cone, R. D. (1994). Agouti protein is an antagonist of the melanocyte-stimulating-hormone receptor. Nature, 371(6500), 799-802. https://doi.org/10.1038/371799a0

Ⓡ Lucaciu, S. A., Leighton, S. E., Hauser, A., Yee, R., & Laird, D. W. (2023). Diversity in connexin biology. Journal of Biological Chemistry, 299(11). https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.105263 **Une synthèse actuelle des connaissances sur les connexines, mettant en lumière le rôle central de la Cx43.**

ⒶLudwig, M. Q., Cheng, W., Gordian, D., Lee, J., Paulsen, S. J., Hansen, S. N., Egerod, K. L., Barkholt, P., Rhodes, C. J., Secher, A., Knudsen, L. B., Pyke, C., Myers, M. G., & Pers, T. H. (2021). A genetic map of the mouse dorsal vagal complex and its role in obesity. Nature Metabolism, 3(4), Article 4. https://doi.org/10.1038/s42255-021-00363-1 **Etude majeure de snRNA seq, permettant de distinguer des populations gliales et neuronales au sein du CVD.**

ⒶLudwig, M. Q., Todorov, P. V., Egerod, K. L., Olson, D. P., & Pers, T. H. (2021). Single-Cell Mapping of GLP-1 and GIP Receptor Expression in the Dorsal Vagal Complex. Diabetes, 70(9), 1945-1955. https://doi.org/10.2337/dbi21-0003

Ⓡ Lund, J. P. (2011). Chapter 15—Chew before you swallow. In J. P. Gossard, R. Dubuc, & A. Kolta (Éds.), Progress in Brain Research (Vol. 188, p. 219-228). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53825-3.00020-6

® Luppino, F. S., de Wit, L. M., Bouvy, P. F., Stijnen, T., Cuijpers, P., Penninx, B. W. J. H., & Zitman, F. G. (2010). Overweight, Obesity, and Depression : A Systematic Review and Meta-analysis of Longitudinal Studies. Archives of General Psychiatry, 67(3), 220-229. https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2010.2

® Lutz, T. A. (2012). Control of energy homeostasis by amylin. Cellular and Molecular Life Sciences, 69(12), 1947-1965. https://doi.org/10.1007/s00018-011-0905-1

® Lutz, T. A. (2013). The interaction of amylin with other hormones in the control of eating. Diabetes, Obesity and Metabolism, 15(2), 99-111. https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2012.01670.x

Ⓐ Lutz, T. A., Mollet, A., Rushing, P. A., Riediger, T., & Scharrer, E. (2001). The anorectic effect of a chronic peripheral infusion of amylin is abolished in area postrema/nucleus of the solitary tract (AP/NTS) lesioned rats. International Journal of Obesity, 25(7), 1005-1011. https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801664

Ⓐ Lynn, B. D., Tress, O., May, D., Willecke, K., & Nagy, J. I. (2011). Ablation of connexin30 in transgenic mice alters expression patterns of connexin26 and connexin32 in glial cells and leptomeninges. European Journal of Neuroscience, 34(11), 1783-1793. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07900.x

M Ⓐ Ma, B., Buckalew, R., Du, Y., Kiyoshi, C. M., Alford, C. C., Wang, W., McTigue, D. M., Enyeart, J. J., Terman, D., & Zhou, M. (2016). Gap junction coupling confers isopotentiality on astrocyte syncytium. Glia, 64(2), 214-226. https://doi.org/10.1002/glia.22924 **Lien entre les JC, la clairance et la redistribution du K^+, le maintien de l'homéostasie dans le parenchyme cérébral : rôle des astrocytes**

® MacDonald, A. J., & Ellacott, K. L. J. (2020). Astrocytes in the nucleus of the solitary tract : Contributions to neural circuits controlling physiology. Physiology & Behavior, 223, 112982. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.112982 **Revue de la littérature décrivant les preuves d'une implication de la glie du NTS dans le contrôle systémique de la balance énergétique.**

Ⓐ MacDonald, A. J., Holmes, F. E., Beall, C., Pickering, A. E., & Ellacott, K. L. J. (2020). Regulation of food intake by astrocytes in the brainstem dorsal vagal complex. Glia, 68(6), 1241-1254. https://doi.org/10.1002/glia.23774 **L'activation chémogénétique des astrocytes réduit la prise alimentaire.**

Ⓐ MacDonald, A. J., Pye, K. R., Beall, C., & Ellacott, K. L. J. (2023). Impact of chemogenetic activation of dorsal vagal complex astrocytes in mice on adaptive glucoregulatory responses. Journal of Neuroendocrinology, 35(8), e13315. https://doi.org/10.1111/jne.13315 **L'activation chémogénétique des astrocytes ne modifie pas drastiquement l'homéostasie du glucose.**

® MacDonald, A. J., Robb, J. L., Morrissey, N. A., Beall, C., & Ellacott, K. L. J. (2019). Astrocytes in neuroendocrine systems : An overview. Journal of Neuroendocrinology, 31(5), e12726. https://doi.org/10.1111/jne.12726

Les travaux de l'équipe d'Ellacott sont parmi les plus proches de ma thématique, mettant en jeu les astrocytes du CVD dans la régulation de la prise alimentaire, sans impact sur l'homéostasie glucidique.

Ⓐ Madden, C. J., & Morrison, S. F. (2016). A high-fat diet impairs cooling-evoked brown adipose tissue activation via a vagal afferent mechanism. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 311(2), E287-E292. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00081.2016

Ⓐ Madden, C. J., Stocker, S. D., & Sved, A. F. (2006). Attenuation of homeostatic responses to hypotension and glucoprivation after destruction of catecholaminergic rostral ventrolateral medulla neurons. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 291(3), R751-R759. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00800.2005

Ⓜ Ⓐ Madisen, L., Zwingman, T. A., Sunkin, S. M., Oh, S. W., Zariwala, H. A., Gu, H., Ng, L. L., Palmiter, R. D., Hawrylycz, M. J., Jones, A. R., Lein, E. S., & Zeng, H. (2010). A robust and high-throughput Cre reporting and characterization system for the whole mouse brain. Nature Neuroscience, 13(1), 133-140. https://doi.org/10.1038/nn.2467 **Description des souris Ai14, utilisées dans ce projet (étude 2), qui expriment la protéine fluorescente rouge tdTomato dans le cytoplasme de manière Cre-dépendante.**

Ⓐ Maekawa, F., Toyoda, Y., Torii, N., Miwa, I., Thompson, R. C., Foster, D. L., Tsukahara, S., Tsukamura, H., & Maeda, K. (2000). Localization of Glucokinase-Like Immunoreactivity in the Rat Lower Brain Stem : For Possible Location of Brain Glucose-Sensing Mechanisms1. Endocrinology, 141(1), 375-384. https://doi.org/10.1210/endo.141.1.7234

® Magistretti, P. J., & Allaman, I. (2018). Lactate in the brain : From metabolic end-product to signalling molecule. Nature Reviews Neuroscience, 19(4), 235-249. https://doi.org/10.1038/nrn.2018.19

Ⓐ Magnotti, L. M., Goodenough, D. A., & Paul, D. L. (2011). Functional heterotypic interactions between astrocyte and oligodendrocyte connexins. Glia, 59(1), 26-34. https://doi.org/10.1002/glia.21073

Ⓡ Mahmoud, S., Gharagozloo, M., Simard, C., & Gris, D. (2019). Astrocytes Maintain Glutamate Homeostasis in the CNS by Controlling the Balance between Glutamate Uptake and Release. Cells, 8(2), Article 2. https://doi.org/10.3390/cells8020184

Ⓐ Makarava, N., Mychko, O., Molesworth, K., Chang, J. C.-Y., Henry, R. J., Tsymbalyuk, N., Gerzanich, V., Simard, J. M., Loane, D. J., & Baskakov, I. V. (2023). Region-Specific Homeostatic Identity of Astrocytes Is Essential for Defining Their Response to Pathological Insults. Cells, 12(17), 2172. https://doi.org/10.3390/cells12172172

Ⓐ Mandal, S. K., & Briski, K. P. (2019). Hindbrain dorsal vagal complex AMPK controls hypothalamic gluco-regulatory transmitter and counter-regulatory hormone responses to hypoglycemia. Brain Research Bulletin, 144, 171-179. https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.11.016

Ⓐ Maolood, N., & Meister, B. (2009). Protein components of the blood–brain barrier (BBB) in the brainstem area postrema–nucleus tractus solitarius region. Journal of Chemical Neuroanatomy, 37(3), 182-195. https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2008.12.007 **Des microglies réactives, riches autour des vaisseaux dans l'AP, le NTS et le DMNX, pourraient contribuer à la protection du parenchyme et à la régulation vasculaire.**

Ⓡ Marathe, C. S., Rayner, C. K., Jones, K. L., & Horowitz, M. (2013). Relationships Between Gastric Emptying, Postprandial Glycemia, and Incretin Hormones. Diabetes Care, 36(5), 1396-1405. https://doi.org/10.2337/dc12-1609

Ⓡ Marina, N., Turovsky, E., Christie, I. N., Hosford, P. S., Hadjihambi, A., Korsak, A., Ang, R., Mastitskaya, S., Sheikhbahaei, S., Theparambil, S. M., & Gourine, A. V. (2018). Brain metabolic sensing and metabolic signaling at the level of an astrocyte. Glia, 66(6), 1185-1199. https://doi.org/10.1002/glia.23283

Ⓡ Martinez, D., & Kline, D. D. (2021). The role of astrocytes in the nucleus tractus solitarii in maintaining central control of autonomic function. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 320(4), R418-R424. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00254.2020 **Revue de la littérature décrivant les preuves d'une implication de la glie du NTS dans le contrôle systémique de la balance énergétique.**

Ⓐ Marty, N., Dallaporta, M., Foretz, M., Emery, M., Tarussio, D., Bady, I., Binnert, C., Beermann, F., & Thorens, B. (2005). Regulation of glucagon secretion by glucose transporter type 2 (glut2) and astrocyte-dependent glucose sensors. The Journal of Clinical Investigation, 115(12), 3545-3553. https://doi.org/10.1172/JCI26309 **Une étude pionnière établissant un lien entre la réponse à la glucoprivation et la fonction des astrocytes du CVD**

Ⓡ Marty, N., Dallaporta, M., & Thorens, B. (2007). Brain Glucose Sensing, Counterregulation, and Energy Homeostasis. Physiology, 22(4), 241-251. https://doi.org/10.1152/physiol.00010.2007

Ⓐ Massa, P. T., & Mugnaini, E. (1982). Cell junctions and intramembrane particles of astrocytes and oligodendrocytes : A freeze-fracture study. Neuroscience, 7(2), 523-538. https://doi.org/10.1016/0306-4522(82)90285-8

Ⓐ Massa, P. T., & Mugnaini, E. (1985). Cell-cell junctional interactions and characteristic plasma membrane features of cultured rat glial cells. Neuroscience, 14(2), 695-709. https://doi.org/10.1016/0306-4522(85)90320-3

Ⓐ Mathiesen, C., Brazhe, A., Thomsen, K., & Lauritzen, M. (2013). Spontaneous calcium waves in Bergman glia increase with age and hypoxia and may reduce tissue oxygen. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 33(2), 161-169. https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.175

Ⓐ Matott, M. P., Kline, D. D., & Hasser, E. M. (2017). Glial EAAT2 regulation of extracellular nTS glutamate critically controls neuronal activity and cardiorespiratory reflexes. The Journal of Physiology, 595(17), 6045-6063. https://doi.org/10.1113/JP274620

Ⓐ Matott, M. P., Ruyle, B. C., Hasser, E. M., & Kline, D. D. (2016). Excitatory amino acid transporters tonically restrain nTS synaptic and neuronal activity to modulate cardiorespiratory function. Journal of Neurophysiology, 115(3), 1691-1702. https://doi.org/10.1152/jn.01054.2015

Ⓡ Mattes, R. D. (1997). Physiologic Responses to Sensory Stimulation by Food : Nutritional Implications. Journal of the American Dietetic Association, 97(4), 406-413. https://doi.org/10.1016/S0002-8223(97)00101-6

Ⓡ Mattes, R. D. (2000). Nutritional implications of the cephalic-phase salivary response. Appetite, 34(2), 177-183. https://doi.org/10.1006/appe.1999.0278

Ⓐ Mayer, J. (1953). Glucostatic mechanism of regulation of food intake. The New England Journal of Medicine, 249(1), 13-16. https://doi.org/10.1056/NEJM195307022490104 **Article fondateur ayant posé les bases de l'hypothèse glucostatique du contrôle de la prise alimentaire.**

Ⓡ McCrickerd, K., & Forde, C. G. (2016). Sensory influences on food intake control : Moving beyond palatability. Obesity Reviews, 17(1), 18-29. https://doi.org/10.1111/obr.12340

Ⓐ McDougal, D. H., Hermann, G. E., & Rogers, R. C. (2011). Vagal Afferent Stimulation Activates Astrocytes in the Nucleus of the Solitary Tract Via AMPA Receptors : Evidence of an Atypical Neural–Glial Interaction in the Brainstem.

Journal of Neuroscience, 31(39), 14037-14045. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2855-11.2011 **premières données expérimentales démontrant une modulation astrocytaire des afférences vagales dans un modèle ex vivo.**

Ⓐ McDougal, D. H., Hermann, G. E., & Rogers, R. C. (2013). Astrocytes in the nucleus of the solitary tract are activated by low glucose or glucoprivation : Evidence for glial involvement in glucose homeostasis. Frontiers in Neuroscience, 7. https://doi.org/10.3389/fnins.2013.00249

Ⓐ McDougall, S. J., Peters, J. H., & Andresen, M. C. (2009). Convergence of Cranial Visceral Afferents within the Solitary Tract Nucleus. Journal of Neuroscience, 29(41), 12886-12895. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3491-09.2009

Ⓡ McKinley, M. J., McAllen, R. M., Davern, P., Giles, M. E., Penschow, J., Sunn, N., Uschakov, A., & Oldfield, B. J. (2003). The sensory circumventricular organs of the mammalian brain. Advances in Anatomy, Embryology, and Cell Biology, 172, III-XII, 1-122, back cover. https://doi.org/10.1007/978-3-642-55532-9

Ⓐ Même, W., Calvo, C.-F., Froger, N., Ezan, P., Amigou, E., Koulakoff, A., & Giaume, C. (2006). Proinflammatory cytokines released from microglia inhibit gap junctions in astrocytes : Potentiation by beta-amyloid. FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 20(3), 494-496. https://doi.org/10.1096/fj.05-4297fje

Ⓐ Menéndez, JoséA., & Atrens, D. M. (1989). Insulin increases energy expenditure and respiratory quotient in the rat. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 34(4), 765-768. https://doi.org/10.1016/0091-3057(89)90272-4

Ⓐ Menétrey, D., & Basbaum, A. I. (1987). Spinal and trigeminal projections to the nucleus of the solitary tract : A possible substrate for somatovisceral and viscerovisceral reflex activation. The Journal of Comparative Neurology, 255(3), 439-450. https://doi.org/10.1002/cne.902550310

Ⓡ Mennella, I. (2019). Energy Balance and Body Weight Control. In P. Ferranti, E. M. Berry, & J. R. Anderson (Éds.), Encyclopedia of Food Security and Sustainability (p. 374-377). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22147-1

Ⓐ Mercer, L. D., & Beart, P. M. (2004). Immunolocalization of CCK1R in rat brain using a new anti-peptide antibody. Neuroscience Letters, 359(1-2), 109-113. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2004.01.045

Ⓡ Messina, G., De Luca, V., Viggiano, A., Ascione, A., Iannaccone, T., Chieffi, S., & Monda, M. (2013). Autonomic Nervous System in the Control of Energy Balance and Body Weight : Personal Contributions. Neurology Research International, 2013, e639280. https://doi.org/10.1155/2013/639280

Ⓐ Meunier, C., Wang, N., Yi, C., Dallerac, G., Ezan, P., Koulakoff, A., Leybaert, L., & Giaume, C. (2017). Contribution of Astroglial Cx43 Hemichannels to the Modulation of Glutamatergic Currents by D-Serine in the Mouse Prefrontal Cortex. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 37(37), 9064-9075. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2204-16.2017

Ⓡ Middeldorp, J., & Hol, E. M. (2011). GFAP in health and disease. Progress in Neurobiology, 93(3), 421-443. https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2011.01.005

Ⓡ Mietlicki-Baase, E. G. (2016). Amylin-mediated control of glycemia, energy balance, and cognition. Physiology & Behavior, 162, 130-140. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.02.034

Ⓡ Mika, T., & Prochnow, N. (2012). Functions of connexins and large pore channels on microglial cells : The gates to environment. Brain Research, 1487, 16-24. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.07.020

Ⓡ Miled, N., Canaan, S., Dupuis, L., Roussel, A., Rivière, M., Carrière, F., de Caro, A., Cambillau, C., & Verger, R. (2000). Digestive lipases : From three-dimensional structure to physiology. Biochimie, 82(11), 973-986. https://doi.org/10.1016/S0300-9084(00)01179-2

Ⓡ Miller, A. D., & Leslie, R. A. (1994). The area postrema and vomiting. Frontiers in Neuroendocrinology, 15(4), 301-320. https://doi.org/10.1006/frne.1994.1012

Ⓡ Miller, A. J. (2002). Oral and pharyngeal reflexes in the mammalian nervous system : Their diverse range in complexity and the pivotal role of the tongue. Critical Reviews in Oral Biology and Medicine: An Official Publication of the American Association of Oral Biologists, 13(5), 409-425. https://doi.org/10.1177/154411130201300505

Ⓐ Miller, F. R., & Sherrington, C. S. (1915). SOME OBSERVATIONS ON THE BUCCO-PHARYNGEAL STAGE OF REFLEX DEGLUTITION IN THE CAT. Quarterly Journal of Experimental Physiology, 9(2), 147-186. https://doi.org/10.1113/expphysiol.1915.sp000201

Ⓡ Miller, L. J., Harikumar, K. G., Wootten, D., & Sexton, P. M. (2021). Roles of Cholecystokinin in the Nutritional Continuum. Physiology and Potential Therapeutics. Frontiers in Endocrinology, 12. https://doi.org/10.3389/fendo.2021.684656

Ⓡ Milligan, E. D., & Watkins, L. R. (2009). Pathological and protective roles of glia in chronic pain. Nature Reviews Neuroscience, 10(1), 23-36. https://doi.org/10.1038/nrn2533

Ⓡ Millington, G. W. (2007). The role of proopiomelanocortin (POMC) neurones in feeding behaviour. Nutrition & Metabolism, 4(1), 18. https://doi.org/10.1186/1743-7075-4-18

Ⓡ Minta, A., Kao, J. P., & Tsien, R. Y. (1989). Fluorescent indicators for cytosolic calcium based on rhodamine and fluorescein chromophores. The Journal of Biological Chemistry, 264(14), 8171-8178.

Ⓡ Mintz, S. W., & Bois, C. M. D. (2002). The Anthropology of Food and Eating. Annual Review of Anthropology, 31(Volume 31, 2002), 99-119. https://doi.org/10.1146/annurev.anthro.32.032702.131011

Ⓡ Mishra, A., Anand, M., & Umesh, S. (2017). Neurobiology of eating disorders—An overview. Asian Journal of Psychiatry, 25, 91-100. https://doi.org/10.1016/j.ajp.2016.10.009

Ⓡ Miyata, S. (2015). New aspects in fenestrated capillary and tissue dynamics in the sensory circumventricular organs of adult brains. Frontiers in Neuroscience, 9. https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00390

Ⓐ Mizuno, Y., & Oomura, Y. (1984). Glucose responding neurons in the nucleus tractus solitarius of the rat : In vitro study. Brain Research, 307(1-2), 109-116. https://doi.org/10.1016/0006-8993(84)90466-9

Ⓐ Mlinar, B., & Enyeart, J. J. (1993). Block of current through T-type calcium channels by trivalent metal cations and nickel in neural rat and human cells. The Journal of Physiology, 469, 639-652. https://doi.org/10.1113/jphysiol.1993.sp019835

Ⓡ Modell, H., Cliff, W., Michael, J., McFarland, J., Wenderoth, M. P., & Wright, A. (2015). A physiologist's view of homeostasis. Advances in Physiology Education, 39(4), 259-266. https://doi.org/10.1152/advan.00107.2015

Ⓡ Montégut, L., Lopez-Otin, C., Magnan, C., & Kroemer, G. (2021). Old Paradoxes and New Opportunities for Appetite Control in Obesity. Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM, 32(5), 264-294. https://doi.org/10.1016/j.tem.2021.02.005 **revue de la littérature particulièrement exhaustive sur les signaux intéroceptifs et les médiateurs moléculaires impliqués dans la régulation du comportement alimentaire.**

Ⓡ Montero, T. D., & Orellana, J. A. (2015). Hemichannels : New pathways for gliotransmitter release. Neuroscience, 286, 45-59. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.11.048

Ⓡ Montgomery, M. K., Hallahan, N. L., Brown, S. H., Liu, M., Mitchell, T. W., Cooney, G. J., & Turner, N. (2013). Mouse strain-dependent variation in obesity and glucose homeostasis in response to high-fat feeding. Diabetologia, 56(5), 1129-1139. https://doi.org/10.1007/s00125-013-2846-8

Ⓡ Moran, T. H., & Schulkin, J. (2000). Curt Richter and regulatory physiology. American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 279(2), R357-363. https://doi.org/10.1152/ajpregu.2000.279.2.R357

Ⓐ Morentin, P. B. M. de, Gonzalez, J. A., Dowsett, G. K. C., Martynova, Y., Yeo, G. S. H., Sylantyev, S., & Heisler, L. K. (2024). A brainstem to hypothalamic arcuate nucleus GABAergic circuit drives feeding. Current Biology, 34(8), 1646-1656.e4. https://doi.org/10.1016/j.cub.2024.02.074

Ⓐ Morita, S., Furube, E., Mannari, T., Okuda, H., Tatsumi, K., Wanaka, A., & Miyata, S. (2015). Vascular endothelial growth factor-dependent angiogenesis and dynamic vascular plasticity in the sensory circumventricular organs of adult mouse brain. Cell and Tissue Research, 359(3), 865-884. https://doi.org/10.1007/s00441-014-2080-9

Ⓐ Morita, S., Furube, E., Mannari, T., Okuda, H., Tatsumi, K., Wanaka, A., & Miyata, S. (2016). Heterogeneous vascular permeability and alternative diffusion barrier in sensory circumventricular organs of adult mouse brain. Cell and Tissue Research, 363(2), 497-511. https://doi.org/10.1007/s00441-015-2207-7

Morita, Y., & Finger, T. E. (1987). Topographic representation of the sensory and motor roots of the vagus nerve in the medulla of goldfish, Carassius auratus. Journal of Comparative Neurology, 264(2), 231-249. https://doi.org/10.1002/cne.902640208

Ⓐ Morricone, L., Bombonato, M., Cattaneo, A. G., Enrini, R., Lugari, R., Zandomenighi, R., & Caviezel, F. (2000). Food-Related Sensory Stimuli are Able to Promote Pancreatic Polypeptide Elevation Without Evident Cephalic Phase Insulin Secretion in Human Obesity. Hormone and Metabolic Research, 32(6), 240-245. https://doi.org/10.1055/s-2007-978628

Ⓡ Morton, G. J., Cummings, D. E., Baskin, D. G., Barsh, G. S., & Schwartz, M. W. (2006). Central nervous system control of food intake and body weight. Nature, 443(7109), 289-295. https://doi.org/10.1038/nature05026 **Revue fondatrice qui constitue une synthèse incontournable des mécanismes neuronaux impliqués dans la régulation du comportement alimentaire et du poids corporel.**

Ⓡ Morton, G. J., & Schwartz, M. W. (2011). Leptin and the Central Nervous System Control of Glucose Metabolism. Physiological Reviews, 91(2), 389-411. https://doi.org/10.1152/physrev.00007.2010

Ⓐ Mosqueda-Garcia, R., Inagami, T., Appalsamy, M., Sugiura, M., & Robertson, R. M. (1993). Endothelin as a neuropeptide. Cardiovascular effects in the brainstem of normotensive rats. Circulation Research, 72(1), 20-35. https://doi.org/10.1161/01.RES.72.1.20

Ⓐ Mota, C. M. D., & Madden, C. J. (2023). High Fat Diet Suppresses Energy Expenditure Via Neurons in the Brainstem. Neuroscience, 520, 84-94. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2023.04.006

Ⓡ Mrosovsky, N., & Powley, T. L. (1977). Set points for body weight and fat. Behavioral Biology, 20(2), 205-223. https://doi.org/10.1016/S0091-6773(77)90773-8

Ⓐ Mullican, S. E., Lin-Schmidt, X., Chin, C.-N., Chavez, J. A., Furman, J. L., Armstrong, A. A., Beck, S. C., South, V. J., Dinh, T. Q., Cash-Mason, T. D., Cavanaugh, C. R., Nelson, S., Huang, C., Hunter, M. J., & Rangwala, S. M. (2017). GFRAL is the receptor for GDF15 and the ligand promotes weight loss in mice and nonhuman primates. Nature Medicine, 23(10), 1150-1157. https://doi.org/10.1038/nm.4392

Ⓡ Münzberg, H., Berthoud, H.-R., & Neuhuber, W. L. (2023). Sensory spinal interoceptive pathways and energy balance regulation. Molecular Metabolism, 78, 101817. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2023.101817

Ⓐ Murphy, S., Collis Glynn, M., Dixon, T. N., Grill, H. J., McNally, G. P., & Ong, Z. Y. (2023). Nucleus of the solitary tract A2 neurons control feeding behaviors via projections to the paraventricular hypothalamus. Neuropsychopharmacology, 48(2), 351-361. https://doi.org/10.1038/s41386-022-01448-5

Ⓡ Mussa, B. M., & Verberne, A. J. M. (2013). The dorsal motor nucleus of the vagus and regulation of pancreatic secretory function. Experimental Physiology, 98(1), 25-37. https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.066472

Ⓐ Muto, T., Tien, T., Kim, D., Sarthy, V. P., & Roy, S. (2014). High glucose alters Cx43 expression and gap junction intercellular communication in retinal Müller cells : Promotes Müller cell and pericyte apoptosis. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 55(7), 4327-4337. https://doi.org/10.1167/iovs.14-14606

Ⓡ Myers, M. G., Affinati, A. H., Richardson, N., & Schwartz, M. W. (2021). Central nervous system regulation of organismal energy and glucose homeostasis. Nature Metabolism, 3(6), 737-750. https://doi.org/10.1038/s42255-021-00408-5

N

Ⓐ Nadarajah, B., Thomaidou, D., Evans, W. H., & Parnavelas, J. G. (1996). Gap junctions in the adult cerebral cortex : Regional differences in their distribution and cellular expression of connexins. The Journal of Comparative Neurology, 376(2), 326-342. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19961209)376:2<326::AID-CNE13>3.0.CO;2-J

Ⓐ Nagase, M., Takahashi, Y., Watabe, A. M., Kubo, Y., & Kato, F. (2014). On-Site Energy Supply at Synapses through Monocarboxylate Transporters Maintains Excitatory Synaptic Transmission. Journal of Neuroscience, 34(7), 2605-2617. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4687-12.2014

Ⓐ Nagy, J. i., Ionescu, A.-V., Lynn, B. d., & Rash, J. e. (2003). Coupling of astrocyte connexins Cx26, Cx30, Cx43 to oligodendrocyte Cx29, Cx32, Cx47 : Implications from normal and connexin32 knockout mice. Glia, 44(3), 205-218. https://doi.org/10.1002/glia.10278

Ⓐ Nagy, J. I., Li, X., Rempel, J., Stelmack, G., Patel, D., Staines, W. A., Yasumura, T., & Rash, J. E. (2001). Connexin26 in adult rodent central nervous system : Demonstration at astrocytic gap junctions and colocalization with connexin30 and connexin43. Journal of Comparative Neurology, 441(4), 302-323. https://doi.org/10.1002/cne.1414

Ⓡ Nagy, J. I., & Rash, J. E. (2000). Connexins and gap junctions of astrocytes and oligodendrocytes in the CNS. Brain Research Reviews, 32(1), 29-44. https://doi.org/10.1016/S0165-0173(99)00066-1

Ⓐ Nakase, T., Söhl, G., Theis, M., Willecke, K., & Naus, C. C. G. (2004). Increased Apoptosis and Inflammation after Focal Brain Ischemia in Mice Lacking Connexin43 in Astrocytes. The American Journal of Pathology, 164(6), 2067-2075. https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63765-0

Ⓡ Nampoothiri, S., Nogueiras, R., Schwaninger, M., & Prevot, V. (2022). Glial cells as integrators of peripheral and central signals in the regulation of energy homeostasis. Nature Metabolism, 4(7), 813-825. https://doi.org/10.1038/s42255-022-00610-z **Revue de la littérature décrivant comment les cellules gliales participent au contrôle systémique de la balance énergétique.**

Ⓐ Nardin, C., Tettey-Matey, A., Donati, V., Marazziti, D., Di Pietro, C., Peres, C., Raspa, M., Zonta, F., Yang, G., Gorelik, M., Singh, S., Cardarelli, L., Sidhu, S. S., & Mammano, F. (2022). A Quantitative Assay for Ca2+ Uptake through Normal and Pathological Hemichannels. International Journal of Molecular Sciences, 23(13), Article 13. https://doi.org/10.3390/ijms23137337

Ⓐ Naus, C. C. G., Belliveau, D. J., & Bechberger, J. F. (1990). Regional differences in connexin32 and connexin43 messenger RNAs in rat brain. Neuroscience Letters, 111(3), 297-302. https://doi.org/10.1016/0304-3940(90)90278-H

® Neuhuber, W. L., & Berthoud, H.-R. (2021). Functional anatomy of the vagus system – Emphasis on the somato-visceral interface. Autonomic Neuroscience, 236, 102887. https://doi.org/10.1016/j.autneu.2021.102887

® Neuwelt, E., Abbott, N. J., Abrey, L., Banks, W. A., Blakley, B., Davis, T., Engelhardt, B., Grammas, P., Nedergaard, M., Nutt, J., Pardridge, W., Rosenberg, G. A., Smith, Q., & Drewes, L. R. (2008). Strategies to advance translational research into brain barriers. The Lancet Neurology, 7(1), 84-96. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(07)70326-5

® Newgard, C. B., & McGarry, J. D. (1995). Metabolic coupling factors in pancreatic beta-cell signal transduction. Annual Review of Biochemistry, 64, 689-719. https://doi.org/10.1146/annurev.bi.64.070195.003353

Ⓐ Nicolaïdis, S., & Rowland, N. (1976). Metering of intravenous versus oral nutrients and regulation of energy balance. The American Journal of Physiology, 231(3), 661-668. https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1976.231.3.661

® Nishiyama, A., Komitova, M., Suzuki, R., & Zhu, X. (2009). Polydendrocytes (NG2 cells) : Multifunctional cells with lineage plasticity. Nature Reviews Neuroscience, 10(1), 9-22. https://doi.org/10.1038/nrn2495

Ⓐ Norris, R. P. (2021). Transfer of mitochondria and endosomes between cells by gap junction internalization. Traffic, 22(6), 174-179. https://doi.org/10.1111/tra.12786

® Northcutt, A. J., & Schulz, D. J. (2020). Molecular mechanisms of homeostatic plasticity in central pattern generator networks. Developmental Neurobiology, 80(1-2), 58-69. https://doi.org/10.1002/dneu.22727

O

Ⓐ Oberheim, N. A., Tian, G.-F., Han, X., Peng, W., Takano, T., Ransom, B., & Nedergaard, M. (2008). Loss of Astrocytic Domain Organization in the Epileptic Brain. Journal of Neuroscience, 28(13), 3264-3276. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4980-07.2008

Ⓐ Obici, S., Zhang, B. B., Karkanias, G., & Rossetti, L. (2002). Hypothalamic insulin signaling is required for inhibition of glucose production. Nature Medicine, 8(12), 1376-1382. https://doi.org/10.1038/nm1202-798

® Obradovic, M., Sudar-Milovanovic, E., Soskic, S., Essack, M., Arya, S., Stewart, A. J., Gojobori, T., & Isenovic, E. R. (2021). Leptin and Obesity : Role and Clinical Implication. Frontiers in Endocrinology, 12. https://doi.org/10.3389/fendo.2021.585887

Ⓐ Ogata, K., & Kosaka, T. (2002). Structural and quantitative analysis of astrocytes in the mouse hippocampus. Neuroscience, 113(1), 221-233. https://doi.org/10.1016/s0306-4522(02)00041-6

® Oldfield, B. J., & McKinley, M. J. (2015). Chapter 15—Circumventricular Organs. In G. Paxinos (Éd.), The Rat Nervous System (Fourth Edition) (p. 315-333). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374245-2.00015-2

® O'Leary, L. A., & Mechawar, N. (2021). Implication of cerebral astrocytes in major depression : A review of fine neuroanatomical evidence in humans. Glia, 69(9), 2077-2099. https://doi.org/10.1002/glia.23994

® Oliveira, J. F., & Araque, A. (2022). Astrocyte regulation of neural circuit activity and network states. Glia, 70(8), 1455-1466. https://doi.org/10.1002/glia.24178

Ⓐ Oliveira, M., Fernández, F., Solé, J., & Pumarola, M. (2018). Morphological, histological and immunohistochemical study of the area postrema in the dog. Anatomical Science International, 93(2), 188-196. https://doi.org/10.1007/s12565-016-0388-0

OMS, Maladies non transmissibles, réadaptation et handicap (MNT), & Surveillance, suivi et rapports (PRM). (s. d.). Suivi des progrès dans la lutte contre les maladies non transmissibles 2022. Consulté 1 novembre 2024, à l'adresse https://www.who.int/fr/publications/i/item/9789240047761

Ⓐ Oomura, Y., Ono, T., Ooyama, H., & Wayner, M. J. (1969). Glucose and osmosensitive neurones of the rat hypothalamus. Nature, 222(5190), 282-284. https://doi.org/10.1038/222282a0

Ⓐ Oomura, Y., & Yoshimatsu, H. (1984). Neural network of glucose monitoring system. Journal of the Autonomic Nervous System, 10(3), 359-372. https://doi.org/10.1016/0165-1838(84)90033-X

Ⓐ Orellana, J. A., Froger, N., Ezan, P., Jiang, J. X., Bennett, M. V. L., Naus, C. C., Giaume, C., & Sáez, J. C. (2011). ATP and glutamate released via astroglial connexin 43 hemichannels mediate neuronal death through activation of pannexin 1 hemichannels. Journal of Neurochemistry, 118(5), 826-840. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07210.x

® Orellana, J. A., Martinez, A. D., & Retamal, M. A. (2013). Gap junction channels and hemichannels in the CNS : Regulation by signaling molecules. Neuropharmacology, 75, 567-582. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.02.020

Ⓐ Orellana, J. A., Moraga-Amaro, R., Díaz-Galarce, R., Rojas, S., Maturana, C. J., Stehberg, J., & Sáez, J. C. (2015). Restraint stress increases hemichannel activity in hippocampal glial cells and neurons. Frontiers in Cellular Neuroscience, 9. https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00102

Ⓐ Orellana, J. A., Sáez, P. J., Cortés-Campos, C., Elizondo, R. J., Shoji, K. F., Contreras-Duarte, S., Figueroa, V., Velarde, V., Jiang, J. X., Nualart, F., Sáez, J. C., & García, M. A. (2012). Glucose increases intracellular free Ca(2+) in tanycytes via ATP released through connexin 43 hemichannels. Glia, 60(1), 53-68. https://doi.org/10.1002/glia.21246
Implication possible des tanycytes dans la régulation de l'homéostasie du glucose : l'élévation du glucose extracellulaire stimule la libération d'ATP via les Cx43HC, induisant une hausse de $[Ca^{2+}]i$ par activation des récepteurs IP3.

Ⓡ Orellana, J. A., Sáez, P. J., Shoji, K. F., Schalper, K. A., Palacios-Prado, N., Velarde, V., Giaume, C., Bennett, M. V. L., & Sáez, J. C. (2009). Modulation of brain hemichannels and gap junction channels by pro-inflammatory agents and their possible role in neurodegeneration. Antioxidants & Redox Signaling, 11(2), 369-399. https://doi.org/10.1089/ars.2008.2130

Ⓐ Orkand, R. K., Nicholls, J. G., & Kuffler, S. W. (1966). Effect of nerve impulses on the membrane potential of glial cells in the central nervous system of amphibia. Journal of Neurophysiology, 29(4), 788-806. https://doi.org/10.1152/jn.1966.29.4.788

Ⓐ Orthmann-Murphy, J. L., Freidin, M., Fischer, E., Scherer, S. S., & Abrams, C. K. (2007). Two distinct heterotypic channels mediate gap junction coupling between astrocyte and oligodendrocyte connexins. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 27(51), 13949-13957. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3395-07.2007

Ⓡ Oshima, A. (2014). Structure and closure of connexin gap junction channels. FEBS Letters, 588(8), 1230-1237. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.01.042

Ⓡ Osundiji, M. A., & Evans, M. L. (2013). Brain Control of Insulin and Glucagon Secretion. Endocrinology and Metabolism Clinics, 42(1), 1-14. https://doi.org/10.1016/j.ecl.2012.11.006

Ⓐ Ou, Z., Ma, Y., Sun, Y., Zheng, G., Wang, S., Xing, R., Chen, X., Han, Y., Wang, J., Lu, Q. R., Zhao, T.-J., & Chen, Y. (2019). A GPR17-cAMP-Lactate Signaling Axis in Oligodendrocytes Regulates Whole-Body Metabolism. Cell reports, 26(11), 2984-2997.e4. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.02.060

Ⓡ Oyamada, M., Oyamada, Y., & Takamatsu, T. (2005). Regulation of connexin expression. Biochimica Et Biophysica Acta, 1719(1-2), 6-23. https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2005.11.002

Ⓡ Oyamada, M., Takebe, K., & Oyamada, Y. (2013). Regulation of connexin expression by transcription factors and epigenetic mechanisms. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, 1828(1), 118-133. https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.12.031

P

Ⓡ Paez, P. M., & Lyons, D. A. (2020). Calcium Signaling in the Oligodendrocyte Lineage : Regulators and Consequences. Annual Review of Neuroscience, 43(Volume 43, 2020), 163-186. https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-100719-093305

Ⓐ Page, A. J., Young, R. L., Martin, C. M., Umaerus, M., O'Donnell, T. A., Cooper, N. J., Coldwell, J. R., Hulander, M., Mattsson, J. P., Lehmann, A., & Blackshaw, L. A. (2005). Metabotropic glutamate receptors inhibit mechanosensitivity in vagal sensory neurons. Gastroenterology, 128(2), 402-410. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.11.062

Ⓐ Palacios-Prado, N., Soto, P. A., López, X., Choi, E. J., Marquez-Miranda, V., Rojas, M., Duarte, Y., Lee, J., González-Nilo, F. D., & Sáez, J. C. (2022). Endogenous pannexin1 channels form functional intercellular cell–cell channels with characteristic voltage-dependent properties. Proceedings of the National Academy of Sciences, 119(18), e2202104119. https://doi.org/10.1073/pnas.2202104119

Ⓡ Palasz, E., Wilkaniec, A., Stanaszek, L., Andrzejewska, A., & Adamczyk, A. (2023). Glia-Neurotrophic Factor Relationships : Possible Role in Pathobiology of Neuroinflammation-Related Brain Disorders. International Journal of Molecular Sciences, 24(7), Article 7. https://doi.org/10.3390/ijms24076321

Ⓐ Palkovits, M., Mezey, E., & Eskay, R. L. (1987). Pro-opiomelanocortin-derived peptides (ACTH/beta-endorphin/alpha-MSH) in brainstem baroreceptor areas of the rat. Brain Research, 436(2), 323-338. https://doi.org/10.1016/0006-8993(87)91676-3

Ⓡ Palmiter, R. D. (2018). The Parabrachial Nucleus : CGRP Neurons Function as a General Alarm. Trends in Neurosciences, 41(5), 280-293. https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.03.007

Ⓡ Pan, K., & Garaschuk, O. (2023). The role of intracellular calcium-store-mediated calcium signals in in vivo sensor and effector functions of microglia. The Journal of Physiology, 601(19), 4203-4215. https://doi.org/10.1113/JP279521

Ⓐ Panatier, A., Theodosis, D. T., Mothet, J.-P., Touquet, B., Pollegioni, L., Poulain, D. A., & Oliet, S. H. R. (2006). Glia-Derived d-Serine Controls NMDA Receptor Activity and Synaptic Memory. Cell, 125(4), 775-784. https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.051

Ⓡ Pannasch, U., & Rouach, N. (2013). Emerging role for astroglial networks in information processing : From synapse to behavior. Trends in Neurosciences, 36(7), 405-417. https://doi.org/10.1016/j.tins.2013.04.004

Ⓐ Pannasch, U., Vargová, L., Reingruber, J., Ezan, P., Holcman, D., Giaume, C., Syková, E., & Rouach, N. (2011). Astroglial networks scale synaptic activity and plasticity. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 108(20), 8467-8472. https://doi.org/10.1073/pnas.1016650108 **L'absence de Cx30/Cx43 accroît la transmission synaptique et altère la plasticité, via une clairance gliale perturbée du glutamate et du K^+.**

Ⓡ Paolicelli, R. C., Sierra, A., Stevens, B., Tremblay, M.-E., Aguzzi, A., Ajami, B., Amit, I., Audinat, E., Bechmann, I., Bennett, M., Bennett, F., Bessis, A., Biber, K., Bilbo, S., Blurton-Jones, M., Boddeke, E., Brites, D., Brône, B., Brown, G. C., … Wyss-Coray, T. (2022). Microglia states and nomenclature : A field at its crossroads. Neuron, 110(21), 3458-3483. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2022.10.020

Ⓜ Pardridge, W. M. (2016). CSF, blood-brain barrier, and brain drug delivery. Expert Opinion on Drug Delivery, 13(7), 963-975. https://doi.org/10.1517/17425247.2016.1171315

Ⓐ Parkash, J., Messina, A., Langlet, F., Cimino, I., Loyens, A., Mazur, D., Gallet, S., Balland, E., Malone, S. A., Pralong, F., Cagnoni, G., Schellino, R., De Marchis, S., Mazzone, M., Pasterkamp, R. J., Tamagnone, L., Prevot, V., & Giacobini, P. (2015). Semaphorin7A regulates neuroglial plasticity in the adult hypothalamic median eminence. Nature Communications, 6, 6385. https://doi.org/10.1038/ncomms7385 **Injection de TAT-Cre dans le 3V pour cibler spécifiquement les tanycytes.**

Ⓐ Parker, R. M., & Herzog, H. (1999). Regional distribution of Y-receptor subtype mRNAs in rat brain. The European Journal of Neuroscience, 11(4), 1431-1448. https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1999.00553.x

Ⓐ Parpura, V., & Haydon, P. G. (2000). Physiological astrocytic calcium levels stimulate glutamate release to modulate adjacent neurons. Proceedings of the National Academy of Sciences, 97(15), 8629-8634. https://doi.org/10.1073/pnas.97.15.8629

Ⓡ Parpura, V., Heneka, M. T., Montana, V., Oliet, S. H. R., Schousboe, A., Haydon, P. G., Stout Jr, R. F., Spray, D. C., Reichenbach, A., Pannicke, T., Pekny, M., Pekna, M., Zorec, R., & Verkhratsky, A. (2012). Glial cells in (patho)physiology. Journal of Neurochemistry, 121(1), 4-27. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2012.07664.x

Ⓐ Pasti, L., Volterra, A., Pozzan, T., & Carmignoto, G. (1997). Intracellular calcium oscillations in astrocytes : A highly plastic, bidirectional form of communication between neurons and astrocytes in situ. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 17(20), 7817-7830. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-20-07817.1997

Ⓐ Patel, B., New, L. E., Griffiths, J. C., Deuchars, J., & Filippi, B. M. (2021). Inhibition of mitochondrial fission and iNOS in the dorsal vagal complex protects from overeating and weight gain. Molecular Metabolism, 43, 101123. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.101123

Ⓐ Paul, D. L., Ebihara, L., Takemoto, L. J., Swenson, K. I., & Goodenough, D. A. (1991). Connexin46, a novel lens gap junction protein, induces voltage-gated currents in nonjunctional plasma membrane of Xenopus oocytes. Journal of Cell Biology, 115(4), 1077-1089. https://doi.org/10.1083/jcb.115.4.1077

Ⓡ Pavlov, P. I. (2010). Conditioned reflexes : An investigation of the physiological activity of the cerebral cortex. Annals of Neurosciences, 17(3), 136-141. https://doi.org/10.5214/ans.0972-7531.1017309

Ⓡ Pavlov, P.I, & Thompson, W. H. (1902). The work of the digestive glands : lectures by Professor J. P. Pawlow. C. Griffin. https://doi.org/10.5962/bhl.title.3784

ⒶⓉ Pecchi, E., Dallaporta, M., Charrier, C., Pio, J., Jean, A., Moyse, E., & Troadec, J.-D. (2007). Glial fibrillary acidic protein (GFAP)-positive radial-like cells are present in the vicinity of proliferative progenitors in the nucleus tractus solitarius of adult rat. The Journal of Comparative Neurology, 501(3), 353-368. https://doi.org/10.1002/cne.21259 **Première description des cellules gliales d'aspect radiaire, les vagliocytes, à l'interface AP/ NTS.**

Ⓡ Pedersen, A. M., Bardow, A., Jensen, S. B., & Nauntofte, B. (2002). Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. Oral Diseases, 8(3), 117-129. https://doi.org/10.1034/j.1601-0825.2002.02851.x

Ⓡ Pekny, M., & Pekna, M. (2014). Astrocyte reactivity and reactive astrogliosis : Costs and benefits. Physiological Reviews, 94(4), 1077-1098. https://doi.org/10.1152/physrev.00041.2013

Ⓡ Pekny, M., Pekna, M., Messing, A., Steinhäuser, C., Lee, J.-M., Parpura, V., Hol, E. M., Sofroniew, M. V., & Verkhratsky, A. (2016). Astrocytes : A central element in neurological diseases. Acta Neuropathologica, 131(3), 323-345. https://doi.org/10.1007/s00401-015-1513-1

Ⓐ Pellerin, L., & Magistretti, P. J. (1994). Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis : A mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 91(22), 10625-10629. https://doi.org/10.1073/pnas.91.22.10625

Ⓡ Peracchia, C. (2004). Chemical gating of gap junction channels; roles of calcium, pH and calmodulin. Biochimica Et Biophysica Acta, 1662(1-2), 61-80. https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2003.10.020

Ⓐ Perez-Alvarez, A., Navarrete, M., Covelo, A., Martin, E. D., & Araque, A. (2014). Structural and Functional Plasticity of Astrocyte Processes and Dendritic Spine Interactions. Journal of Neuroscience, 34(38), 12738-12744. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2401-14.2014

Ⓡ Perry, V. H. (1998). A revised view of the central nervous system microenvironment and major histocompatibility complex class II antigen presentation. Journal of Neuroimmunology, 90(2), 113-121. https://doi.org/10.1016/s0165-5728(98)00145-3

Ⓐ Pestka, J. J., & Amuzie, C. J. (2008). Tissue Distribution and Proinflammatory Cytokine Gene Expression Following Acute Oral Exposure to Deoxynivalenol : Comparison of Weanling and Adult Mice. Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association, 46(8), 2826-2831. https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.05.016

Ⓐ Pestka, J. J., Zhou, H.-R., Moon, Y., & Chung, Y. J. (2004). Cellular and molecular mechanisms for immune modulation by deoxynivalenol and other trichothecenes : Unraveling a paradox. Toxicology Letters, 153(1), 61-73. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.04.023

Ⓐ Peters, A., & Palay, S. (1965). An Electron Microscope Study of Distribution and Patterns of Astroglial Processes in Central Nervous System. Journal of Anatomy, 99(419).

Ⓡ Peters, J. C., Wyatt, H. R., Donahoo, W. T., & Hill, J. O. (2002). From instinct to intellect : The challenge of maintaining healthy weight in the modern world. Obesity Reviews, 3(2), 69-74. https://doi.org/10.1046/j.1467-789X.2002.00059.x

Ⓐ Peterson, W. M., Wang, Q., Tzekova, R., & Wiegand, S. J. (2000). Ciliary Neurotrophic Factor and Stress Stimuli Activate the Jak-STAT Pathway in Retinal Neurons and Glia. Journal of Neuroscience, 20(11), 4081-4090. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-11-04081.2000

Ⓡ Petrelli, F., & Bezzi, P. (2016). Novel insights into gliotransmitters. Current Opinion in Pharmacology, 26, 138-145. https://doi.org/10.1016/j.coph.2015.11.010

Ⓡ Petrovich, G. D. (2018). Feeding Behavior Survival Circuit : Anticipation & Competition. Current Opinion in Behavioral Sciences, 24, 137-142. https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2018.09.007

Ⓐ Phelps, C. H. (1975). An ultrastructural study of methionine sulphoximine-induced glycogen accumulation in astrocytes of the mouse cerebral cortex. Journal of Neurocytology, 4(4), 479-490. https://doi.org/10.1007/BF01261377

Ⓡ Phelps, N. H., Singleton, R. K., Zhou, B., Heap, R. A., Mishra, A., Bennett, J. E., Paciorek, C. J., Lhoste, V. P., Carrillo-Larco, R. M., Stevens, G. A., Rodriguez-Martinez, A., Bixby, H., Bentham, J., Cesare, M. D., Danaei, G., Rayner, A. W., Barradas-Pires, A., Cowan, M. J., Savin, S., … Ezzati, M. (2024). Worldwide trends in underweight and obesity from 1990 to 2022 : A pooled analysis of 3663 population-representative studies with 222 million children, adolescents, and adults. The Lancet, 403(10431), 1027-1050. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)02750-2

Ⓡ Philips, T., & Rothstein, J. D. (2017). Oligodendroglia : Metabolic supporters of neurons. The Journal of Clinical Investigation, 127(9), 3271-3280. https://doi.org/10.1172/JCI90610

Ⓡ Picó, C., Oliver, P., Sánchez, J., & Palou, A. (2003). Gastric leptin : A putative role in the short-term regulation of food intake. The British Journal of Nutrition, 90(4), 735-741. https://doi.org/10.1079/bjn2003945

Ⓡ Pilkis, S. J., & Granner, D. K. (1992). Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. Annual Review of Physiology, 54, 885-909. https://doi.org/10.1146/annurev.ph.54.030192.004321

Ⓐ Pixley, S. K. R., & de Vellis, J. (1984). Transition between immature radial glia and mature astrocytes studied with a monoclonal antibody to vimentin. Developmental Brain Research, 15(2), 201-209. https://doi.org/10.1016/0165-3806(84)90097-X

Ⓡ Pizarroso, N. A., Fuciños, P., Gonçalves, C., Pastrana, L., & Amado, I. R. (2021). A Review on the Role of Food-Derived Bioactive Molecules and the Microbiota-Gut-Brain Axis in Satiety Regulation. Nutrients, 13(2), 632. https://doi.org/10.3390/nu13020632

Ⓡ Pogoda, K., Kameritsch, P., Retamal, M. A., & Vega, J. L. (2016). Regulation of gap junction channels and hemichannels by phosphorylation and redox changes : A revision. BMC Cell Biology, 17 Suppl 1, 11. https://doi.org/10.1186/s12860-016-0099-3

® Polidori, D., Sanghvi, A., Seeley, R., & Hall, K. D. (2016). How strongly does appetite counter weight loss? Quantification of the feedback control of human energy intake. Obesity (Silver Spring, Md.), 24(11), 2289-2295. https://doi.org/10.1002/oby.21653

Ⓐ Poplawski, M. M., Mastaitis, J. W., Yang, X.-J., & Mobbs, C. V. (2010). Hypothalamic Responses to Fasting Indicate Metabolic Reprogramming Away from Glycolysis Toward Lipid Oxidation. Endocrinology, 151(11), 5206-5217. https://doi.org/10.1210/en.2010-0702

Ⓐ Porter, J. T., & McCarthy, K. D. (1996). Hippocampal astrocytes in situ respond to glutamate released from synaptic terminals. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 16(16), 5073-5081. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-16-05073.1996

Ⓐ Potes, C. S., Turek, V. F., Cole, R. L., Vu, C., Roland, B. L., Roth, J. D., Riediger, T., & Lutz, T. A. (2010). Noradrenergic neurons of the area postrema mediate amylin's hypophagic action. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 299(2), R623-R631. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00791.2009

® Power, M. L., & Schulkin, J. (2008). Anticipatory physiological regulation in feeding biology. Appetite, 50(2-3), 194-206. https://doi.org/10.1016/j.appet.2007.10.006

® Powley, T. L. (2000). Vagal circuitry mediating cephalic-phase responses to food. Appetite, 34(2), 184-188. https://doi.org/10.1006/appe.1999.0279

® Powley, T. L. (2021). Brain-gut communication : Vagovagal reflexes interconnect the two "brains". American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 321(5), G576-G587. https://doi.org/10.1152/ajpgi.00214.2021

Ⓐ Prat, A., Biernacki, K., Wosik, K., & Antel, J. P. (2001). Glial cell influence on the human blood-brain barrier. Glia, 36(2), 145-155. https://doi.org/10.1002/glia.1104

Ⓐ Preshaw, R. M., Cooke, A. R., & Grossman, M. I. (1966). Sham Feeding and Pancreatic Secretion in the Dog. Gastroenterology, 50(2), 171-178. https://doi.org/10.1016/S0016-5085(66)80049-5

® Prevot, V., Dehouck, B., Sharif, A., Ciofi, P., Giacobini, P., & Clasadonte, J. (2018). The Versatile Tanycyte : A Hypothalamic Integrator of Reproduction and Energy Metabolism. Endocrine Reviews, 39(3), Article 3. https://doi.org/10.1210/er.2017-00235

® Price, C. J., Hoyda, T. D., & Ferguson, A. V. (2008). The area postrema : A brain monitor and integrator of systemic autonomic state. The Neuroscientist: A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry, 14(2), 182-194. https://doi.org/10.1177/1073858407311100

® Proctor, G. B. (2016). The physiology of salivary secretion. Periodontology 2000, 70(1), 11-25. https://doi.org/10.1111/prd.12116

Q ® Quarta, C., Claret, M., Zeltser, L. M., Williams, K. W., Yeo, G. S. H., Tschöp, M. H., Diano, S., Brüning, J. C., & Cota, D. (2021). POMC neuronal heterogeneity in energy balance and beyond : An integrated view. Nature Metabolism, 3(3), 299-308. https://doi.org/10.1038/s42255-021-00345-3

R ® R amón y Cajal, S. (1852-1934) A. du texte. (1909). Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés. Cervelet, cerveau moyen, rétine, couche optique, corps strié, écorce cérébrale générale et régionale, grand sympathique / par S. Ramon Cajal,... https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k6213192g

Ⓐ Ran, C., Boettcher, J. C., Kaye, J. A., Gallori, C. E., & Liberles, S. D. (2022). A brainstem map for visceral sensations. Nature, 609(7926), 320-326. https://doi.org/10.1038/s41586-022-05139-5

® Ranjan, A., Mudassir, S., Sinha, N., Panjwani, A., & Kumar, A. (2022). Area Postrema Syndrome. Neurology Clinical Practice, 12(4), e82-e84. https://doi.org/10.1212/CPJ.0000000000200065

Ⓐ Rash, J. E., Duffy, H. S., Dudek, F. E., Bilhartz, B. L., Whalen, L. R., & Yasumura, T. (1997). Grid-mapped freeze-fracture analysis of gap junctions in gray and white matter of adult rat central nervous system, with evidence for a "panglial syncytium" that is not coupled to neurons. Journal of Comparative Neurology, 388(2), 265-292. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19971117)388:2<265::AID-CNE6>3.0.CO;2-#

Ⓐ Rash, J. E., Olson, C. O., Davidson, K. G. V., Yasumura, T., Kamasawa, N., & Nagy, J. I. (2007). Identification of connexin36 in gap junctions between neurons in rodent locus coeruleus. Neuroscience, 147(4), 938-956. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.04.061

Ⓐ Rash, J. E., Yasumura, T., Dudek, F. E., & Nagy, J. I. (2001). Cell-specific expression of connexins and evidence of restricted gap junctional coupling between glial cells and between neurons. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 21(6), 1983-2000. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-06-01983.2001

Ⓐ Rathod, Y. D., & Di Fulvio, M. (2021). The feeding microstructure of male and female mice. PLoS ONE, 16(2), e0246569. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246569 **Nous nous sommes appuyés sur cet article pour définir**

les repas comme une ou plusieurs prises alimentaires (bouts) séparées du repas suivant par un intervalle d'au moins 5 minutes, les bouts eux-mêmes étant délimités par au moins une mesure sans consommation.

Ⓐ Recabal, A., Elizondo-Vega, R., Philippot, C., Salgado, M., López, S., Palma, A., Tarifeño-Saldivia, E., Timmermann, A., Seifert, G., Caprile, T., Steinhäuser, C., & García-Robles, M. A. (2018). Connexin-43 Gap Junctions Are Responsible for the Hypothalamic Tanycyte-Coupled Network. Frontiers in Cellular Neuroscience, 12, 406. https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00406 **Etude étudiant le couplage entre les astrocytes et les tanycytes hypothalamiques. Dans des tranches hypothalamiques, la délétion de Cx43 bloque la diffusion tanycyte-parenchyme, suggérant un réseau tanycyte-astrocytaire coordonnant les signaux sang/cerveau/LCS.**

Ⓐ Reiner, D. J., Mietlicki-Baase, E. G., McGrath, L. E., Zimmer, D. J., Bence, K. K., Sousa, G. L., Konanur, V. R., Krawczyk, J., Burk, D. H., Kanoski, S. E., Hermann, G. E., Rogers, R. C., & Hayes, M. R. (2016). Astrocytes Regulate GLP-1 Receptor-Mediated Effects on Energy Balance. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 36(12), 3531-3540. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3579-15.2016 **Les astrocytes du NTS pourraient contribuer aux effets anorexigènes du GLP-1 via une signalisation dépendante des GLP-1R.**

Ⓐ Ren, H., Lu, T. Y., McGraw, T. E., & Accili, D. (2015). Anorexia and impaired glucose metabolism in mice with hypothalamic ablation of Glut4 neurons. Diabetes, 64(2), 405-417. https://doi.org/10.2337/db14-0752

Ⓐ Retamal, M. A., Froger, N., Palacios-Prado, N., Ezan, P., Sáez, P. J., Sáez, J. C., & Giaume, C. (2007). Cx43 Hemichannels and Gap Junction Channels in Astrocytes Are Regulated Oppositely by Proinflammatory Cytokines Released from Activated Microglia. Journal of Neuroscience, 27(50), 13781-13792. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2042-07.2007

Ⓐ Richard, J. E., Farkas, I., Anesten, F., Anderberg, R. H., Dickson, S. L., Gribble, F. M., Reimann, F., Jansson, J.-O., Liposits, Z., & Skibicka, K. P. (2014). GLP-1 Receptor Stimulation of the Lateral Parabrachial Nucleus Reduces Food Intake : Neuroanatomical, Electrophysiological, and Behavioral Evidence. Endocrinology, 155(11), 4356-4367. https://doi.org/10.1210/en.2014-1248

Ⓐ Richter, C. P. (1922). A Behavioristic Study of the Activity of the Rat. Williams & Wilkins.

Ⓐ Rinaman, L. (1999a). A functional role for central glucagon-like peptide-1 receptors in lithium chloride-induced anorexia. The American Journal of Physiology, 277(5), R1537-1540. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1999.277.5.R1537

Ⓐ Rinaman, L. (1999b). Interoceptive stress activates glucagon-like peptide-1 neurons that project to the hypothalamus. The American Journal of Physiology, 277(2), R582-590. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1999.277.2.R582

Ⓡ Rinaman, L. (2007). Visceral Sensory Inputs to the Endocrine Hypothalamus. Frontiers in neuroendocrinology, 28(1), 50-60. https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2007.02.002

Ⓐ Rinaman, L., Card, J. P., Schwaber, J. S., & Miselis, R. R. (1989). Ultrastructural demonstration of a gastric monosynaptic vagal circuit in the nucleus of the solitary tract in rat. Journal of Neuroscience, 9(6), 1985-1996. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.09-06-01985.1989

Ⓡ Ritter, R. C. (2004). Gastrointestinal mechanisms of satiation for food. Physiology & Behavior, 81(2), 249-273. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.02.012

Ⓐ Ritter, R. C., & Edwards, G. L. (1984). Area postrema lesions cause overconsumption of palatable foods but not calories. Physiology & Behavior, 32(6), 923-927. https://doi.org/10.1016/0031-9384(84)90279-8

Ⓡ Ritter, S. (2017). Monitoring and Maintenance of Brain Glucose Supply : Importance of Hindbrain Catecholamine Neurons in This Multifaceted Task. In R. B. S. Harris (Éd.), Appetite and Food Intake : Central Control (2nd éd.). CRC Press/Taylor & Francis. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK453140/

Ⓐ Ritter, S., Bugarith, K., & Dinh, T. T. (2001). Immunotoxic destruction of distinct catecholamine subgroups produces selective impairment of glucoregulatory responses and neuronal activation. Journal of Comparative Neurology, 432(2), 197-216. https://doi.org/10.1002/cne.1097

Ⓡ Ritter, S., Li, A.-J., & Wang, Q. (2019). Hindbrain Glucoregulatory Mechanisms : Critical Role of Catecholamine Neurons in the Ventrolateral Medulla. Physiology & behavior, 208, 112568. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112568

Ⓡ Ritter, S., Li, A.-J., Wang, Q., & Dinh, T. T. (2011). Minireview : The Value of Looking Backward: The Essential Role of the Hindbrain in Counterregulatory Responses to Glucose Deficit. Endocrinology, 152(11), 4019-4032. https://doi.org/10.1210/en.2010-1458

Ⓐ Ritter, S., Llewellyn-Smith, I., & Dinh, T. T. (1998). Subgroups of hindbrain catecholamine neurons are selectively activated by 2-deoxy-d-glucose induced metabolic challenge. Brain Research, 805(1), 41-54. https://doi.org/10.1016/S0006-8993(98)00655-6

Ⓐ Ritter, S., & Taylor, J. S. (1990). Vagal sensory neurons are required for lipoprivic but not glucoprivic feeding in rats. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 258(6), R1395-R1401. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1990.258.6.R1395

Ⓐ Rizza, R. A., Cryer, P. E., & Gerich, J. E. (1979). Role of glucagon, catecholamines, and growth hormone in human glucose counterregulation. Effects of somatostatin and combined alpha- and beta-adrenergic blockade on plasma glucose recovery and glucose flux rates after insulin-induced hypoglycemia. The Journal of Clinical Investigation, 64(1), 62-71. https://doi.org/10.1172/JCI109464

Ⓐ Roberts, B. L., Zhu, M., Zhao, H., Dillon, C., & Appleyard, S. M. (2017). High glucose increases action potential firing of catecholamine neurons in the nucleus of the solitary tract by increasing spontaneous glutamate inputs. American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 313(3), R229-R239. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00413.2016

Ⓡ Rodríguez, E., Guerra, M., Peruzzo, B., & Blázquez, J. L. (2019). Tanycytes : A rich morphological history to underpin future molecular and physiological investigations. Journal of Neuroendocrinology, 31(3), e12690. https://doi.org/10.1111/jne.12690

Ⓐ Rogers, R. C., Burke, S. J., Collier, J. J., Ritter, S., & Hermann, G. E. (2020). Evidence that hindbrain astrocytes in the rat detect low glucose with a glucose transporter 2-phospholipase C-calcium release mechanism. American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 318(1), R38-R48. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00133.2019

Ⓡ Rogers, R. C., & Hermann, G. E. (2019). Hindbrain astrocytes and glucose counter-regulation. Physiology & Behavior, 204, 140-150. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.02.025 **Revue détaillant comment les astrocytes du CVD pourraient participer aux réponses contre-régulatrices induites par une privation de glucose.**

Ⓐ Rogers, R. C., McDougal, D. H., Ritter, S., Qualls-Creekmore, E., & Hermann, G. E. (2018). Response of catecholaminergic neurons in the mouse hindbrain to glucoprivic stimuli is astrocyte dependent. American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 315(1), R153-R164. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00368.2017

Ⓡ Rogers, R. C., McTigue, D. M., & Hermann, G. E. (1995). Vagovagal reflex control of digestion : Afferent modulation by neural and « endoneurocrine » factors. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 268(1), G1-G10. https://doi.org/10.1152/ajpgi.1995.268.1.G1

Ⓐ Rogers, R. C., Ritter, S., & Hermann, G. E. (2016). Hindbrain cytoglucopenia-induced increases in systemic blood glucose levels by 2-deoxyglucose depend on intact astrocytes and adenosine release. American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 310(11), R1102-1108. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00493.2015 **Les astrocytes du CVD détectent les déficits en glucose et modulent la réponse glycémique via des récepteurs purinergiques et adénosinergiques.**

Ⓐ Rogers, R. C., Travagli, R. A., & Hermann, G. E. (2003). Noradrenergic neurons in the rat solitary nucleus participate in the esophageal-gastric relaxation reflex. American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology, 285(2), R479-R489. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00155.2003

L'équipe d'Hermann et Rogers a grandement contribué à élucider le rôle des astrocytes dans la réponse à la glucoprivation, en proposant un circuit fonctionnel impliqué dans les mécanismes de contre-régulation.

Ⓐ Roges, R. C., Kita, H., Butcher, L. L., & Novin, D. (1980). Afferent projections to the dorsal motor nucleus of the vagus. Brain Research Bulletin, 5(4), 365-373. https://doi.org/10.1016/S0361-9230(80)80006-2

Ⓡ Roh, E., Song, D. K., & Kim, M.-S. (2016). Emerging role of the brain in the homeostatic regulation of energy and glucose metabolism. Experimental & Molecular Medicine, 48(3), e216-e216. https://doi.org/10.1038/emm.2016.4

Ⓐ Roman, C. W., Derkach, V. A., & Palmiter, R. D. (2016). Genetically and functionally defined NTS to PBN brain circuits mediating anorexia. Nature Communications, 7, 11905. https://doi.org/10.1038/ncomms11905

Ⓡ Romano, A., Friuli, M., Cifani, C., & Gaetani, S. (2020). Oxytocin in the neural control of eating : At the crossroad between homeostatic and non-homeostatic signals. Neuropharmacology, 171, 108082. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108082

Ⓡ Rossi, M. A., & Stuber, G. D. (2018). Overlapping Brain Circuits for Homeostatic and Hedonic Feeding. Cell Metabolism, 27(1), 42-56. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.09.021

Ⓡ Rouach, N., Avignone, E., Même, W., Koulakoff, A., Venance, L., Blomstrand, F., & Giaume, C. (2002). Gap junctions and connexin expression in the normal and pathological central nervous system. Biology of the Cell, 94(7-8), 457-475. https://doi.org/10.1016/s0248-4900(02)00016-3

Ⓐ Rouach, N., Glowinski, J., & Giaume, C. (2000). Activity-Dependent Neuronal Control of Gap-Junctional Communication in Astrocytes. The Journal of Cell Biology, 149(7), 1513-1526. https://doi.org/10.1083/jcb.149.7.1513

Ⓐ Rouach, N., Koulakoff, A., Abudara, V., Willecke, K., & Giaume, C. (2008). Astroglial metabolic networks sustain hippocampal synaptic transmission. Science (New York, N.Y.), 322(5907), 1551-1555. https://doi.org/10.1126/science.1164022 **Étude phare démontrant que l'absence de Cx43/Cx30 compromet la diffusion du glucose entre astrocytes, soulignant l'importance des jonctions communicantes dans le métabolisme énergétique glial.**

Ⓡ Rozental, R., Giaume, C., & Spray, D. C. (2000). Gap junctions in the nervous system. Brain Research Reviews, 32(1), 11-15. https://doi.org/10.1016/S0165-0173(99)00095-8

Ⓡ Ruan, C., & Elyaman, W. (2022). A New Understanding of TMEM119 as a Marker of Microglia. Frontiers in Cellular Neuroscience, 16, 902372. https://doi.org/10.3389/fncel.2022.902372

Ⓐ Ruyle, B. C., Klutho, P. J., Baines, C. P., Heesch, C. M., & Hasser, E. M. (2018). Hypoxia activates a neuropeptidergic pathway from the paraventricular nucleus of the hypothalamus to the nucleus tractus solitarii. American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 315(6), R1167-R1182. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00244.2018

S

Ⓐ S. McGregor, I., & Lee, A. M. (1995). Metabolic changes associated with ingestion of different macronutrients and different meal sizes in rats. Physiology & Behavior, 57(2), 277-286. https://doi.org/10.1016/0031-9384(94)00221-P

Ⓐ Sabatini, P. V., Frikke-Schmidt, H., Arthurs, J., Gordian, D., Patel, A., Rupp, A. C., Adams, J. M., Wang, J., Beck Jørgensen, S., Olson, D. P., Palmiter, R. D., Myers, M. G., & Seeley, R. J. (2021). GFRAL-expressing neurons suppress food intake via aversive pathways. Proceedings of the National Academy of Sciences, 118(8), e2021357118. https://doi.org/10.1073/pnas.2021357118

Ⓡ Saceleanu, V. M., Covache-Busuioc, R.-A., Costin, H.-P., Glavan, L.-A., & Ciurea, A. V. (2022). An Important Step in Neuroscience : Camillo Golgi and His Discoveries. Cells, 11(24), Article 24. https://doi.org/10.3390/cells11244112

Ⓐ Sáez, J. C., Vargas, A. A., Hernández, D. E., Ortiz, F. C., Giaume, C., & Orellana, J. A. (2020). Permeation of Molecules through Astroglial Connexin 43 Hemichannels Is Modulated by Cytokines with Parameters Depending on the Permeant Species. International Journal of Molecular Sciences, 21(11), Article 11. https://doi.org/10.3390/ijms21113970

Ⓡ Saffran, M., Pansky, B., Budd, G. C., & Williams, F. E. (1997). Insulin and the gastrointestinal tract. Journal of Controlled Release, 46(1), 89-98. https://doi.org/10.1016/S0168-3659(96)01578-7

Ⓡ Sahlender, D. A., Savtchouk, I., & Volterra, A. (2014). What do we know about gliotransmitter release from astrocytes? Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, 369(1654), 20130592. https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0592

Ⓡ Salehinejad, M. A., Ghanavati, E., Rashid, M. H. A., & Nitsche, M. A. (2021). Hot and cold executive functions in the brain : A prefrontal-cingular network. Brain and Neuroscience Advances, 5, 23982128211007769. https://doi.org/10.1177/23982128211007769

Ⓐ Samms, R. J., Cosgrove, R., Snider, B. M., Furber, E. C., Droz, B. A., Briere, D. A., Dunbar, J., Dogra, M., Alsina-Fernandez, J., Borner, T., De Jonghe, B. C., Hayes, M. R., Coskun, T., Sloop, K. W., Emmerson, P. J., & Ai, M. (2022). GIPR Agonism Inhibits PYY-Induced Nausea-Like Behavior. Diabetes, 71(7), 1410-1423. https://doi.org/10.2337/db21-0848

Ⓡ Samms, R. J., Sloop, K. W., Gribble, F. M., Reimann, F., & Adriaenssens, A. E. (2021). GIPR Function in the Central Nervous System : Implications and Novel Perspectives for GIP-Based Therapies in Treating Metabolic Disorders. Diabetes, 70(9), 1938-1944. https://doi.org/10.2337/dbi21-0002

Ⓡ Sancho, L., Contreras, M., & Allen, N. J. (2021). Glia as sculptors of synaptic plasticity. Neuroscience Research, 167, 17-29. https://doi.org/10.1016/j.neures.2020.11.005

Ⓡ Sanders, K. M., Koh, S. D., Ro, S., & Ward, S. M. (2012). Regulation of gastrointestinal motility—Insights from smooth muscle biology. Nature reviews. Gastroenterology & hepatology, 9(11), 633-645. https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.168

Ⓐ Sanders, N. M., & Ritter, S. (2000). Repeated 2-deoxy-D-glucose-induced glucoprivation attenuates Fos expression and glucoregulatory responses during subsequent glucoprivation. Diabetes, 49(11), 1865-1874. https://doi.org/10.2337/diabetes.49.11.1865

Ⓐ Sandoval, D. A., Bagnol, D., Woods, S. C., D'Alessio, D. A., & Seeley, R. J. (2008). Arcuate Glucagon-Like Peptide 1 Receptors Regulate Glucose Homeostasis but Not Food Intake. Diabetes, 57(8), 2046-2054. https://doi.org/10.2337/db07-1824

Ⓡ Sanger, G. J., Holbrook, J. D., & Andrews, P. L. R. (2011). The translational value of rodent gastrointestinal functions : A cautionary tale. Trends in Pharmacological Sciences, 32(7), 402-409. https://doi.org/10.1016/j.tips.2011.03.009

Ⓡ Santello, M., Toni, N., & Volterra, A. (2019). Astrocyte function from information processing to cognition and cognitive impairment. Nature Neuroscience, 22(2), 154-166. https://doi.org/10.1038/s41593-018-0325-8

Ⓐ Santiago, M. F., Alcami, P., Striedinger, K. M., Spray, D. C., & Scemes, E. (2010). The Carboxyl-terminal Domain of Connexin43 Is a Negative Modulator of Neuronal Differentiation *. Journal of Biological Chemistry, 285(16), 11836-11845. https://doi.org/10.1074/jbc.M109.058750

Ⓐ Santoro, A., Campolo, M., Liu, C., Sesaki, H., Meli, R., Liu, Z.-W., Kim, J. D., & Diano, S. (2017). DRP1 Suppresses Leptin and Glucose Sensing of POMC Neurons. Cell Metabolism, 25(3), 647-660. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.01.003

Ⓡ Saper, C. B., Chou, T. C., & Elmquist, J. K. (2002). The Need to Feed : Homeostatic and Hedonic Control of Eating. Neuron, 36(2), 199-211. https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00969-8

Ⓡ Saper, C. B., & Lowell, B. B. (2014). The hypothalamus. Current Biology, 24(23), R1111-R1116. https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.10.023

Ⓡ Sarikcioglu, L. (2017). Lina Stern (1878–1968) : An outstanding scientist of her time. Child's Nervous System, 33(7), 1027-1029. https://doi.org/10.1007/s00381-017-3392-3

Ⓡ Sasi, M., Vignoli, B., Canossa, M., & Blum, R. (2017). Neurobiology of local and intercellular BDNF signaling. Pflügers Archiv - European Journal of Physiology, 469(5), 593-610. https://doi.org/10.1007/s00424-017-1964-4

Ⓐ Sato, M., Minabe, S., Sakono, T., Magata, F., Nakamura, S., Watanabe, Y., Inoue, N., Uenoyama, Y., Tsukamura, H., & Matsuda, F. (2021). Morphological Analysis of the Hindbrain Glucose Sensor-Hypothalamic Neural Pathway Activated by Hindbrain Glucoprivation. Endocrinology, 162(9), bqab125. https://doi.org/10.1210/endocr/bqab125

Ⓡ Savtchouk, I., & Volterra, A. (2018). Gliotransmission : Beyond Black-and-White. Journal of Neuroscience, 38(1), 14-25. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0017-17.2017

Ⓐ Sawchenko, P. E., & Swanson, L. W. (1981). Central noradrenergic pathways for the integration of hypothalamic neuroendocrine and autonomic responses. Science (New York, N.Y.), 214(4521), 685-687. https://doi.org/10.1126/science.7292008

Ⓐ Sawchenko, P. E., & Swanson, L. W. (1982). The organization of noradrenergic pathways from the brainstem to the paraventricular and supraoptic nuclei in the rat. Brain Research, 257(3), 275-325. https://doi.org/10.1016/0165-0173(82)90010-8

Ⓡ Scemes, E., & Giaume, C. (2006). Astrocyte calcium waves : What they are and what they do. Glia, 54(7), 716-725. https://doi.org/10.1002/glia.20374

Ⓡ Scemes, E., Spray, D. C., & Meda, P. (2009). Connexins, pannexins, innexins : Novel roles of "hemi-channels". Pflugers Archiv : European journal of physiology, 457(6), 1207-1226. https://doi.org/10.1007/s00424-008-0591-5

Ⓜ Ⓡ Schalper, K. A., Palacios-Prado, N., Orellana, J. A., & Sáez, J. C. (2008). Currently used methods for identification and characterization of hemichannels. Cell Communication & Adhesion, 15(1), 207-218. https://doi.org/10.1080/15419060802014198 **Description du protocole de capture de l'EtBr utilisé dans ce projet. Dans ce projet, l'EtBr reflète directement l'état d'ouverture des HC et constitue donc un indicateur fonctionnel fiable de leur activité.**

Ⓐ Schalper, K. A., Sánchez, H. A., Lee, S. C., Altenberg, G. A., Nathanson, M. H., & Sáez, J. C. (2010). Connexin 43 hemichannels mediate the Ca2+ influx induced by extracellular alkalinization. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 299(6), C1504-C1515. https://doi.org/10.1152/ajpcell.00015.2010

Ⓡ Scherer, T., Sakamoto, K., & Buettner, C. (2021). Brain insulin signalling in metabolic homeostasis and disease. Nature Reviews Endocrinology, 17(8), 468-483. https://doi.org/10.1038/s41574-021-00498-x

Ⓐ Schneeberger, M., Dietrich, M. O., Sebastián, D., Imbernón, M., Castaño, C., Garcia, A., Esteban, Y., Gonzalez-Franquesa, A., Rodríguez, I. C., Bortolozzi, A., Garcia-Roves, P. M., Gomis, R., Nogueiras, R., Horvath, T. L., Zorzano, A., & Claret, M. (2013). Mitofusin 2 in POMC neurons connects ER stress with leptin resistance and energy imbalance. Cell, 155(1), 172-187. https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.09.003

Ⓡ Schneeberger, M., Gomis, R., & Claret, M. (2014). Hypothalamic and brainstem neuronal circuits controlling homeostatic energy balance. https://doi.org/10.1530/JOE-13-0398

Ⓡ Schröder, H., Moser, N., & Huggenberger, S. (2020). The Mouse Brainstem (Truncus encephali). In H. Schröder, N. Moser, & S. Huggenberger (Éds.), Neuroanatomy of the Mouse : An Introduction (p. 79-151). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-19898-5_6

Ⓡ Schulingkamp, R. J., Pagano, T. C., Hung, D., & Raffa, R. B. (2000). Insulin receptors and insulin action in the brain : Review and clinical implications. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 24(8), 855-872. https://doi.org/10.1016/S0149-7634(00)00040-3

Ⓐ Schwartz, G. J., Salorio, C. F., Skoglund, C., & Moran, T. H. (1999). Gut vagal afferent lesions increase meal size but do not block gastric preload-induced feeding suppression. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 276(6), R1623-R1629. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1999.276.6.R1623

Ⓡ Schwartz, G. J., & Zeltser, L. M. (2013). Functional Organization of Neuronal and Humoral Signals Regulating Feeding Behavior. Annual Review of Nutrition, 33(1), 1-21. https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071812-161125

Ⓡ Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D., Seeley, R. J., & Baskin, D. G. (2000). Central nervous system control of food intake. Nature, 404(6778), 661-671. https://doi.org/10.1038/35007534 **Revue fondatrice qui constitue une synthèse incontournable des mécanismes neuronaux impliqués dans la régulation du comportement alimentaire et du poids corporel.**

Ⓐ Secchi, A., Caldara, R., Caumo, A., Monti, L. D., Bonfatti, D., Di Carlo, V., & Pozza, G. (1995). Cephalic-phase insulin and glucagon release in normal subjects and in patients receiving pancreas transplantation. Metabolism: Clinical and Experimental, 44(9), 1153-1158. https://doi.org/10.1016/0026-0495(95)90008-x

Ⓐ Seeley, R. J., Grill, H. J., & Kaplan, J. M. (1994). Neurological dissociation of gastrointestinal and metabolic contributions to meal size control. Behavioral Neuroscience, 108(2), 347-352.

Ⓡ Seeley, R. J., & Woods, S. C. (2003). Monitoring of stored and available fuel by the CNS : Implications for obesity. Nature Reviews Neuroscience, 4(11), 901-909. https://doi.org/10.1038/nrn1245

Ⓡ Seeley, R. J., Yagaloff, K. A., Fisher, S. L., Burn, P., Thiele, T. E., van Dijk, G., Baskin, D. G., & Schwartz, M. W. (1997). Melanocortin receptors in leptin effects. Nature, 390(6658), 349-349. https://doi.org/10.1038/37016

Ⓡ Segarra, M., Aburto, M. R., & Acker-Palmer, A. (2021). Blood–Brain Barrier Dynamics to Maintain Brain Homeostasis. Trends in Neurosciences, 44(5), 393-405. https://doi.org/10.1016/j.tins.2020.12.002

Ⓡ Segretain, D., & Falk, M. M. (2004). Regulation of connexin biosynthesis, assembly, gap junction formation, and removal. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, 1662(1), 3-21. https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2004.01.007

Ⓡ Sekiguchi, T. (2021). Subchapter 29B - Cholecystokinin. In H. Ando, K. Ukena, & S. Nagata (Éds.), Handbook of Hormones (Second Edition) (p. 309-311). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820649-2.00080-2

Ⓐ Senzacqua, M., Severi, I., Perugini, J., Acciarini, S., Cinti, S., & Giordano, A. (2016). Action of Administered Ciliary Neurotrophic Factor on the Mouse Dorsal Vagal Complex. Frontiers in Neuroscience, 10. https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00289

Ⓐ Šerý, O., Sultana, N., Kashem, M. A., Pow, D. V., & Balcar, V. J. (2015). GLAST But Not Least—Distribution, Function, Genetics and Epigenetics of l-Glutamate Transport in Brain—Focus on GLAST/EAAT1. Neurochemical Research, 40(12), 2461-2472. https://doi.org/10.1007/s11064-015-1605-2

Ⓐ Shah, B. P., Vong, L., Olson, D. P., Koda, S., Krashes, M. J., Ye, C., Yang, Z., Fuller, P. M., Elmquist, J. K., & Lowell, B. B. (2014). MC4R-expressing glutamatergic neurons in the paraventricular hypothalamus regulate feeding and are synaptically connected to the parabrachial nucleus. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 111(36), 13193-13198. https://doi.org/10.1073/pnas.1407843111

Ⓐ Shao, L., Kong, F., Tian, X., Deng, T., Wang, Y., Ji, Y., Wang, X., Yu, H., Yuan, F., Fu, C., & Wang, S. (2024). Whole-brain inputs and outputs of Phox2b and GABAergic neurons in the nucleus tractus solitarii. Frontiers in Neuroscience, 18, 1427384. https://doi.org/10.3389/fnins.2024.1427384

Ⓐ Shapiro, R. E., & Miselis, R. R. (1985a). The central neural connections of the area postrema of the rat. The Journal of Comparative Neurology, 234(3), 344-364. https://doi.org/10.1002/cne.902340306

Ⓐ Shapiro, R. E., & Miselis, R. R. (1985b). The central organization of the vagus nerve innervating the stomach of the rat. The Journal of Comparative Neurology, 238(4), 473-488. https://doi.org/10.1002/cne.902380411

Ⓐ Shaw, R. M., Fay, A. J., Puthenveedu, M. A., Zastrow, M. von, Jan, Y.-N., & Jan, L. Y. (2007). Microtubule Plus-End-Tracking Proteins Target Gap Junctions Directly from the Cell Interior to Adherens Junctions. Cell, 128(3), 547-560. https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.12.037

Ⓡ Sheeler, C., Rosa, J.-G., Ferro, A., McAdams, B., Borgenheimer, E., & Cvetanovic, M. (2020). Glia in Neurodegeneration : The Housekeeper, the Defender and the Perpetrator. International Journal of Molecular Sciences, 21(23), Article 23. https://doi.org/10.3390/ijms21239188

Ⓐ SheikhBahaei, S., Morris, B., Collina, J., Anjum, S., Znati, S., Gamarra, J., Zhang, R., Gourine, A. V., & Smith, J. C. (2018). Morphometric analysis of astrocytes in brainstem respiratory regions. Journal of Comparative Neurology, 526(13), 2032-2047. https://doi.org/10.1002/cne.24472 **Les astrocytes du NTS semblent avoir des territoires chevauchants contrairement à ce qui est décrit dans le reste du SNC.**

Ⓡ Sherling, D. H., Perumareddi, P., & Hennekens, C. H. (2017). Metabolic Syndrome. Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics, 22(4), 365-367. https://doi.org/10.1177/1074248416686187

Ⓐ Sherrington, C. S. (1898). Decerebrate Rigidity, and Reflex Coordination of Movements. The Journal of Physiology, 22(4), 319-332. https://doi.org/10.1113/jphysiol.1898.sp000697

Ⓐ Shi, M.-Y., Ding, L.-F., Guo, Y.-H., Cheng, Y.-X., Bi, G.-Q., & Lau, P.-M. (2021). Long-range GABAergic projections from the nucleus of the solitary tract. Molecular Brain, 14(1), 38. https://doi.org/10.1186/s13041-021-00751-4

Ⓐ Shi, X., Chacko, S., Li, F., Li, D., Burrin, D., Chan, L., & Guan, X. (2017). Acute activation of GLP-1-expressing neurons promotes glucose homeostasis and insulin sensitivity. Molecular Metabolism, 6(11), 1350-1359. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.08.009

Ⓐ Shimizu, N., & Ishii, S. (1964). Fine structure of the area postrema of the rabbit brain. Zeitschrift Für Zellforschung Und Mikroskopische Anatomie, 64(4), 462-473. https://doi.org/10.1007/BF01045119

Ⓡ Silveira, E. A., Mendonça, C. R., Delpino, F. M., Elias Souza, G. V., Pereira de Souza Rosa, L., de Oliveira, C., & Noll, M. (2022). Sedentary behavior, physical inactivity, abdominal obesity and obesity in adults and older adults : A systematic review and meta-analysis. Clinical Nutrition ESPEN, 50, 63-73. https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2022.06.001

Ⓡ Simard, M., & Nedergaard, M. (2004). The neurobiology of glia in the context of water and ion homeostasis. Neuroscience, 129(4), 877-896. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.09.053

Ⓡ Sims, E. A., & Horton, E. S. (1968). Endocrine and metabolic adaptation to obesity and starvation. The American Journal of Clinical Nutrition, 21(12), 1455-1470. https://doi.org/10.1093/ajcn/21.12.1455

Ⓐ Singh, U., Jiang, J., Saito, K., Toth, B. A., Dickey, J. E., Rodeghiero, S. R., Deng, Y., Deng, G., Xue, B., Zhu, Z., Zingman, L. V., Geerling, J. C., & Cui, H. (2021). Neuroanatomical organization and functional roles of PVN MC4R pathways in physiological and behavioral regulations. Molecular Metabolism, 55, 101401. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2021.101401

Ⓐ Sipe, J. C., & Moore, R. Y. (1976). Astrocytic gap junctions in the rat lateral hypothalamic area. The Anatomical Record, 185(2), 247-251. https://doi.org/10.1002/ar.1091850211

Ⓡ Sisó, S., Jeffrey, M., & González, L. (2010). Sensory circumventricular organs in health and disease. Acta Neuropathologica, 120(6), 689-705. https://doi.org/10.1007/s00401-010-0743-5

Ⓐ Sjøberg, K. A., Sigvardsen, C. M., Alvarado-Diaz, A., Andersen, N. R., Larance, M., Seeley, R. J., Schjerling, P., Knudsen, J. G., Katzilieris-Petras, G., Clemmensen, C., Jørgensen, S. B., Bock, K. D., & Richter, E. A. (2023). GDF15 increases insulin action in the liver and adipose tissue via a β-adrenergic receptor-mediated mechanism. Cell Metabolism, 35(8), 1327-1340.e5. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2023.06.016

Ⓐ Sjöström, L., Garellick, G., Krotkiewski, M., & Luyckx, A. (1980). Peripheral insulin in response to the sight and smell of food. Metabolism: Clinical and Experimental, 29(10), 901-909. https://doi.org/10.1016/0026-0495(80)90031-1

Ⓡ Skibicka, K. P. (2013). The central GLP-1 : Implications for food and drug reward. Frontiers in Neuroscience, 7. https://doi.org/10.3389/fnins.2013.00181

Ⓐ Skibicka, K. P., & Grill, H. J. (2009). Hindbrain Leptin Stimulation Induces Anorexia and Hyperthermia Mediated by Hindbrain Melanocortin Receptors. Endocrinology, 150(4), 1705-1711. https://doi.org/10.1210/en.2008-1316

Ⓡ Smith, G. P. (1996). The direct and indirect controls of meal size. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 20(1), 41-46. https://doi.org/10.1016/0149-7634(95)00038-G

Ⓐ Smith, J. A., Ji, Y., Lorsung, R., Breault, M. S., Koenig, J., Cramer, N., Masri, R., & Keller, A. (2023). Parabrachial nucleus activity in nociception and pain in awake mice. bioRxiv, 2023.03.22.533230. https://doi.org/10.1101/2023.03.22.533230

Ⓐ Smith, J. C., Abdala, A. P. L., Rybak, I. A., & Paton, J. F. R. (2009). Structural and functional architecture of respiratory networks in the mammalian brainstem. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, 364(1529), 2577-2587. https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0081

Ⓐ Smith, P. M., Brzezinska, P., Hubert, F., Mimee, A., Maurice, D. H., & Ferguson, A. V. (2016). Leptin influences the excitability of area postrema neurons. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 310(5), R440-R448. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00326.2015

® Sobrino Crespo, C., Perianes Cachero, A., Puebla Jiménez, L., Barrios, V., & Arilla Ferreiro, E. (2014). Peptides and Food Intake. Frontiers in Endocrinology, 5. https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00058

Ⓐ Söhl, G., & Willecke, K. (2003). An update on connexin genes and their nomenclature in mouse and man. Cell Communication & Adhesion, 10(4-6), 173-180. https://doi.org/10.1080/cac.10.4-6.173.180

® Söhl, G., & Willecke, K. (2004). Gap junctions and the connexin protein family. Cardiovascular Research, 62(2), 228-232. https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2003.11.013

Ⓐ Sokoloff, L., Reivich, M., Kennedy, C., Des Rosiers, M. H., Patlak, C. S., Pettigrew, K. D., Sakurada, O., & Shinohara, M. (1977). The [14C]deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization : Theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. Journal of Neurochemistry, 28(5), 897-916. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1977.tb10649.x

® Solan, J. L., & Lampe, P. D. (2009). Connexin43 phosphorylation : Structural changes and biological effects. The Biochemical Journal, 419(2), 261-272. https://doi.org/10.1042/BJ20082319

Ⓐ Solan, J. L., & Lampe, P. D. (2014). Specific Cx43 phosphorylation events regulate gap junction turnover in vivo. FEBS Letters, 588(8), 1423-1429. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.01.049 **La phosphorylation de la Ser368 est généralement associée à une réduction de l'ouverture des hémicanaux de Cx43 (Cx43HC) et à une diminution de la demi-vie de la Cx43, car elle favorise le recyclage et la dégradation des HC et des JC.**

® Somjen, G. G. (1988). Nervenkitt : Notes on the history of the concept of neuroglia. Glia, 1(1), 2-9. https://doi.org/10.1002/glia.440010103

® Sotelo, C. (2020). The History of the Synapse. The Anatomical Record, 303(5), 1252-1279. https://doi.org/10.1002/ar.24392

® Sovetkina, A., Nadir, R., Fung, J. N. M., Nadjarpour, A., & Beddoe, B. (s. d.). The Physiological Role of Ghrelin in the Regulation of Energy and Glucose Homeostasis. Cureus, 12(5), e7941. https://doi.org/10.7759/cureus.7941

® Speakman, J. R., & Elmquist, J. K. (2022). Obesity : An evolutionary context. Life Metabolism, 1(1), 10-24. https://doi.org/10.1093/lifemeta/loac002

® Speakman, J. R., Levitsky, D. A., Allison, D. B., Bray, M. S., de Castro, J. M., Clegg, D. J., Clapham, J. C., Dulloo, A. G., Gruer, L., Haw, S., Hebebrand, J., Hetherington, M. M., Higgs, S., Jebb, S. A., Loos, R. J. F., Luckman, S., Luke, A., Mohammed-Ali, V., O'Rahilly, S., … Westerterp-Plantenga, M. S. (2011). Set points, settling points and some alternative models : Theoretical options to understand how genes and environments combine to regulate body adiposity. Disease Models & Mechanisms, 4(6), 733-745. https://doi.org/10.1242/dmm.008698

® Sprague, J. E., & Arbeláez, A. M. (2011). Glucose Counterregulatory Responses to Hypoglycemia. Pediatric endocrinology reviews : PER, 9(1), 463-475.

Ⓐ Stanley, B. G., & Leibowitz, S. F. (1984). Neuropeptide Y : Stimulation of feeding and drinking by injection into the paraventricular nucleus. Life Sciences, 35(26), 2635-2642. https://doi.org/10.1016/0024-3205(84)90032-8

® Stanley, B. G., Urstadt, K. R., Charles, J. R., & Kee, T. (2011). Glutamate and GABA in lateral hypothalamic mechanisms controlling food intake. Physiology & Behavior, 104(1), 40-46. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.04.046

Ⓐ Stark, R., Reichenbach, A., Lockie, S. H., Pracht, C., Wu, Q., Tups, A., & Andrews, Z. B. (2015). Acyl ghrelin acts in the brain to control liver function and peripheral glucose homeostasis in male mice. Endocrinology, 156(3), 858-868. https://doi.org/10.1210/en.2014-1733

Ⓐ Stehberg, J., Moraga-Amaro, R., Salazar, C., Becerra, A., Echeverría, C., Orellana, J. A., Bultynck, G., Ponsaerts, R., Leybaert, L., Simon, F., Sáez, J. C., & Retamal, M. A. (2012). Release of gliotransmitters through astroglial connexin 43 hemichannels is necessary for fear memory consolidation in the basolateral amygdala. FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 26(9), 3649-3657. https://doi.org/10.1096/fj.11-198416 **L'ouverture des hémicanaux Cx43 astrocytaires est essentielle à la mémorisation à long terme du conditionnement de la peur via la libération de gliotransmetteurs.**

Ⓐ Stein, L. M., Lhamo, R., Cao, A., Workinger, J., Tinsley, I., Doyle, R. P., Grill, H. J., Hermann, G. E., Rogers, R. C., & Hayes, M. R. (2020). Dorsal vagal complex and hypothalamic glia differentially respond to leptin and energy balance dysregulation. Translational Psychiatry, 10(1), 90. https://doi.org/10.1038/s41398-020-0767-0 **Les vagliocytes GFAP$^+$ à la frontière AP-NTS expriment des récepteurs à la leptine fonctionnels, suggérant leur implication dans la détection leptinique centrale.**

Ⓐ Stein, M. K., & Loewy, A. D. (2010). Area postrema projects to FoxP2 neurons of the pre-locus coeruleus and parabrachial nuclei : Brainstem sites implicated in sodium appetite regulation. Brain Research, 1359, 116-127. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.08.085

Ⓡ Sterling, P. (2012). Allostasis : A model of predictive regulation. Physiology & Behavior, 106(1), 5-15. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.06.004

Ⓐ Stern, R. M., Crawford, H. E., Stewart, W. R., Vasey, M. W., & Koch, K. L. (1989). Sham feeding. Cephalic-vagal influences on gastric myoelectric activity. Digestive Diseases and Sciences, 34(4), 521-527. https://doi.org/10.1007/BF01536327

Ⓡ Sternson, S. M., & Eiselt, A.-K. (2017). Three Pillars for the Neural Control of Appetite. Annual Review of Physiology, 79(Volume 79, 2017), 401-423. https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021115-104948

Ⓐ Stolarczyk, E., Guissard, C., Michau, A., Even, P. C., Grosfeld, A., Serradas, P., Lorsignol, A., Pénicaud, L., Brot-Laroche, E., Leturque, A., & Le Gall, M. (2010). Detection of extracellular glucose by GLUT2 contributes to hypothalamic control of food intake. American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism, 298(5), E1078-1087. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00737.2009

Ⓐ Stout, C. E., Costantin, J. L., Naus, C. C. G., & Charles, A. C. (2002). Intercellular calcium signaling in astrocytes via ATP release through connexin hemichannels. The Journal of Biological Chemistry, 277(12), 10482-10488. https://doi.org/10.1074/jbc.M109902200

Ⓡ Strominger, J. L., & Brobeck, J. R. (1953). A mechanism of regulation of food intake. The Yale Journal of Biology and Medicine, 25(5), 383-390.

Ⓡ Stuber, G. D., & Wise, R. A. (2016). Lateral hypothalamic circuits for feeding and reward. Nature Neuroscience, 19(2), 198-205. https://doi.org/10.1038/nn.4220

Suadicani, S. O., Flores, C. E., Urban-Maldonado, M., Beelitz, M., & Scemes, E. (2004). Gap junction channels coordinate the propagation of intercellular Ca2+ signals generated by P2Y receptor activation. Glia, 48(3), 217-229. https://doi.org/10.1002/glia.20071

Ⓐ Sugeta, S., Hirai, Y., Maezawa, H., Inoue, N., Yamazaki, Y., & Funahashi, M. (2015). Presynaptically mediated effects of cholecystokinin-8 on the excitability of area postrema neurons in rat brain slices. Brain Research, 1618, 83-90. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.05.018

Ⓐ Sun, K., & Ferguson, A. V. (1997). Cholecystokinin activates area postrema neurons in rat brain slices. The American Journal of Physiology, 272(5 Pt 2), R1625-1630. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1997.272.5.R1625

Ⓐ Sun, L., Liu, R., Guo, F., Wen, M., Ma, X., Li, K., Sun, H., Xu, C., Li, Y., Wu, M., Zhu, Z., Li, X., Yu, Y., Chen, Z., Li, X., & Duan, S. (2020). Parabrachial nucleus circuit governs neuropathic pain-like behavior. Nature Communications, 11(1), 5974. https://doi.org/10.1038/s41467-020-19767-w

Ⓐ Sun, Q., van de Lisdonk, D., Ferrer, M., Gegenhuber, B., Wu, M., Park, Y., Tuveson, D. A., Tollkuhn, J., Janowitz, T., & Li, B. (2024). Area postrema neurons mediate interleukin-6 function in cancer cachexia. Nature Communications, 15(1), 4682. https://doi.org/10.1038/s41467-024-48971-1

Ⓡ Swanson, L. W., & Lichtman, J. W. (2016). From Cajal to Connectome and Beyond. Annual Review of Neuroscience, 39, 197-216. https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-071714-033954

Ⓡ Syková, E., & Chvátal, A. (2000). Glial cells and volume transmission in the CNS. Neurochemistry International, 36(4), 397-409. https://doi.org/10.1016/S0197-0186(99)00131-X

Ⓐ Szilvásy-Szabó, A., Varga, E., Beliczai, Z., Lechan, R. M., & Fekete, C. (2017). Localization of connexin 43 gap junctions and hemichannels in tanycytes of adult mice. Brain Research, 1673, 64-71. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2017.08.010

T

Ⓐ Tabernero, A., Giaume, C., & Medina, J. M. (1996). Endothelin-1 regulates glucose utilization in cultured astrocytes by controlling intercellular communication through gap junctions. Glia, 16(3), 187-195. https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1136(199603)16:3<187::AID-GLIA1>3.0.CO;2-#

Ⓐ Tabernero, A., Jiménez, C., Velasco, A., Giaume, C., & Medina, J. M. (2001). The enhancement of glucose uptake caused by the collapse of gap junction communication is due to an increase in astrocyte proliferation. Journal of Neurochemistry, 78(4), 890-898. https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00476.x

Ⓡ Tabernero, A., Medina, J. M., & Giaume, C. (2006). Glucose metabolism and proliferation in glia : Role of astrocytic gap junctions. Journal of Neurochemistry, 99(4), 1049-1061. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.04088.x
L'inhibition des JC astrocytaires augmente la capture de glucose via GLUT-1.

Ⓐ Takagi, S., Furube, E., Nakano, Y., Morita, M., & Miyata, S. (2019). Microglia are continuously activated in the circumventricular organs of mouse brain. Journal of Neuroimmunology, 331, 74-86. https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2017.10.008

Ⓡ Takeuchi, H., & Suzumura, A. (2014). Gap junctions and hemichannels composed of connexins : Potential therapeutic targets for neurodegenerative diseases. Frontiers in Cellular Neuroscience, 8. https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00189

Ⓐ Talaverón, R., Fernández, P., Escamilla, R., Pastor, A. M., Matarredona, E. R., & Sáez, J. C. (2015). Neural progenitor cells isolated from the subventricular zone present hemichannel activity and form functional gap junctions with glial cells. Frontiers in Cellular Neuroscience, 9. https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00411

Ⓐ Tashiro, Y., & Kawai, Y. (2007). Glial coverage of the small cell somata in the rat nucleus of tractus solitarius during postnatal development. Glia, 55(16), 1619-1629. https://doi.org/10.1002/glia.20577 **La proximité des astrocytes avec de petits corps neuronaux dans le NTS suggère un rôle possible dans la modulation de la transmission axo-somatique.**

Ⓐ Taylor, I. L., Feldman, M., Richardson, C. T., & Walsh, J. H. (1978). Gastric and cephalic stimulation of human pancreatic polypeptide release. Gastroenterology, 75(3), 432-437.

Ⓡ Teff, K. L. (2011). How neural mediation of anticipatory and compensatory insulin release helps us tolerate food. Physiology & Behavior, 103(1), 44-50. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.01.012

Ⓡ Thaler, J. P., Choi, S. J., Schwartz, M. W., & Wisse, B. E. (2010). Hypothalamic inflammation and energy homeostasis : Resolving the paradox. Frontiers in Neuroendocrinology, 31(1), 79-84. https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2009.10.002

Ⓡ Thaler, J. P., Guyenet, S. J., Dorfman, M. D., Wisse, B. E., & Schwartz, M. W. (2013). Hypothalamic Inflammation : Marker or Mechanism of Obesity Pathogenesis? Diabetes, 62(8), 2629-2634. https://doi.org/10.2337/db12-1605

Ⓐ Thaler, J. P., Yi, C.-X., Schur, E. A., Guyenet, S. J., Hwang, B. H., Dietrich, M. O., Zhao, X., Sarruf, D. A., Izgur, V., Maravilla, K. R., Nguyen, H. T., Fischer, J. D., Matsen, M. E., Wisse, B. E., Morton, G. J., Horvath, T. L., Baskin, D. G., Tschöp, M. H., & Schwartz, M. W. (2012). Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. Journal of Clinical Investigation, 122(1), Article 1. https://doi.org/10.1172/JCI59660 **Un travail fondateur explorant l'interaction entre inflammation, structure gliale et prise de poids.**

Ⓜ Ⓐ Theis, M., de Wit, C., Schlaeger, T. M., Eckardt, D., Krüger, O., Döring, B., Risau, W., Deutsch, U., Pohl, U., & Willecke, K. (2001). Endothelium-specific replacement of the connexin43 coding region by a lacZ reporter gene. Genesis (New York, N.Y.: 2000), 29(1), 1-13. https://doi.org/10.1002/1526-968x(200101)29:1<1::aid-gene1000>3.0.co;2-0 **Étude présentant la construction génétique des souris Cx43^LoxP/LoxP, utilisées dans l'étude 2 pour une suppression conditionnelle de la Cx43, confirmée par un marquage LacZ.**

Ⓐ Theis, M., Jauch, R., Zhuo, L., Speidel, D., Wallraff, A., Döring, B., Frisch, C., Söhl, G., Teubner, B., Euwens, C., Huston, J., Steinhäuser, C., Messing, A., Heinemann, U., & Willecke, K. (2003). Accelerated hippocampal spreading depression and enhanced locomotory activity in mice with astrocyte-directed inactivation of connexin43. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 23(3), 766-776.

Ⓐ Thek, K. R., Ong, S. J. M., Carter, D. C., Bassi, J. K., Allen, A. M., & McDougall, S. J. (2019). Extensive Inhibitory Gating of Viscerosensory Signals by a Sparse Network of Somatostatin Neurons. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 39(41), 8038-8050. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3036-18.2019

Ⓡ Theodoric, N., Bechberger, J. F., Naus, C. C., & Sin, W.-C. (2012). Role of gap junction protein connexin43 in astrogliosis induced by brain injury. PloS One, 7(10), e47311. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047311

Ⓡ Thompson, R. J., & MacVicar, B. (2008). Connexin and pannexin hemichannels of neurons and astrocytes. Channels, 2(2), 81-86. https://doi.org/10.4161/chan.2.2.6003

Ⓐ Timper, K., Del Río-Martín, A., Cremer, A. L., Bremser, S., Alber, J., Giavalisco, P., Varela, L., Heilinger, C., Nolte, H., Trifunovic, A., Horvath, T. L., Kloppenburg, P., Backes, H., & Brüning, J. C. (2020). GLP-1 Receptor Signaling in Astrocytes Regulates Fatty Acid Oxidation, Mitochondrial Integrity, and Function. Cell Metabolism, 31(6), 1189-1205.e13. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.05.001 **Les GLP-1R astrocytaires régulent la flexibilité métabolique et l'homéostasie glucidique.**

Ⓡ Todini, L., & Fantuz, F. (2023). Thirst : Neuroendocrine regulation in mammals. Veterinary Research Communications, 47(3), 1085-1101. https://doi.org/10.1007/s11259-023-10104-2

Ⓐ Tomassy, G. S., Berger, D. R., Chen, H.-H., Kasthuri, N., Hayworth, K. J., Vercelli, A., Seung, H. S., Lichtman, J. W., & Arlotta, P. (2014). Distinct Profiles of Myelin Distribution Along Single Axons of Pyramidal Neurons in the Neocortex. Science, 344(6181), 319-324. https://doi.org/10.1126/science.1249766

Ⓣ Tonon**, M**.-C., Vaudry, H., Chuquet, J., Guillebaud, F., Fan, J., Masmoudi-Kouki, O., Vaudry, D., Lanfray, D., Morin, F., Prevot, V., Papadopoulos, V., Troadec, J.-D., & Leprince, J. (2020). Endozepines and their receptors : Structure, functions and pathophysiological significance. Pharmacology & Therapeutics, 208, 107386. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.06.008

Ⓡ Trapp, S., & Brierley, D. I. (2022). Brain GLP-1 and the regulation of food intake : GLP-1 action in the brain and its implications for GLP-1 receptor agonists in obesity treatment. British Journal of Pharmacology, 179(4), 557-570. https://doi.org/10.1111/bph.15638

Ⓡ Trapp, S., & Hisadome, K. (2011). Glucagon-like peptide 1 and the brain : Central actions–central sources? Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical, 161(1), 14-19. https://doi.org/10.1016/j.autneu.2010.09.008

Ⓡ Trapp, S., & Richards, J. E. (2013). The gut hormone glucagon-like peptide-1 produced in brain : Is this physiologically relevant? Current Opinion in Pharmacology, 13(6), 964-969. https://doi.org/10.1016/j.coph.2013.09.006

Ⓡ Travagli, R. A., & Anselmi, L. (2016). Vagal neurocircuitry and its influence on gastric motility. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 13(7), 389-401. https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.76Ⓐ Travagli, R. A., Gillis, R. A., Rossiter, C. D., & Vicini, S. (1991). Glutamate and GABA-mediated synaptic currents in neurons of the rat dorsal motor nucleus of the vagus. The American Journal of Physiology, 260(3 Pt 1), G531-536. https://doi.org/10.1152/ajpgi.1991.260.3.G531

Ⓡ Travagli, R. A., Hermann, G. E., Browning, K. N., & Rogers, R. C. (2006). Brainstem circuits regulating gastric function. Annual Review of Physiology, 68, 279-305. https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.68.040504.094635

Ⓣ Troadec, J.-D., Gaigé, S., **Barbot, M.**, Lebrun, B., Barbouche, R., & Abysique, A. (2022). Glial Modulation of Energy Balance : The Dorsal Vagal Complex Is No Exception. International Journal of Molecular Sciences, 23(2), Article 2. https://doi.org/10.3390/ijms23020960 **Revue de la littérature décrivant les preuves d'une implication de la glie du NTS dans le contrôle systémique de la balance énergétique.**

Ⓐ Tsai, V. W.-W., Macia, L., Johnen, H., Kuffner, T., Manadhar, R., Jørgensen, S. B., Lee-Ng, K. K. M., Zhang, H. P., Wu, L., Marquis, C. P., Jiang, L., Husaini, Y., Lin, S., Herzog, H., Brown, D. A., Sainsbury, A., & Breit, S. N. (2013). TGF-b superfamily cytokine MIC-1/GDF15 is a physiological appetite and body weight regulator. PloS One, 8(2), e55174. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055174

ⓂⒶ Tsai, V. W.-W., Zhang, H. P., Manandhar, R., Schofield, P., Christ, D., Lee-Ng, K. K. M., Lebhar, H., Marquis, C. P., Husaini, Y., Brown, D. A., & Breit, S. N. (2019). GDF15 mediates adiposity resistance through actions on GFRAL neurons in the hindbrain AP/NTS. International Journal of Obesity, 43(12), 2370-2380. https://doi.org/10.1038/s41366-019-0365-5 **Difficulté à cibler l'AP par des injections stéréotaxiques**

Ⓡ Turrigiano, G. (2011). Too many cooks? Intrinsic and synaptic homeostatic mechanisms in cortical circuit refinement. Annual Review of Neuroscience, 34, 89-103. https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-060909-153238

Ⓡ Tykhomyrov, A. A., Pavlova, A. S., & Nedzvetsky, V. S. (2016). Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) : On the 45th Anniversary of Its Discovery. Neurophysiology, 48(1), 54-71. https://doi.org/10.1007/s11062-016-9568-8

U

Ⓐ Uchoa, E. T., Zahm, D. S., de Carvalho Borges, B., Rorato, R., Antunes-Rodrigues, J., & Elias, L. L. K. (2013). Oxytocin projections to the nucleus of the solitary tract contribute to the increased meal-related satiety responses in primary adrenal insufficiency. Experimental Physiology, 98(10), 1495-1504. https://doi.org/10.1113/expphysiol.2013.073726

Ⓡ Ueno, H., Yamaguchi, H., Kangawa, K., & Nakazato, M. (2005). Ghrelin : A gastric peptide that regulates food intake and energy homeostasis. Regulatory Peptides, 126(1), 11-19. https://doi.org/10.1016/j.regpep.2004.08.007

Ⓡ Ueno, H., Yamaguchi, H., Mizuta, M., & Nakazato, M. (2008). The role of PYY in feeding regulation. Regulatory Peptides, 145(1), 12-16. https://doi.org/10.1016/j.regpep.2007.09.011

Ⓐ Ullian, E. M., Sapperstein, S. K., Christopherson, K. S., & Barres, B. A. (2001). Control of synapse number by glia. Science (New York, N.Y.), 291(5504), 657-661. https://doi.org/10.1126/science.291.5504.657

Ⓡ Undem, B. J., & Weinreich, D. (Éds.). (2013). Advances in Vagal Afferent Neurobiology. CRC Press. https://doi.org/10.1201/9780203492314

Ⓐ Unger, T., Bette, S., Zhang, J., Theis, M., & Engele, J. (2012). Connexin-deficiency affects expression levels of glial glutamate transporters within the cerebrum. Neuroscience Letters, 506(1), 12-16. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.10.032

V

Ⓡ Valassi, E., Scacchi, M., & Cavagnini, F. (2008). Neuroendocrine control of food intake. Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases: NMCD, 18(2), 158-168. https://doi.org/10.1016/j.numecd.2007.06.004

Ⓐ Valiunas, V., & Weingart, R. (2000). Electrical properties of gap junction hemichannels identified in transfected HeLa cells. Pflügers Archiv, 440(3), 366-379. https://doi.org/10.1007/s004240000294

Ⓡ Val-Laillet, D., Aarts, E., Weber, B., Ferrari, M., Quaresima, V., Stoeckel, L. E., Alonso-Alonso, M., Audette, M., Malbert, C. H., & Stice, E. (2015). Neuroimaging and neuromodulation approaches to study eating behavior and prevent and treat eating disorders and obesity. NeuroImage: Clinical, 8, 1-31. https://doi.org/10.1016/j.nicl.2015.03.016

® Van Campenhout, R., Cooreman, A., Leroy, K., Rusiecka, O. M., Van Brantegem, P., Annaert, P., Muyldermans, S., Devoogdt, N., Cogliati, B., Kwak, B. R., & Vinken, M. (2020). Non-canonical roles of connexins. Progress in Biophysics and Molecular Biology, 153, 35-41. https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2020.03.002

® van der Kooy, D., & Koda, L. Y. (1983). Organization of the projections of a circumventricular organ : The area postrema in the rat. Journal of Comparative Neurology, 219(3), 328-338. https://doi.org/10.1002/cne.902190307

Ⓐ van der Kooy, D., Koda, L. Y., McGinty, J. F., Gerfen, C. R., & Bloom, F. E. (1984). The organization of projections from the cortex, amygdala, and hypothalamus to the nucleus of the solitary tract in rat. The Journal of Comparative Neurology, 224(1), 1-24. https://doi.org/10.1002/cne.902240102

® van Galen, K. A., ter Horst, K. W., & Serlie, M. J. (2021). Serotonin, food intake, and obesity. Obesity Reviews, 22(7), e13210. https://doi.org/10.1111/obr.13210

Ⓐ Vargas-Caraveo, A., Pérez-Ishiwara, D. G., & Martínez-Martínez, A. (2015). Chronic Psychological Distress as an Inducer of Microglial Activation and Leukocyte Recruitment into the Area Postrema. Neuroimmunomodulation, 22(5), 311-321. https://doi.org/10.1159/000369350

Ⓐ Vaughn, A. C., Cooper, E. M., DiLorenzo, P. M., O'Loughlin, L. J., Konkel, M. E., Peters, J. H., Hajnal, A., Sen, T., Lee, S. H., de La Serre, C. B., & Czaja, K. (2017). Energy-dense diet triggers changes in gut microbiota, reorganization of gut-brain vagal communication and increases body fat accumulation. Acta neurobiologiae experimentalis, 77(1), 18-30. https://doi.org/10.21307/ane-2017-033 **Un HFD induit une microgliose progressive dans le CVD, et sa suppression par minocycline limite la prise de masse grasse, suggérant un rôle clé de la microglie dans les effets délétères du régime.**

Ⓐ Vázquez, C., Tolón, R. M., Pazos, M. R., Moreno, M., Koester, E. C., Cravatt, B. F., Hillard, C. J., & Romero, J. (2015). Endocannabinoids regulate the activity of astrocytic hemichannels and the microglial response against an injury : In vivo studies. Neurobiology of Disease, 79, 41-50. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.04.005

Ⓐ Veedfald, S., Plamboeck, A., Deacon, C. F., Hartmann, B., Knop, F. K., Vilsbøll, T., & Holst, J. J. (2016). Cephalic phase secretion of insulin and other enteropancreatic hormones in humans. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 310(1), G43-G51. https://doi.org/10.1152/ajpgi.00222.2015

® Veening, J. G., & Barendregt, H. P. (2010). The regulation of brain states by neuroactive substances distributed via the cerebrospinal fluid; a review. Cerebrospinal Fluid Research, 7(1), 1. https://doi.org/10.1186/1743-8454-7-1

Ⓐ Venance, L., Piomelli, D., Glowinski, J., & Glaume, C. (1995). Inhibition by anandamide of gap junctions and intercellular calcium signalling in striatal astrocytes. Nature, 376(6541), 590-594. https://doi.org/10.1038/376590a0

Ⓜ Ⓐ Vercalsteren, E., Vranckx, C., Frederix, L., Lox, M., Lijnen, H. R., Scroyen, I., & Hemmeryckx, B. (2019). Advanced-age C57BL/6JRj mice do not develop obesity upon western-type diet exposure. Adipocyte, 8(1), 105-113. https://doi.org/10.1080/21623945.2019.1590893

Ⓐ Verheggen, I. C. M., de Jong, J. J. A., van Boxtel, M. P. J., Postma, A. A., Verhey, F. R. J., Jansen, J. F. A., & Backes, W. H. (2020). Permeability of the windows of the brain : Feasibility of dynamic contrast-enhanced MRI of the circumventricular organs. Fluids and Barriers of the CNS, 17(1), 66. https://doi.org/10.1186/s12987-020-00228-x

® Verkhratsky, A., Ho, M. S., Vardjan, N., Zorec, R., & Parpura, V. (2019). General Pathophysiology of Astroglia. In A. Verkhratsky, M. S. Ho, R. Zorec, & V. Parpura (Éds.), Neuroglia in Neurodegenerative Diseases (p. 149-179). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9913-8_7

® Verkhratsky, A., & Steinhäuser, C. (2000). Ion channels in glial cells. Brain Research Reviews, 32(2), 380-412. https://doi.org/10.1016/S0165-0173(99)00093-4

Ⓐ Verma, V., Larsen, B. D., Coombs, W., Lin, X., Sarrou, E., Taffet, S. M., & Delmar, M. (2010). Design and characterization of the first peptidomimetic molecule that prevents acidification-induced closure of cardiac gap junctions. Heart Rhythm, 7(10), 1491-1498. https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2010.06.028

® Vermeir, I., Weijters, B., De Houwer, J., Geuens, M., Slabbinck, H., Spruyt, A., Van Kerckhove, A., Van Lippevelde, W., De Steur, H., & Verbeke, W. (2020). Environmentally Sustainable Food Consumption : A Review and Research Agenda From a Goal-Directed Perspective. Frontiers in Psychology, 11. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsyg.2020.01603

® Vicario, N., Zappalà, A., Calabrese, G., Gulino, R., Parenti, C., Gulisano, M., & Parenti, R. (2017). Connexins in the Central Nervous System : Physiological Traits and Neuroprotective Targets. Frontiers in Physiology, 8, 1060. https://doi.org/10.3389/fphys.2017.01060

Ⓐ Vinet, J., van Weering, H. R., Heinrich, A., Kälin, R. E., Wegner, A., Brouwer, N., Heppner, F. L., van Rooijen, N., Boddeke, H. W., & Biber, K. (2012). Neuroprotective function for ramified microglia in hippocampal excitotoxicity. Journal of Neuroinflammation, 9(1), 27. https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-27

® Virchow, R. (1856). Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medicin. Meidinger.

® Vucetic, Z., & Reyes, T. M. (2010). Central dopaminergic circuitry controlling food intake and reward : Implications for the regulation of obesity. WIREs Systems Biology and Medicine, 2(5), 577-593. https://doi.org/10.1002/wsbm.77

W Ⓐ Wallraff, A., Köhling, R., Heinemann, U., Theis, M., Willecke, K., & Steinhäuser, C. (2006). The impact of astrocytic gap junctional coupling on potassium buffering in the hippocampus. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 26(20), 5438-5447. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0037-06.2006 **Les jonctions communicantes astrocytaires facilitent le tamponnement spatial rapide du K^+, surtout lors de stimulations neuronales intenses, mais leur rôle varie selon l'organisation régionale des astrocytes.**

Ⓐ Walz, W., & Lang, M. K. (1998). Immunocytochemical evidence for a distinct GFAP-negative subpopulation of astrocytes in the adult rat hippocampus. Neuroscience Letters, 257(3), 127-130. https://doi.org/10.1016/s0304-3940(98)00813-1

Ⓐ Wan, S., & Browning, K. N. (2008). Glucose increases synaptic transmission from vagal afferent central nerve terminals via modulation of 5-HT3 receptors. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 295(5), G1050-G1057. https://doi.org/10.1152/ajpgi.90288.2008

Ⓐ Wang, D., He, X., Zhao, Z., Feng, Q., Lin, R., Sun, Y., Ding, T., Xu, F., Luo, M., & Zhan, C. (2015). Whole-brain mapping of the direct inputs and axonal projections of POMC and AgRP neurons. Frontiers in Neuroanatomy, 9, 40. https://doi.org/10.3389/fnana.2015.00040

Ⓐ Wang, J., Li, G., Wang, Z., Zhang, X., Yao, L., Wang, F., Liu, S., Yin, J., Ling, E.-A., Wang, L., & Hao, A. (2012). High glucose-induced expression of inflammatory cytokines and reactive oxygen species in cultured astrocytes. Neuroscience, 202, 58-68. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.11.062

Ⓐ Wang, L. A., Nguyen, D. H., & Mifflin, S. W. (2019). Corticotropin-releasing hormone projections from the paraventricular nucleus of the hypothalamus to the nucleus of the solitary tract increase blood pressure. Journal of Neurophysiology, 121(2), 602-608. https://doi.org/10.1152/jn.00623.2018

Ⓐ Wang, L., Ishihara, T., Ibayashi, Y., Tatsushima, K., Setoyama, D., Hanada, Y., Takeichi, Y., Sakamoto, S., Yokota, S., Mihara, K., Kang, D., Ishihara, N., Takayanagi, R., & Nomura, M. (2015). Disruption of mitochondrial fission in the liver protects mice from diet-induced obesity and metabolic deterioration. Diabetologia, 58(10), 2371-2380. https://doi.org/10.1007/s00125-015-3704-7

Ⓐ Wang, Q.-P., Guan, J.-L., Pan, W., Kastin, A. J., & Shioda, S. (2008). A Diffusion Barrier Between the Area Postrema and Nucleus Tractus Solitarius. Neurochemical Research, 33(10), 2035-2043. https://doi.org/10.1007/s11064-008-9676-y

Ⓐ Wang, S. C., & Borison, H. L. (1950). The vomiting center; a critical experimental analysis. Archives of Neurology and Psychiatry, 63(6), 928-941. https://doi.org/10.1001/archneurpsyc.1950.02310240087005

Ⓐ Wang, Y., Deng, T., Zhao, X., Shao, L., Chen, J., Fu, C., He, W., Wang, X., Wang, H., Yuan, F., & Wang, S. (2024). Control of breathing by orexinergic signaling in the nucleus tractus solitarii. Scientific Reports, 14(1), 7473. https://doi.org/10.1038/s41598-024-58075-x

Ⓐ Wank, S. A. (1995). Cholecystokinin receptors. The American Journal of Physiology, 269(5 Pt 1), G628-646. https://doi.org/10.1152/ajpgi.1995.269.5.G628

Ⓐ Wasseff, S. K., & Scherer, S. S. (2011). Cx32 and Cx47 mediate oligodendrocyte:astrocyte and oligodendrocyte:oligodendrocyte gap junction coupling. Neurobiology of Disease, 42(3), 506-513. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.03.003

® Waterson, M. J., & Horvath, T. L. (2015). Neuronal Regulation of Energy Homeostasis : Beyond the Hypothalamus and Feeding. Cell Metabolism, 22(6), 962-970. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.09.026

® Watts, A. G., Kanoski, S. E., Sanchez-Watts, G., & Langhans, W. (2022). The physiological control of eating : Signals, neurons, and networks. Physiological Reviews, 102(2), 689-813. https://doi.org/10.1152/physrev.00028.2020

Ⓐ Wean, J. B., & Smith, B. N. (2021). FGF19 in the Hindbrain Lowers Blood Glucose and Alters Excitability of Vagal Motor Neurons in Hyperglycemic Mice. Endocrinology, 162(4), bqab021. https://doi.org/10.1210/endocr/bqab021

® Weickert, M. O., & Pfeiffer, A. F. H. (2006). Signalling mechanisms linking hepatic glucose and lipid metabolism. Diabetologia, 49(8), 1732-1741. https://doi.org/10.1007/s00125-006-0295-3

Ⓐ Welzel, G., & Schuster, S. (2022). Connexins evolved after early chordates lost innexin diversity. eLife, 11, e74422. https://doi.org/10.7554/eLife.74422

Ⓜ Ⓐ West, D. B., Boozer, C. N., Moody, D. L., & Atkinson, R. L. (1992). Dietary obesity in nine inbred mouse strains. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 262(6), R1025-R1032. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1992.262.6.R1025

Ⓡ Westbury, S., Oyebode, O., van Rens, T., & Barber, T. M. (2023). Obesity Stigma : Causes, Consequences, and Potential Solutions. Current Obesity Reports, 12(1), 10-23. https://doi.org/10.1007/s13679-023-00495-3

Ⓐ Whitehead, M. C. (1988). Neuronal architecture of the nucleus of the solitary tract in the hamster. Journal of Comparative Neurology, 276(4), 547-572. https://doi.org/10.1002/cne.902760409

Ⓡ Williams, J. A. (2014). Pancreatic Polypeptide. Pancreapedia: The Exocrine Pancreas Knowledge Base. https://doi.org/10.3998/panc.2014.4

Ⓐ Willis, C. L., Garwood, C. J., & Ray, D. E. (2007). A size selective vascular barrier in the rat area postrema formed by perivascular macrophages and the extracellular matrix. Neuroscience, 150(2), 498-509. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.09.023 **La perméabilité des capillaires fenestrés de l'AP est limitée par un filtre supplémentaire au niveau du funiculus separens, restreignant la diffusion des grosses molécules vers le parenchyme.**

Ⓡ Wirtshafter, D., & Davis, J. D. (1977). Set points, settling points, and the control of body weight. Physiology & Behavior, 19(1), 75-78. https://doi.org/10.1016/0031-9384(77)90162-7

Ⓐ Wislocki, G. B., & Putnam, T. J. (1924). Further observations on the anatomy and physiology of the areae postremae. The Anatomical Record, 27(3), 151-156. https://doi.org/10.1002/ar.1090270302

Ⓐ Wolff, J. R., Stuke, K., Missler, M., Tytko, H., Schwarz, P., Rohlmann, A., & Chao, T. I. (1998). Autocellular coupling by gap junctions in cultured astrocytes : A new view on cellular autoregulation during process formation. Glia, 24(1), 121-140. https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1136(199809)24:1<121::AID-GLIA12>3.0.CO;2-T

Ⓡ Woods, S. C., Schwartz, M. W., Baskin, D. G., & Seeley, R. J. (2000). Food Intake and the Regulation of Body Weight. Annual Review of Psychology, 51(Volume 51, 2000), 255-277. https://doi.org/10.1146/annurev.psych.51.1.255

Ⓡ Woods, S. C., Seeley, R. J., Porte, D., & Schwartz, M. W. (1998). Signals that regulate food intake and energy homeostasis. Science (New York, N.Y.), 280(5368), 1378-1383. https://doi.org/10.1126/science.280.5368.1378

Ⓐ Wu, Q., Boyle, M. P., & Palmiter, R. D. (2009). Loss of GABAergic Signaling by AgRP Neurons to the Parabrachial Nucleus Leads to Starvation. Cell, 137(7), 1225-1234. https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.04.022

X

Ⓡ Xie, H., Cui, Y., Deng, F., & Feng, J. (2015). Connexin : A potential novel target for protecting the central nervous system? Neural Regeneration Research, 10(4), 659. https://doi.org/10.4103/1673-5374.155444

Ⓐ Xu, J., Bartolome, C. L., Low, C. S., Yi, X., Chien, C.-H., Wang, P., & Kong, D. (2018). Genetic identification of leptin neural circuits in energy and glucose homeostases. Nature, 556(7702), 505-509. https://doi.org/10.1038/s41586-018-0049-7

Y

Ⓐ Yamamoto, H., Kishi, T., Lee, C. E., Choi, B. J., Fang, H., Hollenberg, A. N., Drucker, D. J., & Elmquist, J. K. (2003). Glucagon-Like Peptide-1-Responsive Catecholamine Neurons in the Area Postrema Link Peripheral Glucagon-Like Peptide-1 with Central Autonomic Control Sites. Journal of Neuroscience, 23(7), 2939-2946. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-07-02939.2003

Ⓐ Yamamoto, K., & Mifflin, S. (2018). Inhibition of glial glutamate transporter GLT1 in the nucleus of the solitary tract attenuates baroreflex control of sympathetic nerve activity and heart rate. Physiological Reports, 6(18), e13877. https://doi.org/10.14814/phy2.13877

Ⓐ Yamamoto, T., Ochalski, A., Hertzberg, E. L., & Nagy, J. I. (1990a). LM and EM immunolocalization of the gap junctional protein connexin 43 in rat brain. Brain Research, 508(2), 313-319. https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)90415-8

Ⓐ Yamamoto, T., Ochalski, A., Hertzberg, E. L., & Nagy, J. I. (1990b). On the organization of astrocytic gap junctions in rat brain as suggested by LM and EM immunohistochemistry of connexin43 expression. Journal of Comparative Neurology, 302(4), 853-883. https://doi.org/10.1002/cne.903020414

Ⓡ S., & Brobeck, J. R. (1965). Physiological Controls and Regulations. Saunders.

Ⓡ Yang, D., Chen, M., Yang, S., Deng, F., & Guo, X. (2023). Connexin hemichannels and pannexin channels in toxicity : Recent advances and mechanistic insights. Toxicology, 488, 153488. https://doi.org/10.1016/j.tox.2023.153488

Ⓡ y Cajal, S. R. (1897). Algo sobre la significación fisiológica...

Ⓐ Ye, Z.-C., Wyeth, M. S., Baltan-Tekkok, S., & Ransom, B. R. (2003). Functional hemichannels in astrocytes : A novel mechanism of glutamate release. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 23(9), 3588-3596. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-09-03588.2003

Ⓡ Yeo, G. S. H., & Heisler, L. K. (2012). Unraveling the brain regulation of appetite : Lessons from genetics. Nature Neuroscience, 15(10), 1343-1349. https://doi.org/10.1038/nn.3211

Ⓐ Yettefti, K., Orsini, J. C., el Ouazzani, T., Himmi, T., Boyer, A., & Perrin, J. (1995). Sensitivity of nucleus tractus solitarius neurons to induced moderate hyperglycemia, with special reference to catecholaminergic regions. Journal of the Autonomic Nervous System, 51(3), 191-197. https://doi.org/10.1016/0165-1838(94)00130-c

Ⓡ Yi, C.-X., Habegger, K. M., Chowen, J. A., Stern, J., & Tschöp, M. H. (2011). A role for astrocytes in the central control of metabolism. Neuroendocrinology, 93(3), 143-149. https://doi.org/10.1159/000324888

Ⓡ Yoon, B.-E., & Lee, C. J. (2014). GABA as a rising gliotransmitter. Frontiers in Neural Circuits, 8, 141. https://doi.org/10.3389/fncir.2014.00141

Ⓡ Yoon, N. A., & Diano, S. (2021). Hypothalamic glucose-sensing mechanisms. Diabetologia, 64(5), 985-993. https://doi.org/10.1007/s00125-021-05395-6

Ⓐ Young, J. K., Baker, J. H., & Montes, M. I. (2000). The brain response to 2-deoxy glucose is blocked by a glial drug. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 67(2), 233-239. https://doi.org/10.1016/S0091-3057(00)00315-4 **L'inhibition du métabolisme astrocytaire atténue la réponse neuronale du NTS à la glucoprivation, suggérant un rôle clé des astrocytes dans la détection du déficit énergétique.**

Ⓐ **Young, K., & Morrison, H. (2018). Quantifying Microglia Morphology from Photomicrographs of Immunohistochemistry Prepared** Tissue Using ImageJ. Journal of Visualized Experiments: JoVE, 136, 57648. https://doi.org/10.3791/57648

Ⓐ Yu, H., Shi, L., Chen, J., Jun, S., Hao, Y., Wang, S., Fu, C., Zhang, X., Lu, H., Wang, S., & Yuan, F. (2021). A Neural Circuit Mechanism Controlling Breathing by Leptin in the Nucleus Tractus Solitarii. Neuroscience Bulletin, 38(2), 149-165. https://doi.org/10.1007/s12264-021-00742-4

Ⓡ Yu, J. H., & Kim, M.-S. (2012). Molecular mechanisms of appetite regulation. Diabetes & Metabolism Journal, 36(6), 391-398. https://doi.org/10.4093/dmj.2012.36.6.391

Ⓡ Yuan, H., & Silberstein, S. D. (2016). Vagus Nerve and Vagus Nerve Stimulation, a Comprehensive Review : Part I. Headache, 56(1), 71-78. https://doi.org/10.1111/head.12647

Ⓐ Yue, J. T. Y., Abraham, M. A., LaPierre, M. P., Mighiu, P. I., Light, P. E., Filippi, B. M., & Lam, T. K. T. (2015). A fatty acid-dependent hypothalamic-DVC neurocircuitry that regulates hepatic secretion of triglyceride-rich lipoproteins. Nature Communications, 6, 5970. https://doi.org/10.1038/ncomms6970

Z

Ⓡ Zafra, M. A., Molina, F., & Puerto, A. (2006). The neural/cephalic phase reflexes in the physiology of nutrition. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 30(7), 1032-1044. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2006.03.005

Ⓡ Zappaterra, M. W., & Lehtinen, M. K. (2012). The cerebrospinal fluid : Regulator of neurogenesis, behavior, and beyond. Cellular and Molecular Life Sciences, 69(17), 2863-2878. https://doi.org/10.1007/s00018-012-0957-x

Ⓡ Zeisel, A., Hochgerner, H., Lönnerberg, P., Johnsson, A., Memic, F., van der Zwan, J., Häring, M., Braun, E., Borm, L. E., La Manno, G., Codeluppi, S., Furlan, A., Lee, K., Skene, N., Harris, K. D., Hjerling-Leffler, J., Arenas, E., Ernfors, P., Marklund, U., & Linnarsson, S. (2018). Molecular Architecture of the Mouse Nervous System. Cell, 174(4), 999-1014.e22. https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.06.021

Ⓐ Zhan, C., Zhou, J., Feng, Q., Zhang, J., Lin, S., Bao, J., Wu, P., & Luo, M. (2013). Acute and Long-Term Suppression of Feeding Behavior by POMC Neurons in the Brainstem and Hypothalamus, Respectively. The Journal of Neuroscience, 33(8), 3624-3632. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2742-12.2013

Ⓡ Zhang, C. (2010). Gap junctions in olfactory neurons modulate olfactory sensitivity. BMC Neuroscience, 11, 108. https://doi.org/10.1186/1471-2202-11-108

Ⓐ Zhang, C., Kaye, J. A., Cai, Z., Wang, Y., Prescott, S. L., & Liberles, S. D. (2021). Area Postrema Cell Types that Mediate Nausea-Associated Behaviors. Neuron, 109(3), 461-472.e5. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.11.010 **Etude majeure de snRNA seq, permettant de distinguer des populations gliales et neuronales au sein de l'AP.**

Ⓐ Zhang, S.-Y., Danaei, Z., Bruce, K., Chiu, J. F. M., & Lam, T. K. T. (2023). Acute Activation of GFRAL in the Area Postrema Contributes to Glucose Regulation Independent of Weight. Diabetes, 73(3), 426-433. https://doi.org/10.2337/db23-0705

Ⓐ Zhang, W., Zhang, C., Fritze, D., Chai, B., Li, J., & Mulholland, M. W. (2013). Modulation of food intake by mTOR signalling in the dorsal motor nucleus of the vagus in male rats : Focus on ghrelin and nesfatin-1. Experimental Physiology, 98(12), 1696-1704. https://doi.org/10.1113/expphysiol.2013.074930

Ⓐ Zhang, X., Abdel-Rahman, A.-R. A., & Wooles, W. R. (1992). Vasopressin receptors in the area postrema differentially modulate baroreceptor responses in rats. European Journal of Pharmacology, 222(1), 81-91. https://doi.org/10.1016/0014-2999(92)90466-H

Ⓡ Zhang, Y., & Barres, B. A. (2010). Astrocyte heterogeneity : An underappreciated topic in neurobiology. Current Opinion in Neurobiology, 20(5), 588-594. https://doi.org/10.1016/j.conb.2010.06.005

Ⓐ Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., & Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature, 372(6505), 425-432. https://doi.org/10.1038/372425a0

Ⓐ Zhang, Z., Ma, Z., Zou, W., Guo, H., Liu, M., Ma, Y., & Zhang, L. (2019). The Appropriate Marker for Astrocytes : Comparing the Distribution and Expression of Three Astrocytic Markers in Different Mouse Cerebral Regions. BioMed Research International, 2019(1), 9605265. https://doi.org/10.1155/2019/9605265

Ⓐ Zhao, Z., Chen, Y., Xuan, Y., Zhou, G., & Qiu, W. (2023). Parabrachial nucleus neuron circuits that control feeding behavior and energy balance. Obesity Medicine, 42, 100509. https://doi.org/10.1016/j.obmed.2023.100509

Ⓐ Zheng, H., Patterson, L. M., & Berthoud, H.-R. (2005). Orexin-A projections to the caudal medulla and orexin-induced c-Fos expression, food intake, and autonomic function. The Journal of Comparative Neurology, 485(2), 127-142. https://doi.org/10.1002/cne.20515

Ⓐ Zheng, H., Patterson, L. M., Phifer, C. B., & Berthoud, H.-R. (2005). Brain stem melanocortinergic modulation of meal size and identification of hypothalamic POMC projections. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 289(1), R247-R258. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00869.2004

Ⓐ Zheng, H., Patterson, L. M., Rhodes, C. J., Louis, G. W., Skibicka, K. P., Grill, H. J., Myers, M. G., & Berthoud, H.-R. (2010). A potential role for hypothalamomedullary POMC projections in leptin-induced suppression of food intake. American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 298(3), R720-728. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00619.2009

Ⓐ Zheng, Z. L., Rogers, R. C., & Travagli, R. A. (1999). Selective gastric projections of nitric oxide synthase-containing vagal brainstem neurons. Neuroscience, 90(2), 685-694. https://doi.org/10.1016/s0306-4522(98)00586-7

Ⓡ Zhong, W., Shahbaz, O., Teskey, G., Beever, A., Kachour, N., Venketaraman, V., & Darmani, N. A. (2021). Mechanisms of Nausea and Vomiting : Current Knowledge and Recent Advances in Intracellular Emetic Signaling Systems. International Journal of Molecular Sciences, 22(11), Article 11. https://doi.org/10.3390/ijms22115797

Ⓡ Zhu, Y. (2022). Gap Junction-Dependent and -Independent Functions of Connexin43 in Biology. Biology, 11(2), 283. https://doi.org/10.3390/biology11020283

Ⓐ Zigman, J. M., Jones, J. E., Lee, C. E., Saper, C. B., & Elmquist, J. K. (2006). Expression of ghrelin receptor mRNA in the rat and the mouse brain. Journal of Comparative Neurology, 494(3), 528-548. https://doi.org/10.1002/cne.20823

Ⓡ Zoccal, D. B., Furuya, W. I., Bassi, M., Colombari, D. S. A., & Colombari, E. (2014). The nucleus of the solitary tract and the coordination of respiratory and sympathetic activities. Frontiers in Physiology, 5. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2014.00238

Ⓐ Zséli, G., Vida, B., Martinez, A., Lechan, R. M., Khan, A. M., & Fekete, C. (2016). Elucidation of the anatomy of a satiety network : Focus on connectivity of the parabrachial nucleus in the adult rat. The Journal of Comparative Neurology, 524(14), 2803-2827. https://doi.org/10.1002/cne.23992

Ⓐ Zsombok, A., Bhaskaran, M. D., Gao, H., Derbenev, A. V., & Smith, B. N. (2011). Functional Plasticity of Central TRPV1 Receptors in Brainstem Dorsal Vagal Complex Circuits of Streptozotocin-Treated Hyperglycemic Mice. Journal of Neuroscience, 31(39), 14024-14031. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2081-11.2011

Ⓐ Züger, D., Forster, K., Lutz, T. A., & Riediger, T. (2013). Amylin and GLP-1 target different populations of area postrema neurons that are both modulated by nutrient stimuli. Physiology & Behavior, 112-113, 61-69. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.02.006

V. Projets annexes et publications

V.1 - Collaboration : Projet Cellules de Lieu et obésité maternelle

V.1.1 - Contexte

La collaboration entre l'équipe SPACE (Pierre-Yves Jacob, Franck Chaillan) et BODI (Stéphanie Rami, Jean-Denis Troadec) a débuté à partir de l'été 2019. Le projet vise à étudier les effets de l'obésité maternelle sur la navigation et la mémoire spatiale dépendante de l'hippocampe. Au début de ma thèse, en octobre 2019, j'ai participé aux enregistrements électrophysiologiques extracellulaires *in vivo* des neurones de la région CA1 de l'hippocampe de souris adultes issues de mères nourries avec un régime riche en graisse (HFD, 60% de lipides) pendant la gestation et la lactation.

V.1.2 - Résultats

Nous nous sommes en particulier intéressés aux cellules de lieu de cette région et nous avons pu observer une modification de la forme du potentiel d'action chez les animaux issus de mères obèses. Cette modification était associée à une altération des propriétés spatiales de ces neurones (**Figure 57**). Nos équipes ont ensuite obtenu un financement par le comité de la Fédération 3C – AMU lors de l'appel d'offres « actions incitatives 2021 ». Les études électrophysiologiques ont été complétées de tests comportementaux qui ont permis de tester les processus d'apprentissage et de mémorisation de la progéniture et d'analyses de substrats moléculaires potentiellement impliqués (analyses génétiques et épigénétiques).

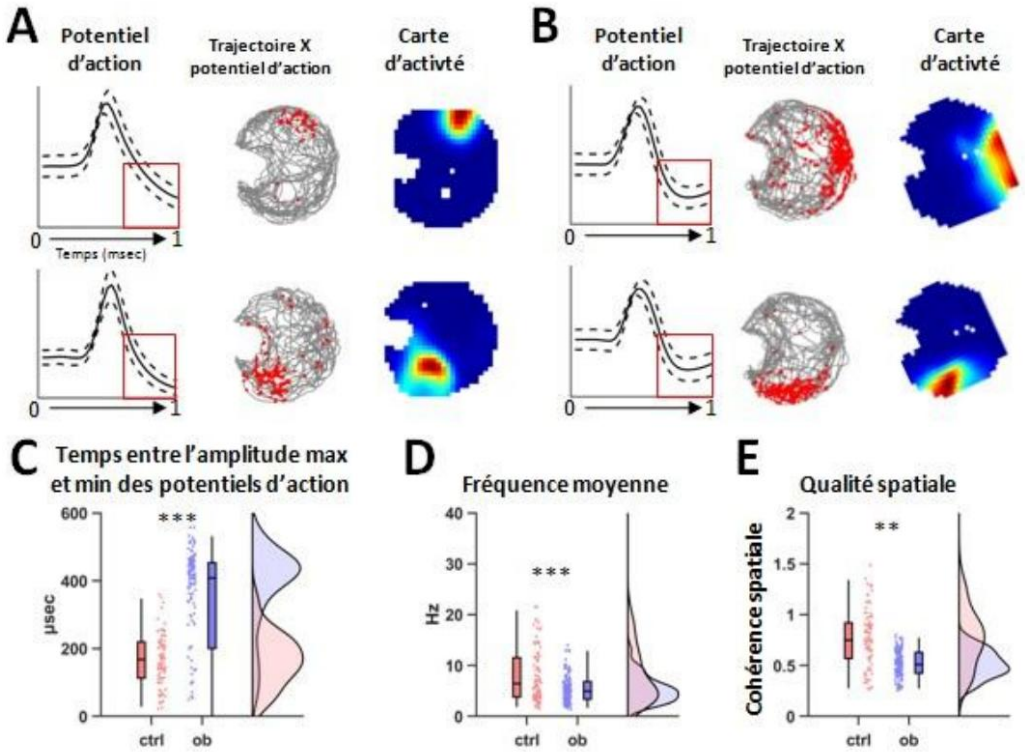


FIGURE 57 : (ISSUE DU PROJET « ACTIONS INCITATIVES 2021 » - PIERRE-YVES JACOB) : ACTIVITE DES CELLULES DE LIEU CHEZ LES SOURIS DE MERE OBESES ET NON OBESES.

A. Activité de deux cellules de lieu chez des souris de mères obèses. Gauche : forme moyenne du potentiel d'action sur 1 milliseconde. La phase d'hyperpolarisation n'a pas amorcé sa remontée au potentiel de membrane avant 1 milliseconde. Milieu : trajectoire de l'animal (ligne grise) sur laquelle sont superposé les potentiels d'action de la cellule (points rouges). Droite : activité de la cellule selon un code couleur allant du bleu (pas d'activité) au rouge (activité maximale).
B. Activité de deux cellules de lieu chez des souris de mères non-obèses. La phase d'hyperpolarisation amorce la remontée au potentiel de membrane avant 1 milliseconde. La densité de potentiel d'action (trajectoire X potentiel d'action) est visuellement plus importante que pour les cellules de lieu de souris de mères obèses (panel A).
C. Temps entre l'amplitude maximale et minimal des potentiels d'action pour les souris de mères obèses (ob – violet) et de mères non-obèses (ctrl – rouge).
D. Fréquence moyenne du champ d'activité des cellules de lieu entre les deux groupes de souris.
E. Cohérence spatiale (transformation Z score) de l'activité des cellules de lieu entre les deux groupes de souris. Une cellule de lieu ayant une bonne cohérence spatiale possède un champ dont l'activité est maximale au centre et décroit de manière homogène en s'écartant du centre. Statistiques ; t-test ; **, $p<0,005$.

V.2 - Barbot M, Guillebaud F et al. (2020)_Article

Barbot M, Guillebaud F, Barbouche R, Brézun JM, Poirot K, Vasile F, Lebrun B, Rouach N, Dallaporta M, Gaige S, Troadec JD. Blockade of Glial Connexin 43 Hemichannels Reduces Food Intake. Cells. 2020 Oct 31;9(11):2387. doi: 10.3390/cells9112387. PMID: 33142723; PMCID: PMC7693394.

cells

MDPI

Article

Blockade of Glial Connexin 43 Hemichannels Reduces Food Intake

Florent Guillebaud [1,†], Manon Barbot [1,†], Rym Barbouche [1], Jean-Michel Brézun [2], Kevin Poirot [1], Flora Vasile [3], Bruno Lebrun [1], Nathalie Rouach [3], Michel Dallaporta [1], Stéphanie Gaige [1,*] and Jean-Denis Troadec [1,*]

1 Cognitive Neuroscience Laboratory, Aix-Marseille University, UMR 7291 CNRS, 13003 Marseille, France; florent.guillebaud@gmail.com (F.G.); manon.BARBOT@amu-amu.fr (M.B.); rym.barbouche@univ-amu.fr (R.B.); kevin.poirot@univ-amu.fr (K.P.); bruno.lebrun@univ-amu.fr (B.L.); michel.dallaporta@univ-amu.fr (M.D.)

2 Institute of Movement Sciences, Aix-Marseille University, UMR 7287 CNRS, 13009 Marseille, France; jean-michel.brezun@univ-amu.fr

3 Neuroglial Interactions in Cerebral Physiopathology, Collège de France, CIRB CNRS 7241, Inserm U1050, Labex Memolife, PSL Research University, 75231 Paris, France; flora.vassile@college-de-france.fr (F.V.); nathalie.rouach@college-de-france.fr (N.R.)

* Correspondence: stephanie.rami@univ-amu.fr (S.G.); j-d.troadec@univ-amu.fr (J.-D.T.); Tel.: +33-413-550-892

† These authors equally contributed to the work.

Received: 1 October 2020; Accepted: 26 October 2020; Published: 31 October 2020

check for updates

V.2.1 - Abstract

The metabolic syndrome, which comprises obesity and diabetes, is a major public health problem and the awareness of energy homeostasis control remains an important worldwide issue. The energy balance is finely regulated by the central nervous system (CNS), notably through neuronal networks, located in the hypothalamus and the dorsal vagal complex (DVC), which integrate nutritional, humoral and nervous information from the periphery. The glial cells' contribution to these processes emerged few year ago. However, its underlying mechanism remains unclear. Glial connexin 43 hemichannels (Cx43HC) enable direct exchange with the extracellular space and can regulate neuronal network activity. In the present study, we sought to determine the possible involvement of glial Cx43HC in energy balance regulation. We here show that Cx43 is strongly expressed in the hypothalamus and DVC and is associated with glial cells. Remarkably, we observed a close apposition of Cx43 with synaptic elements in both the hypothalamus and DVC. Moreover, the expression of hypothalamic Cx43 mRNA and protein is modulated in response to fasting and diet-induced obesity. Functionally, we found that Cx43HC are largely open in the arcuate nucleus (ARC) from acute mice hypothalamic slices under basal condition, and significantly inhibited by TAT-Gap19, a mimetic peptide that specifically blocks Cx43HC activity. Moreover, intracerebroventricular (i.c.v.) TAT-Gap19 injection strongly decreased food intake, without further alteration of glycaemia, energy expenditures or locomotor activity. Using the immediate early gene c-Fos expression, we found that i.c.v. TAT-Gap19 injection induced neuronal activation in hypothalamic and brainstem nuclei dedicated to food intake regulation. Altogether, these results suggest a tonic delivery of orexigenic molecules associated with glial Cx43HC activity and a possible modulation of this tonus during fasting and obesity.

Keywords: hypothalamus; brainstem; astrocytes; tanycytes; mimetic peptide

V.2.2 - Introduction

The metabolic syndrome, which comprises obesity and diabetes, is a major public health problem and the comprehension of energy homeostasis control remains an important worldwide issue. The energy balance is finely regulated by the central nervous system (CNS), notably through neuronal networks, located in the hypothalamus and the DVC including the nucleus tractus solitarius (NTS), which integrate nutritional, humoral and nervous information from the periphery and in turn adjust energy expenditure and food intake. Decoding the precise mechanisms regulating energy balance remains a challenge necessary to efficiently treat metabolic disorders. Evidence showing contribution of glial cells in these processes are now mounting. Indeed, recent studies showed that glial cells in both the hypothalamus [1–3] and brainstem [4–6] interact with neurons and in turn finely tune energy homeostasis. However, the mechanisms of neuron-glia interactions in the context of food intake control remain to be deciphered. A typical feature of glial cells is their high expression level of Cx43, a protein able to form not only gap junction (GJ) channels, but also connexin 43 hemichannels (Cx43HC), in allowing the release of neuroactive substances.

Cxs proteins are highly conserved between species and are named according to their molecular weight, from 26 to 60 kDa. There are around 20 different genes (20 in mice and 21 in humans) coding for as many proteins [7]. The Cxs are the connexon base subunits, a hexamer forming a hydrophilic channel 2 nm in diameter. When two connexons of different cells join together, they form an intercellular channel and several thousands of such channels form a GJ [8]. In the central nervous system (CNS), glia and particularly astrocytes primarily and strongly express Cx43, Cx30 and to a lesser extent Cx26 [9]. These Cxs GJ contribute to a cytoplasmic continuity, providing the structural basis for an extensive astroglial network [10]. Alternatively, connexons not engaged in GJ form hemichannels (HC), which are permeable to small molecules (less than 1.5 kDa) such as Ca^{2+}, glucose, adenosine tri-phosphate (ATP), D-serine and glutamate [11]. The opening of these HC is regulated by different factors such as Ca^{2+}, pH, hormones [9]. The

study of the functional role of these HC is now possible thanks to the development of peptides specifically blocking their activity, such as TAT-Gap19, a mimetic peptide preventing interaction between the C-terminal part of Cx43 with the L2 loop [12]. HC contribute to the release of various neuroactive molecules and can thus modulate of neuronal networks and associated behaviors [13–16].

The aim of the present study was to determine the possible contribution of glial HC in rodent's energy balance. For this, we have characterized Cx43 expression and its variations during nutritional status changes in mouse hypothalamus and brainstem. Next, we investigated the structural relationship between Cx43 and synaptic elements in these brain regions and studied the impact of Cx43HC on energy balance and activation of food-intake-dedicated neuronal networks using pharmacological inhibition.

V.2.3 - Materials and Methods

Animals

Adult male C57BL/6J mice were purchased from Charles River Laboratories (L'Abresle, France). For TAT-Gap19 or mutated TAT-Gap19 -I14A injections, C57BL/6J adult male mice (8 to 10 weeks old) were housed in standard cages, maintained in a controlled environment (12/12 h light-dark cycle, 22 ◦ C and 40–50% humidity) with free access to water and food (AO4 pellets, SAFE, Augy, France). Some mice received a high fat diet (HFD, 60% fat; SSNIFF GmbH, Germany). Body weight and food intake were measured every week. In the HFD group, only mice which gained more than 30% of weight mass after 15 weeks compared to mice fed with the standard food (NC) were considered as obese and conserved for the tissue analyzes. Both obese and lean mice were sacrificed after 15 weeks of diet and tissues samples were collected for further analysis. All experiments were conformed to EC Council Directive (2010/63/UE) and the French "Direction Départementale de la Protection des Populations des Bouches-du-Rhône" (animal housing facility accreditation: N◦ D13 0556; animal experimentation accreditation: APAFIS#2207-2015100819154639 v4).

Peptides

TAT-Gap19 and TAT-Gap19 -I14A were synthesized by Genopshere Biotechnologies using the following amino acid sequences: YGRKKRRQRRRKQIEIKKFK. The mutated and noneffective peptide was strictly identical except for Alanine at 14th position instead of Isoleucine (mutation I130A in Cx43 protein). TAT peptide was added to GAP19 to allow for its cells penetration. To detect these peptides using histology, we used the same sequences coupled with N-terminal biotin.

Surgery and Intracerebroventricular Injection

Cannula implantation was performed as previously described by Gaigé and colleagues [17]. One week post-surgery, mice were i.c.v. injected with 6 µL (2.5 µL/min) of physiological saline (NaCl 0.9 %), TAT-Gap19 (12.5, 25 or 50 µg; 6 µL), or TAT-Gap19 -I14A (25 µg) solutions at the beginning of the dark phase.

For acute injection of biotinylated TAT-Gap19 and TAT-Gap19 -I14A, mice were anaesthetized by intraperitoneal (i.p.) injection of ketamine (100 mg/kg) and xylazine (16 mg/kg). Under stereotaxic control, mice were then i.c.v. injected with 6 µL (2.5 µL/min) of physiological saline (NaCl 0.9 %), TAT-Gap19 (25 µg) or TAT-Gap19 -I14A (25 µg) solutions. At different times after biotinylated mimetic peptides injection, anaesthetized animals were perfused intracardially with ice-cold 0.1M phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4) and then with ice-cold, freshly prepared 4% paraformaldehyde (PFA) in 0.1M PB. The brains were immediately removed, post-fixed for 1h in 4% PFA at room temperature, rinsed overnight in PBS and then cryoprotected for 24–48 h in 30% sucrose at 4 ◦ C. The brains were frozen in isopentane (−40 °C), and coronal sections (40 µm thick)

of the brain were made with a cryostat (Leica CM3050, Leica Biosystems, Wetzlar, Germany) and collected serially in 0.1 M PBS. Immunochemistry of biotin was then performed as described below.

Food Intake Measurements

For food consumptions, *ad libitum* fed mice received i.c.v. injections of NaCl (0.9 %), TAT-Gap19 (12.5 or 25 µg) or TAT-Gap19 -I14A (25 µg) 30 min prior to lights-off. Immediately after treatment, a fresh supply of pre-weighed powdered food was given. Continuous food intake measurements and meal pattern analyses following i.c.v. injections were performed using a previously described feeding station [17]. Food intake was calculated as the difference between the pre-weighed and the remaining powder measured with a precision balance (0.01 g; Denver Instrument from Bioblock, San Diego, CA, USA). To analyze the meal pattern, we modified polypropylene cages (Cage S; Charles River Laboratories, Wilmington, MA, USA) with a feeding station allowing access to a food jar placed below the cage, and filled with powdered food (AO4). The feeding station was designed to avoid feces and urine dropping into the food jar and also to avoid food spillage. Analysis first proceeded through a MATLAB-developed software, filtering out high frequency oscillations in food jar weights and collecting the start time, end time and weight amplitude of the stepwise reductions in food jar weights. Analyzed data were exported to Excel for further analysis. Meals were defined by stepwise reductions in food jar weight of at least 0.02 g in amplitude (i.e., twice the balance precision) and 30 s in duration.

Indirect Calorimetry and Locomotor Activity

Indirect calorimetry recording was performed with an indirect open-circuit calorimeter Oxylet Physiocage system (Panlab, Cornella, Spain), equipped with a laser absorption O2 sensor, an infrared technology CO2 sensor, and weight transducers for the continuous assessment of the food and water consumption. Room air flowed through each chamber at a rate of 450 mL/min. The O2 and CO2 levels were measured during 3 min sampling periods every 30 min and data were analyzed with the METABOLISM software. Oxygen consumption (VO2), and carbon dioxide production (VCO2) were expressed in mL/min/kg0.75. The respiratory quotient (RQ) was determined by the ratio VCO2/VO2 and energy expenditure (EE) was calculated according to the formula EE (kcal/day/kg0.75) = VO2_ 1.44 _ [3.815 + (1.232 _ RQ)]. Mice were habituated to the metabolic chambers for 24 h. The O2/CO2 analyzer was calibrated with purified gas standards and the food hoppers replenished every day at the beginning of the light phase. TAT-Gap19 (50 µg) or vehicle was administered just before the dark phase, on day 2 of a 2-day recording session. The mean values for VO2, VCO2, respiratory quotient (RQ) and energy expenditure (EE) were compared for each group between the dark phase before and after treatment. To measure locomotor activity, cages were kept on weight transducers allowing the detection of animal movements (1 cumulative measurement per 30 min period, Arbitrary Unit, AU).

Oral Glucose Tolerance Test and Glycaemia Measurements

Glycaemia measurements were acquired by collecting blood samples from THE tail vein. A section of tail vein was pierced by a needle, and blood was directly applied to a strip for glucose detection using a glucose meter (Accu-Chek Performa nano, Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN, USA). Glycaemia was determined before the TAT-Gap19 injection and then at 10, 20, 30, 60, 90, 120, 180 min after its injection. For oral glucose tolerance test, i.c.v. TAT-Gap19 treatment or vehicle was performed 30 min before animals received a bolus of glucose per os (1.5 g/kg). Glycaemia was then determined before glucose administration and 5, 10, 20, 30, 60, 90, 120 and 180 min after its administration.

Tissue Collection

Mice were anaesthetized using i.p. injection of ketamine (100 mg/kg) and xylazine (16 mg/kg) and sacrificed by decapitation. The prefrontal cortex, hypothalamus and DVC were collected,

rinsed in saline solution (NaCl 0.9%), snap-frozen in liquid nitrogen and stored at -80 ◦C until further analysis.

Real-Time PCR Analysis

Animals used for reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis were sacrificed at the end of the treatment period. mRNA extraction and RT were made as described previously [17]. Briefly, total RNAs were extracted from frozen organs using TRI Reagent® (Sigma-Aldrich, St. Louis, MA, USA) according to the manufacturer's instructions. RT was realized using Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase in the presence of random hexamer primers (Promega, Madison, WI, USA). Gene expression analysis by real time PCR was performed using the LightCycler® 480 System (Roche Applied Science, Penzberg, Germany). The equivalent of 40 ng initial RNAs were subjected to PCR amplification in a 10 µL final volume using specific primers 0.25 µM (Table 1) and KAPA SYBR® FAST Master Mix (2X) optimized for Roche LightCycler® 480 (CliniSciences, KAPABiosystems, Wilmington, MA, USA). The generation of specific PCR products was confirmed by melting-curve analysis. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene (GAPDH) was used as internal reference gene.

Table 1. Primers sequences used for SYBR Green

Table 1. Primers sequences used for SYBR Green assays.

Genes		Primer Sequences	Tm	T° qPCR	Amplicons	Genes Number
GFAP	F	AGAGGAGTGGTATCGGTCTAAGTTT	56.9 °C	60 °C	167 pb	NM_001131020.1
	R	GCCGCTCTAGGGACTCGTTC	59.8 °C			NM_010277.3
Cx43 (mGja1)	F	AGAGCCCGAACTCTCCTTT	55.7 °C	60 °C	247 pb	NM_010288.3
	R	GTTCATCACCCCAAGCTGAC	56.1 °C			
Cx30 (mGjb6)	F	CTGTCCCCGATTCCATTCCC	57.9 °C	60 °C	292 pb	NM_001010937.2
	R	CATCGTGCAGGCTTATTCTGAG	55.8 °C			
Cx26 (mGjb2)	F	GCGACCCATTTCGGACCAA	58.2 °C	60 °C	159 pb	NM_008125.3
	R	GAGTGTGCCCCAATCCATCT	57.3 °C			
mranx1	F	CAGGCTGCCTTTGTGGATTC	56.7 °C	60 °C	145 pb	NM_019482.2
	R	CGGGCAGGTACAGGAGTATG	57.2 °C			
mGAPDH	F	TTCTCAAGCTCATTTCCTGGTATG	54.9 °C	60 °C	143 pb	NM_008084.3
	R	GGATAGGGCCTCTCTTGCTCA	58.4 °C			

Western Blotting

Hypothalamus tissues were homogenized in Radioimmunoprecipitation Assay (RIPA) buffer (50 mM Tris pH 8.0, 0.1% sodium dodecyl sulfate, 1% Triton X- 100, 0.5% sodium deoxycholate, 150 mM NaCl, and 1 mM EDTA) supplemented with protease and phosphatase inhibitors cocktail (bimake.com, UK) then maintained under constant agitation in ice for 1 h. Extracts were centrifuged at 12,000× g for 20 min at 4 ◦C to remove tissue debris. The supernatants were collected for assessment of protein concentration by Bicinchoninic Acid (BCA) Protein Assay method (Novagen, Germany). Then equivalent amounts of protein (30 µg) were separated on 12% SDS-PAGE gel and transferred onto nitrocellulose membranes (Amersham, Germany) to form blots.

Anti-connexin 43: The blots were blocked for 30 min with 2% casein in PBS- 0,1% Tween 20 and incubated for 2 h at room temperature with rabbit polyclonal antibody against mouse monoclonal anti-Cx43 antibody (1/13000; Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA). Blots were then incubated for 1 h at room temperature with anti-mouse immunoglobulin G (IgG) (Fab specific)-horseradish peroxidase (HRP) (1:2500; Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA).

Anti-phospho-connexin 43: The protein blots were blocked in 5% BSA in Tris-buffered saline Tween 20 (TBST) for 1h and then incubated with phospho-Cx43/GJA1 (Ser368) rabbit polyclonal

antibody (1:1000 in TBST; ABCAM, UK) at 4 ◦C overnight, followed by incubation with HRP-conjugated goat
anti-rabbit secondary antibody (1:10000; Bethyl, Montgomery, Texas, USA) in 5% non-fat milk-TBST at room temperature for 1h. For loading control, blots were further stripped and re-probed with GAPDH mouse monoclonal antibody (1:10000; Proteintech, Rosemont, IL, USA) followed by HRP-conjugated goat anti-mouse secondary antibody (1:2500; Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA). Bands were visualized using the colorimetric system 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) one-component HRP membrane substrate (SurModics, Eden Praire, MN, USA) and quantified by densitometry using ImageJ software (National Institute of Health, NIH, Bethesda, MD, USA).

Immunohistochemistry

Mice were anaesthetized using i.p. injection of ketamine (100 mg/kg) and xylazine (16 mg/kg) and then perfused intracardially with ice-cold 0.1M PBS pH 7.4 and then with ice-cold freshly prepared solution of 4% paraformaldehyde (PFA) in 0.1M PB. The brains were immediately removed, post-fixed for 1 h in 4% PFA at room temperature, rinsed overnight in PBS and then cryoprotected for 24–48 h in 30% sucrose at 4 ◦C. The brains were frozen in isopentane (-40 ◦C) and coronal sections (40 µm thick) of the hypothalamus or brainstem were made with a cryostat (Leica CM3050, France) and collected serially in 0.1M PBS.
For Glial Fibrillary Acidic Protein (GAFP), Ionized Ca^{2+} Binding Adapter Molecule 1 (Iba1) and Cx43 immunostainings, sections were incubated for 1 h saturation buffer containing 0.3% triton X-100 in 1X PBS buffer and respectively 3% normal goat serum (NGS for GFAP), 3% horse serum (HS for Iba1) and 3% NGS coupled with 1% bovine serum albumin (NGS + BSA for Cx43). Primary antibodies against GFAP were used at 1/1000 (mouse #G3893, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA), against Iba1 at 1/500 (rabbit #019-19741, Wako, Richmond, VA, USA) and against Cx43 at 1/3000 (rabbit #ACC-201, Alomone Labs, Jerusalem, Israel) or 1/2000 (mouse #C8093, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA). After one night of incubation at 4 ◦C, labelings were revealed with corresponding secondary antibody coupled with Alexa Fluor 488 or 594 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), used at 1/400 during 2 h incubation at room temperature.
Detection of biotinylated TAT-Gap19 and TAT-Gap19 -I14A was performed after 1 h saturation of slices in 3% NGS and 0.3% triton PBS buffer and 2 h of incubation with avidine FITC (Vector) in the same PBS buffer. For c-Fos immunohistochemistry, sections were incubated for 10 min in 0.1 M PBS containing 1.5% H2O2 for quenching of endogenous peroxidase activity. After 1 h in saturation PBS buffer containing 3% NGS and 0.3% triton X-100, sections were incubated for 48 h at 4 ◦C with a rabbit anti-c-Fos antibody (1/10 000, #PC38, Calbiochem). A biotinylated goat anti-rabbit IgG (1/400, #BA1000 Vector) was used as a secondary antibody (incubated for 1 h 30 at room temperature). Peroxidase activity was revealed using the avidin-biotin complex (1/200, Vector Labs, Burlingame, CA, USA) and diaminobenzidine as chromogen. Non-specific labelling was observed on adjacent sections that were treated identically but without the primary antibody. The reaction was closely monitored and terminated by washing the sections in distilled water when optimum intensity was obtained (3–5 min). After rinse in PBS, slices were mounted on gelatin-coated slides and coverslipped with Mowiol mounting medium.

Image Acquisition and Data Processing

Fluorescence images were acquired by confocal microscopy (Zeiss LSM 710). In double-labeling experiments, images were sequentially acquired. All images were further processed in Adobe Photoshop 6.0, with only contrast and brightness adjustments. Photomicrographs labeling were taken on a Nikon Eclipse E600 light microscope using a DXM 1200 Camera equipped with ACT-1 software. The microscope was set at a specific illumination level, as was the camera exposure time. c-Fos-positive nuclei were counted using NIH ImageJ software. Labeling and counting were performed on every fourth coronal section throughout the rostro ¬¬–¬caudal axis from the brainstem to the hypothalamus.

Stereological Estimation of Cx43/Bassoon Apposition

Immunohistochemistry for 1st order stereologic quantifications: The PFA perfusion, cryoprotection and cryosection were performed as previously described [3]. Five animals (15 weeks C57Bl6 mice) per condition at least (*ad libitum* food and water) were used to perform these quantifications. The DVC and the arcuate nucleus (ARC) in the hypothalamus were cut in 40 µm sections and immunohistochemistry was performed on free-floating sections [3]; saturation solution for 1 h at room temperature, 2% BSA and 0.3% Triton X-100, then incubations using mouse primary antibody against Bassoon (#SAP7F407 Enzo Life Sciences, Farmingdale, NY, USA) at 1/3000 during 3 days at 4 ◦ C, then secondary antibody (goat) directed against mouse IgG and coupled with Alexa 488 (1/400, overnight, 4 ◦ C). Once again, the same saturation solution was used before the Cx43 rabbit primary antibody (#ACC-201 Alomone Labs 1/3000, Jerusalem, Israel) and goat anti-rabbit-IgG secondary antibody (1/400) on the same conditions. The long incubation times are necessary to obtain a strong and constant fluorescent signal throughout the entire section. The sections were serially mounted on slides, using Fluoroshield mounting medium (#104136, Abcam, Cambridge, UK) and then coverslipped.

Cavalieri method: the tissue was serially cut with uniform thickness of 40 µm. All the sections were taken into account. An entire DVC theoretically comprises 32 sections from rostral to caudal axis. NTS was present on all slices. In the hypothalamus, only the ARC including the median eminence (ME) is considered. It represents a mean number of 12 sections to match the entire nucleus. The total volumes of NTS and ARC were estimated by manually delimiting areas on section images. The reliability of these reference volume estimations was assessed by calculating a coefficient of error (CE) for each NTS and ARC of each mouse as described by Gundersen and Jensen [18]. The estimation of the reference volume was considered accurate if the CE is lower than 7%.

Optical fractionator method: Depending on the average volume of the DVC, an x =2 00 µm and y = 300 µm grid was created to capture circa 150 voxels per animal. This grid was adapted for the ARC (200 µm × 200 µm). Confocal mosaic images were taken and this grid was randomly applied on each mosaic and every intersection within the considered structures was recorded as a voxel position. Voxels of 64 µm3 (4 × 4 × 4 µm, z stacks=13) included a 27 µm3 zone (3 × 3 × 3 µm) in the center of the voxels. Bassoon fluorescent signals were counted inside this zone. In order to restrict any overestimation, the points limiting the lower and right edges, the corners except the upper left one, the 2 first z-stacks and 2 last z-stacks (over 14) were excluded. The highlighted Bassoon fluorescent signal population was then split into 2: one with every Bassoon signal closes enough (less than 0.5 µm in every dimension of pure black) from a Cx43 signal and the other population with the remaining Bassoon signals. This counting includes the Cx43 signal out of the 27 µm3 zone. We considered a point more than 0.1 µm-diameter as a significant fluorescent signal labeling of proteins. To avoid overestimation, two points should not have had any fluorescent connections in the 3 dimensions and must have had at least one z-stack of no-signal black between them. For each structure, a shrinkage coefficient was applied on voxels' data according to the confocal measured thicknesses of sections. Note that for rostral levels of DVC, where the NTS is in touch with fourth ventricle, another coefficient reported the shrinkage differences between the voxels in the voxels' thickness depending on their distances from ventricle. These coefficients were calculated after establishing the average thickness profiles of DVC or ARC sections for each animal and then averaging for all. The estimation of the total number of Bassoon signal close to Cx43 signal described previously was carried out according to West and colleagues [19].

Ethidium Bromide Uptake and Quantification

Ethidium Bromide Uptake was performed on acute hypothalamic slices prepared from 7-week-old mice fed *ad libitum*. Mice were euthanized by cervical dislocation followed by decapitation. Brains were removed and placed in ice-cold oxygenated (95% O2; 5% CO2) sucrose-enriched artificial cerebrospinal fluid containing (aCSF; in mM): 87 NaCl; 75 sucrose; 25 NaHCO3; 10 Glucose; 7 MgCl2, 2.5 KCl, 1 Na2HPO4; 0.5 CaCl2; 320–330 mOsm. The lateral borders of the brain were removed and coronal slices (300 µM thick) containing the mediobasal hypothalami were cut

with a vibratome (VT2000S; Leica, Wetzlar, Germany). Slices were transferred to a constantly oxygenated (95% O2; 5% CO2) holding chamber containing sucrose-enriched aCSF for 30 min, then at least 30 min in the recording aCSF used for dye uptake assay containing: 119 NaCl; 26.2 NaHCO3; 11 Glucose; 2.5 KCl; 2.5 CaCl2; 1.3 MgCl2; 1 Na2HPO4; 320–330 mOsm. Then, the slices were then randomly distributed in 10 mL submerged chambers and incubated for 15 min in recording aCSF, or in aCSF supplemented with carbenoxolone 200 µM or TAT-Gap19 100 µM before and during the application of EtBr (314 Da, 4 µM, 10 min). Slices were then washed for 20 min in aCSF and fixed for 1 h 30 in PBS containing 4% PFA before immunohistochemistry. Slices were treated with PBS containing 3% NGS, 1% Triton X-100 to block nonspecific binding sites. Slices were then incubated overnight with rabbit polyclonal anti-GFAP (1/1000, #Z03334, Dako, Santa Clara, CA, USA), washed in PBS and incubated for 1 h 30 with secondary antibody goat α-Rabbit-Alexa Fluor 488 (1/400, #A-11034, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). After rinse in PBS, slices were incubated 1 min with Hoechst 1/10000, rinsed, and mounted on gelatin-coated slides and coverslipped with Mowiol mounting medium. Images were acquired on a confocal microscope (ZEISS LSM 710) using the 488-nm (Alexa), 561-nm (BET) and 405 nm band. Dye uptake was evaluated in GFAP labelled cells and expressed as the difference between the fluorescence measured in GFAP+ astrocyte nuclei and the background fluorescence measured where no nuclei were detected. Values of fluorescence in different experimental conditions were normalized relative to the control level.

Statistical Analysis

All results are presented as mean ± SEM. Statistical analysis was performed using GraphPad Prism 6. Comparison between two groups was performed using unpaired two-tailed student's t-test. One-way ANOVA was performed for comparisons between mice treated with different conditions followed by Dunnett's post-test. A repeated-measure ANOVA was performed when needed.

V.2.4 - Results

Glial Cx43 Expression in the Hypothalamus and DVC

To characterize connexins (Cxs) expression within the hypothalamus and brainstem, a quantification of mRNA coding for Cx43, 30, 26 and Pannexin1 (Panx1) genes were performed by reverse transcriptase quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). Panx1 is a protein that also forms transmembrane hexameric HC. The relative proportion of each of these mRNAs was evaluated in the hypothalamus (n = 23), the DVC (n = 24), and compared with the cortex (n = 6) of control animals (Figure 1A). In all structures studied, Cx43 mRNAs were the most abundantly expressed transcripts when compared to Cx30, Cx26 and Panx1 (Figure 1A). Moreover, Cx43 mRNA expression in the hypothalamus and DVC was significantly higher than the one in the cortex (hypothalamus: + 47.4% $p < 0.01$; NTS: + 45.9% $p < 0.01$; Figure 1A).

Immunohistochemistry confirmed the robust Cx43 expression within the hypothalamus and the DVC (Figure 1B,C). At the hypothalamic level, Cx43 immunostaining revealed a maximum density at the ARC level (Figure 1B) and in the wall of the third ventricle (Figure 1C). In the DVC, NTS has a high density of Cx43 signal, differentiating it from other bulbar structures (Figure 1D). It is noteworthy that Cx43 is weakly present in the DMNX and almost absent from the area postrema (AP, Figure 1D). Moreover, as expected, Cx43 staining was found strongly associated with GFAP+ protoplasmic astrocytes from both structures (Figure 1B–I). A double-staining of Cx43 with vimentin revealed the association of Cx43 with hypothalamic tanycytes (Figure 1F) and tanycytes-like cells i.e., vagliocytes [20] of the DVC (not shown). Finally, co-staining of Cx43 with Ionized Ca^{2+} Binding Adapter Molecule 1 (Iba1), a marker of microglia, showed that Cx43 was sometimes found associated with these cells in the DVD Figure 1K–J and hypothalamus (not shown).

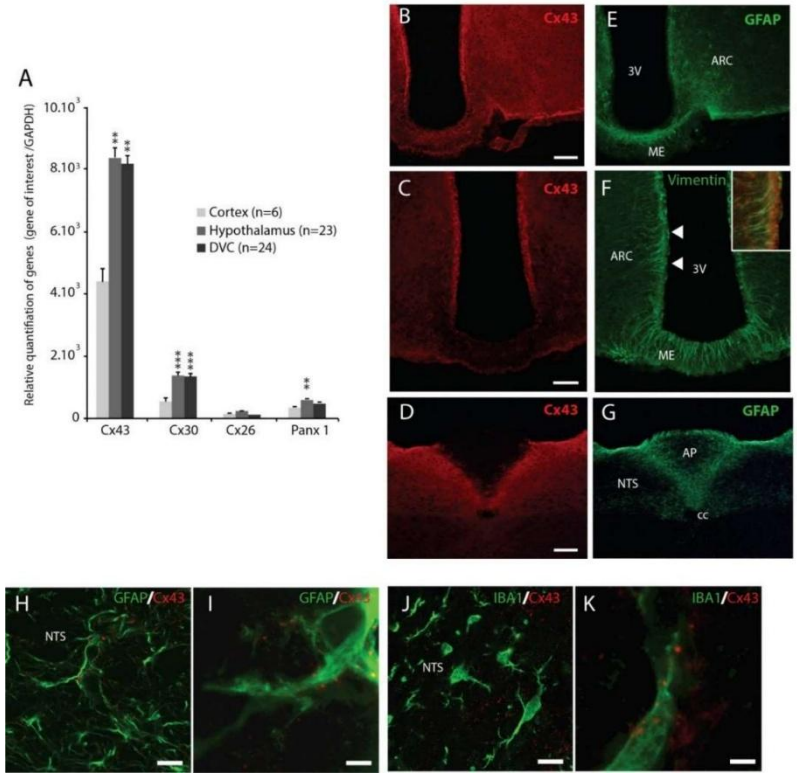


Figure 1. (A): Glial connexins and pannexin1 mRNAs quantification measured by reverse transcriptase quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) in the cortex, hypothalamus and DVC of control mice (n = 6, 23 and 24 respectively). ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ compared to cortex.

(B–G): Confocal images of Connexin-43 (Cx43) (red) and Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) (

E–G) or vimentin (F) double labeling immunohistochemistry performed within the hypothalamus and Dorsal Vagal Complex (DVC). Scale bar: 200 µm. Inset in F shows Cx43 and vimentin co-localization in α-tanycytes.

(H,I): Confocal images Cx43 (red) and GFAP (green) double immunofluorescence within the DVC. Cx43 is strongly associated with astrocytes GFAP+ (green) processes.

(J,K): Confocal images of Cx43 (red) and Ionized Ca^{2+} Binding Adapter Molecule 1 (IBA1) (green) double immunofluorescence within the DVC. Note that Cx43 labelling is sometimes found associated with thin processes of IBA+ microglia. Scale bars: 20 µm for (H, J) and 2 µm for (I) and (K). AP: area postrema, NTS: nucleus tractus solitarius, cc: central canal; ARC: arcuate nucleus, 3V: third ventricle, ME: median eminence.

Modulation of Cx43 Expression by Nutritional Status

The variations in Cx43 and GFAP transcript expressions were next evaluated by RT-qPCR within the hypothalamus and DVC after 24 h of fasting and refeeding (2 and 4 h). In the hypothalamus, the 24 h of fasting decreased significantly the expression of mRNAs coding for Cx43 (−13% $p < 0.001$; Figure 2A). This decrease was not reversed by short-term refeeding (2 h: −18%; 4 h: −26% $p < 0.001$; Figure 2A). Interestingly, 24 h of fasting also reduced GFAP mRNAs expression (−18% $p < 0.05$; Figure 1A), a decrease that was partly reversed 4 h after refeeding (Figure 2A). In the DVC, no variation of Cx43 and GFAP transcripts expression was observed after fasting or refeeding (Figure 2B). The reduced hypothalamic expression of Cx43 induced by 24 h fasting was confirmed by Western blot (Figure 2C). Moreover, the level of Cx43 phosphorylation on serine 368 (pS368) was also significantly reduced by fasting (Figure 2C) suggesting a possible post-transcriptional modulation of Cx43 activity in addition to the reduced expression. In high fat diet (HFD)-fed mice, we observed an upregulation of the transcripts coding for Cx43 and GFAP within the hypothalamus (+54%, $p < 0.001$ and +85%, $p < 0.001$ for Cx43 and GFAP respectively; Figure 2D) while no significant difference was observed within the DVC (Figure 2E). Moreover, in the hypothalamus, the level of Cx43 phosphorylation quantified on S368 was also significantly increased by HFD (+45%, $p < 0.001$; Figure 2F).

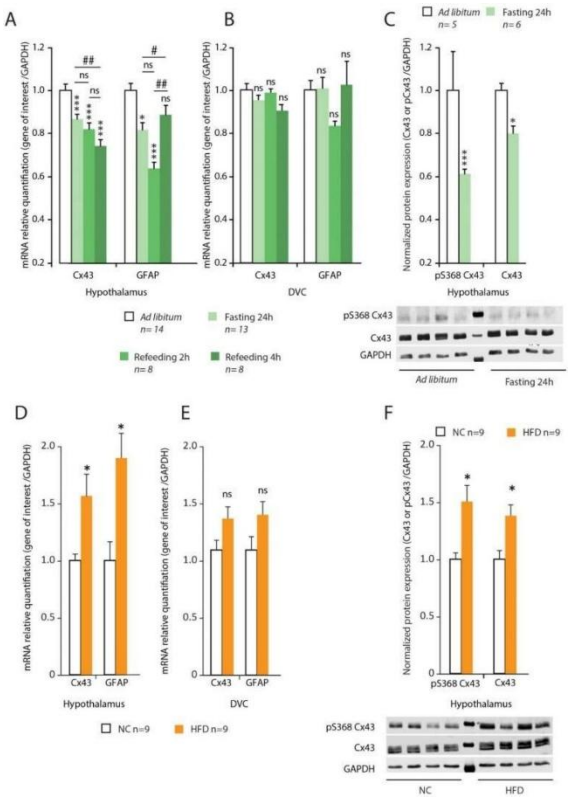
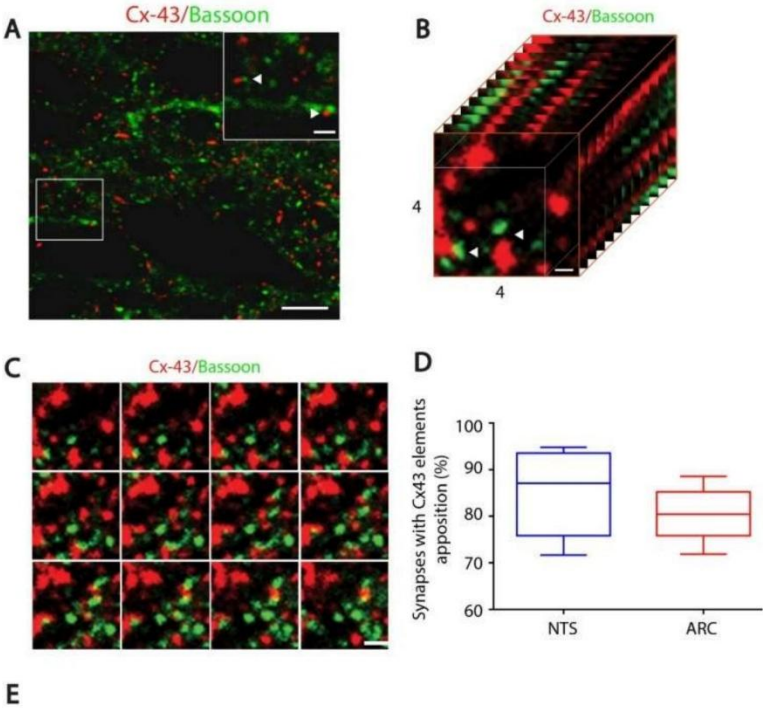


Figure 2. (A,B): Connexin-43 (Cx43) and Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) mRNA expression (normalized with Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene, GAPDH) was assessed by reverse transcriptase quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) from the hypothalamus
(A) and dorsal vagal complex (DVC)
(B) of control *ad libitum* (n = 14), 24 h fasted (n = 13), 24 h fasted plus 2 h refeed (n = 8) or plus 4 h refeed (n = 8) mice.
(C): Representative Western blot analysis of phosphorylated Cx43 (pS368) and Cx43 expression in the hypothalamus of control *ad libitum* (n = 5) and 24 h fasted (n = 5) mice.
(D,E): Cx43 and GFAP mRNA expressions (normalized with GAPDH) were assessed by Reverse Transcription quantitative Polymerase Chain Reaction (RT-qPCR) from the hypothalamus (D) and dorsal vagal complex (DVC)
(D) of Normal Chow (NC) (n = 9) and High Fat Diet (HFD) fed (n = 9) mice
(F): Representative Western blot analysis and quantification of phosphorylated Cx43 (pS368) and Cx43 expression in the hypothalamus of NC (n = 9) and HFD-fed (n = 9) mice. A two-way analysis of variance test was performed between different experimental groups * $p < 0.05$ and *** $p < 0.001$ significantly different from control *ad libitum*. #$p < 0.05$ and ##$p < 0.001$ significantly different from 24 h fasted mice. ns: no significant difference

Perisynaptic Localization of Cx43

We next sought to determine whether Cx43 positive structures (GJs and HC) are positioned perisynaptically within the hypothalamus and DVC and thus potentially able to release bioactive molecules and to modulate neuronal networks involved in energy balance control. To this goal, we performed a double Cx43 and bassoon labeling. The cytomatrix protein bassoon is a well-established marker of presynaptic structures [21]. Low magnification confocal microscopy at the hypothalamus (Figure 3A) and brainstem (not shown) level showed a Cx43 labeling consisting in dispersed puncta throughout the tissue (Figure 3A). Bassoon immunoreactivity consisted of similarly dispersed puncta, as well as short bars of puncta (Figure 3A,B). In high magnification confocal microscopy, it appears clearly that many Cx43 puncta are located near presynaptic elements (Figure 3B), going in some cases up to the juxtaposition (Arrows in Figure 3B). We next sought to estimate the proportion of Cx43/bassoon juxtaposition within the ARC and NTS using a first-order stereologic quantification approach (Figure 3C–E). The total volumes of NTS and ARC were estimated from manually delimited areas on section images (Figure 3E). A grid was then created to capture circa 150 voxels per animal and structures. Each voxels of 64 µm3 (4 µm sized cube, z stacks = 13; Figure 3C) included a 27 µm3 zone (3 µm sized cube) in the center of the voxels where bassoon fluorescent signals have been counted. The percentage of bassoon fluorescent signal close enough from a Cx43 signal (less than 0.5 µm in every dimension) was thus quantified. This stereological estimation of Cx43/bassoon appositions showed that a high proportion of bassoon elements were found in juxtaposition to Cx43 signals in both the NTS (85.13%) and ARC (80.46%) nuclei (Figure 3D).



E

	NTS					ARC				
Animals	N°1	N°2	N°3	N°4	N°5	N°1	N°2	N°3	N°4	N°5
Estimated volumes (µm³)	277 454 306	265 224 573	348 823 316	305 298 325	252 036 400	85 919 043	104 478 618	66 624 273	66 856 556	52 913 396
Gundersen's error coefficients (<0.07)	0,024	0,022	0,015	0,019	0,016	0,051	0,042	0,052	0,054	0,064
Number of voxels	93	130	135	110	135	122	151	102	79	54
Total volumes of voxels (µm³)	2 511	3 510	3 645	2 970	3 645	3 294	4 077	2 754	2 133	1 458
Cx43-associated bassoon elements	238	223	310	291	262	262	333	125	160	139
Bassoon elements	258	256	388	307	366	320	416	174	199	157
Estimated total Cx43-associated bassoon elements	26 297 939	16 850 450	29 666 729	29 913 068	18 116 197	6 633 877	8 533 574	3 023 978	5 015 025	5 044 556
Estimated total bassoon elements	28 507 850	19 344 014	37 131 261	31 557 773	25 307 359	8 346 719	10 711 813	4 209 377	6 237 438	5 697 808
Proximity (%)	92.26	87.11	79.90	94.79	71.58	91.88	79.67	71.84	80.40	88.54

Figure 3. (A): Confocal images of connexin-43 (Cx43) (red) and bassoon (green) double labeling immunohistochemistry performed within the nucleus tractus solitarius (NTS). Scale bar: 5 µm. Inset Arrows show Cx43 labelling in close vicinity of synapses labelled by presynaptic bassoon protein. Scale bar 1 µm.
(B): An example of a voxel (4 × 4 µm) used for the quantification of Cx43/bassoon appositions. Scale bar: 0.5 µm.
(C): Twelve z-stack images defining the voxel illustrated in B and allowing the identification of Cx43/bassoon appositions.
(D): Stereological estimation of Cx43/bassoon appositions in the NTS (85.13%) and arcuate nucleus of the hypothalamus (ARC) (80.46%) nuclei.
(E): Table gathering the different stereological values acquired or estimated for each studied animal.

Cx43 HC Activity in Hypothalamic Slices

Next, we investigated the activity of Cx43 HC by performing the EtBr uptake assay in hypothalamic slices. EtBr uptake is s a functional index of hemichannel activity including Cx43 HC [22]. Slices were prepared from mice fed *ad libitum*. In control conditions (aCSF medium), fluorescence measurements showed that vehicle-treated hypothalamic slices took up a large amount of EtBr over a 10 min period (Figure 4A), suggesting a high basal HC activity in the ARC.
As expected, a significant proportion of EtBr labeling was found in GFAP+ astrocytes (Figure 4A,B). Carbenoxolone (Cbx, 200 µM) was used as a positive control for hemichannel blockade. Hypothalamic slices treated with Cbx displayed a strong reduction in EtBr uptake compared with vehicle control
(Figure 4A,B). We next tested the effect of TAT-Gap19 on EtBr uptake; TAT-Gap19 is designed to specifically inhibit Cx43 HC. TAT-Gap19 100 µM significantly reduced EtBr uptake from the ARC when compared to untreated condition, albeit this inhibition was slightly less broad than observed with Cbx (Figure 4A,B). This TAT-Gap19 100 µM dose was chosen based on the previous work of Abudara and colleagues [12]. Importantly, this inhibition of EtBr uptake induced by TAT-Gap19 was significant in GFAP+ positive astrocytes (−59% and −52% in Cbx and TAT-Gap19 treated slices respectively; Figure 4B).

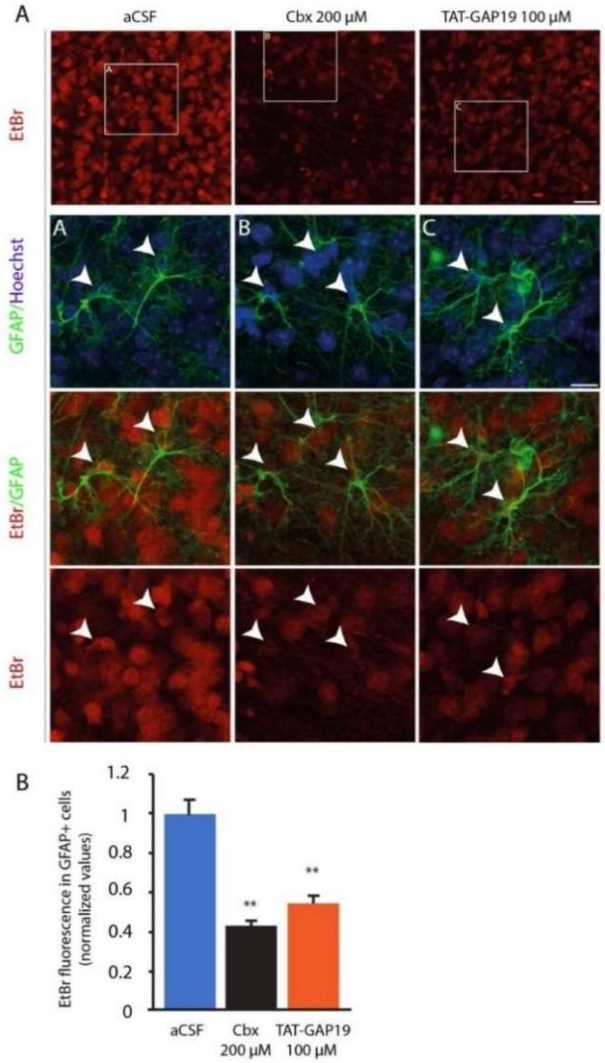


Figure 4. (A): Representative images depicting ethidium bromide (EtBr) uptake via hemichannels in hypothalamic (ARC) slices treated with either artificial cerebrospinal fluid (aCSF), 200 µM carbenoxolone (Cbx) or 100 µM the connexin-43 (Cx43) hemichannel blocker TAT-Gap19 for 15 min, then exposed to EtBr for 10 min. After fixation, slices were submitted to Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) immunostaining and Hoechst labelling. Scale bar: 15 µm.
(B): Quantification of EtBr fluorescence measured in GFAP+ astrocytes. n = 5, with each n representing the average of three replicates.
** $p < 0.01$.

TAT-Gap19 Diffusion after i.c.v Injection

In order to inhibit Cx43 HC activity *in vivo*, particularly in both the hypothalamus and brainstem, we choose to perform i.c.v. (lateral ventricles) injection of TAT-Gap19 on chronically cannulated mice. We first checked for the diffusion of TAT-Gap19 into brain parenchyma after its i.c.v. administration. To this goal, we carried out staining of biotinylated TAT-Gap19 by avidine-FITC. One hour after i.c.v. injection of the peptide 25 µg, we observed that biotinylated TAT-Gap19 was strongly present in the parenchyma lining the lateral ventricle near the injection site (Figure 5A,B). In addition, biotinylated TAT-Gap19 peptide was found only located in structures surrounding the third ventricle and mainly in hypothalamic nuclei (Figure 5B). More caudally, a labelling was observed in structures bordering the fourth ventricle (Figure 5C) including the AP and NTS (Figure 5D). It should be noted that no significant labelling could be visualized in the other central structures suggesting that when injected in lateral ventricles TAT-Gap19 targets quite specifically areas surrounding ventricles. Biotinylated TAT-Gap19 peptide could be detected within the hypothalamus parenchyma as soon as 30 min after its i.c.v. injection (Figure 5D) and diffusion area increased with time to cover up the hypothalamus after 2 h (Figure 5E–G). Importantly, the diffusion of the TAT-Gap19 -I14A was strictly identical to those of native peptide (Figure 5H).

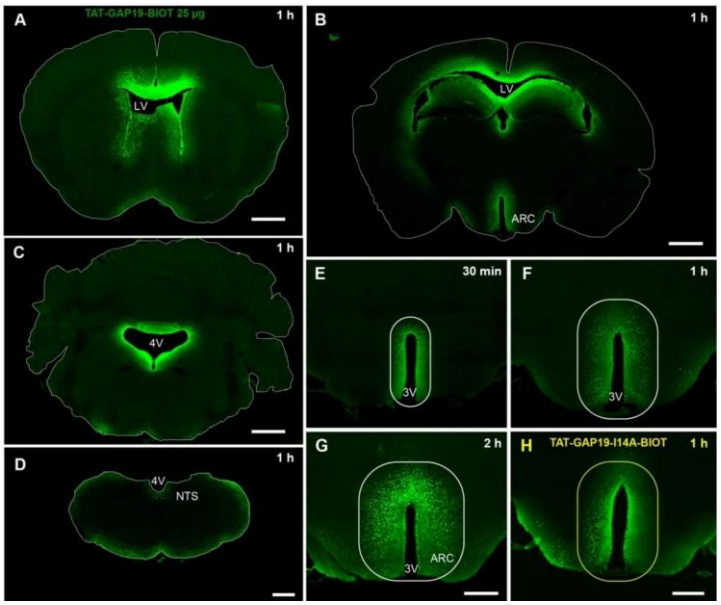


Figure 5. (A–D): Diffusion of biotinylated TAT-Gap19 into the hypothalamus (A,B) and hindbrain (C,D) 1 h after its i.c.v. administration. White lines delimit brain tissue. Scale bars: 1 mm in (A) and (C); 500 µm in (C) and (D). (D–F): High magnification of biotinylated TAT-Gap19 25 µg diffusion within the hypothalamus 30 min (D), 1 h (E) and 2 h (F) after its injection into the lateral ventricles. Scale bar: 500 µm. (G): High magnification of biotinylated TAT-Gap19 -I14A 25 µg diffusion within the hypothalamus 1 h after its injection into the lateral ventricles. Scale bar: 500 µm. (H): High magnification of biotinylated TAT-Gap19 -I14A diffusion within the hypothalamus 1 h after its injection into the lateral ventricles. White lines (D–G) and yellow lines (H) delimit diffusion area of biotinylated peptides. ARC: arcuate nucleus; 3V: third ventricle; 4V: fourth ventricle; NTS: nucleus tractus solitarius; LV: lateral ventricle.

i.c.v. TAT-Gap19 Injection Modifies Food Intake and Meals Microstructure

We next tested whether a blockade of the HC activity could modify food intake in mice. To this goal, we performed i.c.v. injections (lateral ventricles) of TAT-Gap19 (12.5 and 25 µg) at the beginning of the dark phase on chronically cannulated mice. A central injection of TAT-Gap19 12.5 µg induced a modest and transient decrease in food intake observable only during the 3 h following the injection (Figure 6A). At the dose of 25 µg, TAT-Gap19 significantly reduced intake food as soon as 3 h and during the 24 h post-injection (Figure 6A). Over the first 12-h post-injection period, this decrease reaches 41% and persisted until 24 h ($p < 0.001$; Figure 6A). Importantly, TAT-Gap19 -I14A, which does not recognize Cx43, did not modify food intake when injected at 25 µg (Figure 6A). To decipher feeding behavior investigation during TAT-Gap19 treatment, meals microstructure analysis (Figure 6B) was then computed for dark phase period i.e., 0–12 h. Compared with the vehicle, TAT-Gap19 reduced meal number by 56.8% during the 0–12 h period (16.7 +/− 1.3 min vs. 7.2 +/− 1.1, $p < 0.05$; Figure 6C) and diminished also meal size by 44.6% (153.4 +/− 22.4 mg vs. 85.9 +/− 15.5 mg, $p < 0.01$; Figure 6D) without modifying meal duration (Figure 6E). Finally, intermeal interval was increased by 2.8 fold by TAT-Gap19 treatment (Figure 6F). The impact of TAT-Gap19 (12.5–50 µg) was also evaluated on energy expenditure and on locomotor activity (activity spontaneous). The results obtained show that TAT-Gap19 did not modify energy expenditure during the dark phase. Figure 6G illustrates the absence of effect of TAT-Gap19 on energy expenditure with the higher dose (50 µg). Importantly, locomotor activity was not affected by TAT-Gap19 injection during the period where food intake was diminished by the treatment (Figure 6H,I).

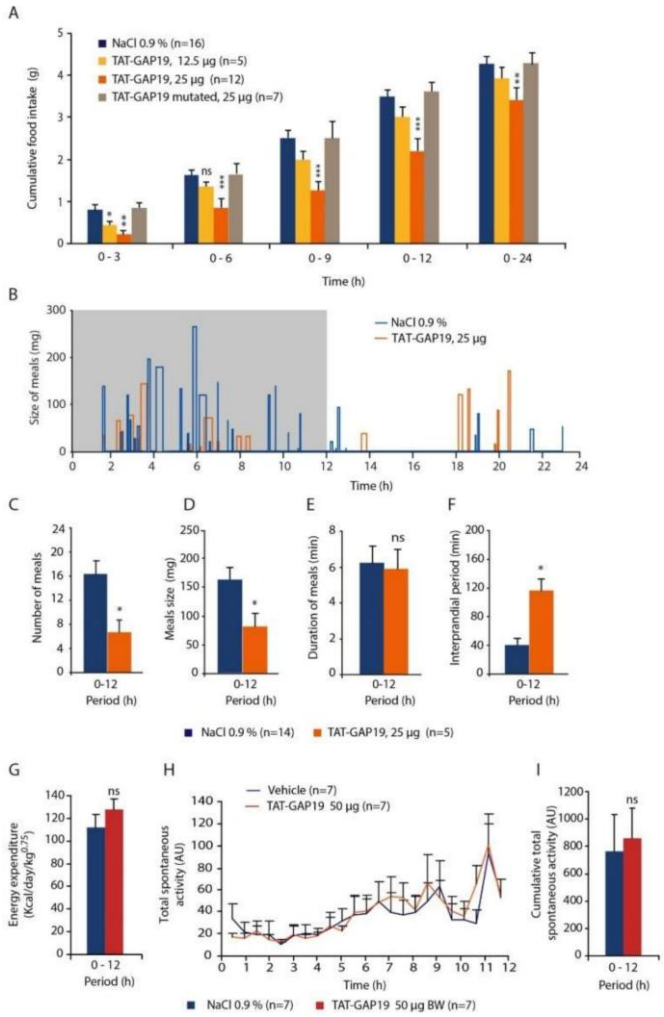


Figure 6. (A): Cumulative food intake (g), measured over a 24 h period, of mice having received an i.c.v. injection of either vehicle (Sodium Chloride (NaCl) 0.9%) or TAT-Gap19 (12.5 or 25 µg). The TAT-Gap19 -I14A, which includes a point mutation making it ineffective on connexin 43 hemichannels (Cx43 HC) activity was tested on food intake at the dose of 25 µg.
(B): Graph showing meal size over 24 h after i.c.v. injection of vehicle or TAT-Gap19 25 µg. Note that each bar represents a meal and its width the meal duration. The dark period is represented by the shaded box.
(C–F): Meal microstructure analysis performed during the dark period for mice that received either vehicle or TAT-Gap19 25 µg allowed quantification of meals number (C), meals size (in mg of food, (D)), meal duration (in min, (E)) and interprandial period (in min, average intervals between meals, (F–G): Measure of energy expenditure (in Kcal/day-1/kg0.75) within 12 h after injection of 0.9% NaCl vehicle (n = 7)or 50 µg TAT-Gap19 (n = 7). (H,I): Measure of total spontaneous activity (in Arbitrary Unit, UA; (H) and cumulative spontaneous activity (I) within 12 h for the 2 groups. ns: no significant difference;* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$, significantly different from NaCl-treated mice.

Effect of TAT-Gap19 on Glycemic Regulation during a Carbohydrate Overload

Since we observed a strong impact of i.c.v. TAT-Gap19 injection on food intake, we next evaluated the impact of this central TAT-Gap19 administration on glycaemia and regulatory mechanisms operating during a hyperglycaemia (Figure 7). In fasted animals, TAT-Gap19 administration (12.5–50 µg) did not modify glycaemia (Figure 7A,B). Moreover, we performed an oral glucose tolerance test (OGTT) 30 min after the i.c.v. injection of TAT-Gap19 (12.5–50 µg). The absence of effect of TAT-Gap19 on glycaemia parameters is illustrated for the higher dose (50 µg). As observed before, TAT-Gap19 did not significantly change blood sugar within 30 min that follow its administration (Figure 7C). As expected in control animals, per os administration of glucose induced a rapid increase in blood sugar. After 10 min, the rate of blood glucose gradually returns to its normal value under the effect of insulinemic regulation. In mice having received a central injection of TAT-Gap19, blood glucose levels were comparable to those obtained in the control individuals (Figure 7C,D).

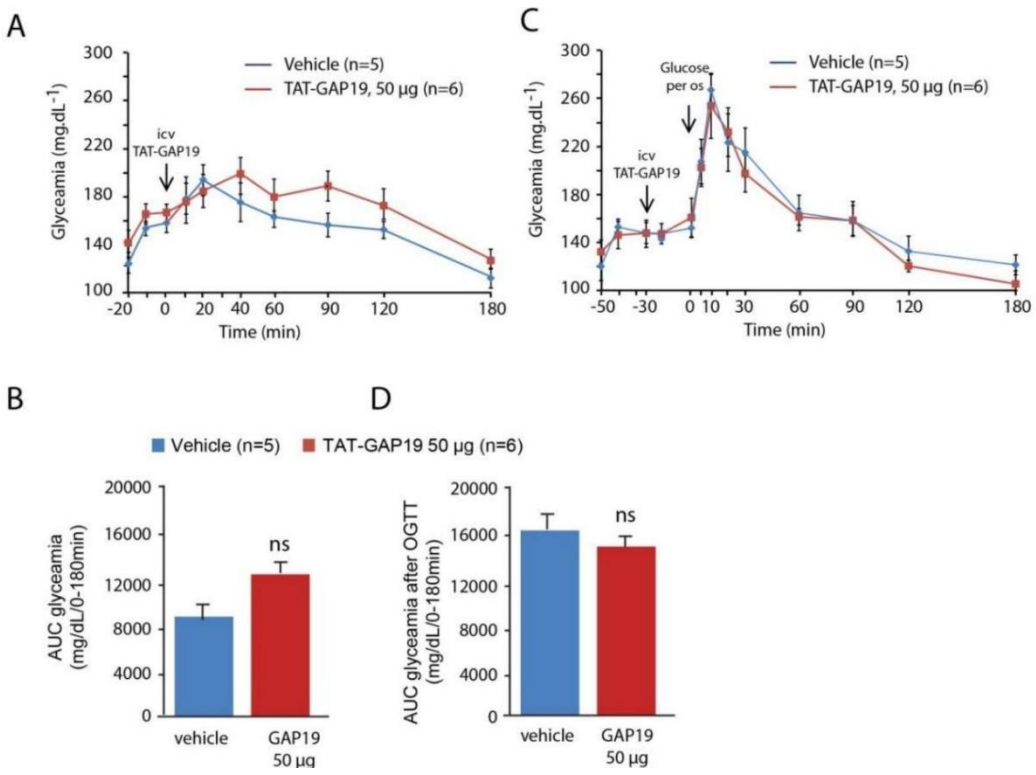


Figure 7. (A): Glycaemia measured in fasted mice having received either i.c.v. injection of sodium chloride (NaCl) 0.9% or TAT-Gap19 50 µg. Arrow indicates the time of TAT-Gap19 icv administration. (B): Quantification of area under the curves (AUC) measured between 0 and 180 min after i.c.v injection of either NaCl 0.9% or TAT-Gap19 (50 µg). Arrows indicate the times of TAT-Gap19 and glucose administrations. (C): Time-course changes in blood glucose level after per os glucose administration (1.5 g/kg) performed 30 min after i.c.v. injection of either NaCl 0.9% or TAT-Gap19 (50 µg) in fasted mice. (D): Quantification of AUC measured at between 0 and 180 min after per os glucose administration in mice having received either NaCl 0.9% or TAT-Gap19 (50 µg). ns: no significant difference.

c-Fos Expression in Response to i.c.v. Administration of TAT-Gap19

Central structures activated in response to i.c.v. administration of TAT-Gap19 25 µg were identified using the immune detection of the early gene c-Fos performed on animals sacrificed three hours after treatment. A very low basal level of c-Fos positive nuclei was observed in the brainstem, pons and forebrain of NaCl-treated mice (Figure 8). TAT-Gap19 -treated mice exhibited a strong rise in the number of c-Fos positive nuclei in a very limited number of brain structures including bulbar and hypothalamic nuclei i.e., NTS, PVN and ARC (Figure 8). Interestingly, this pattern of TAT-Gap19 -induced cellular activation was restricted to centers involved in the control of food intake. In addition, a significant c-Fos labelling was also observed in the wall of third and fourth ventricles of TAT-Gap19 -treated mice (Figure 8A–O).

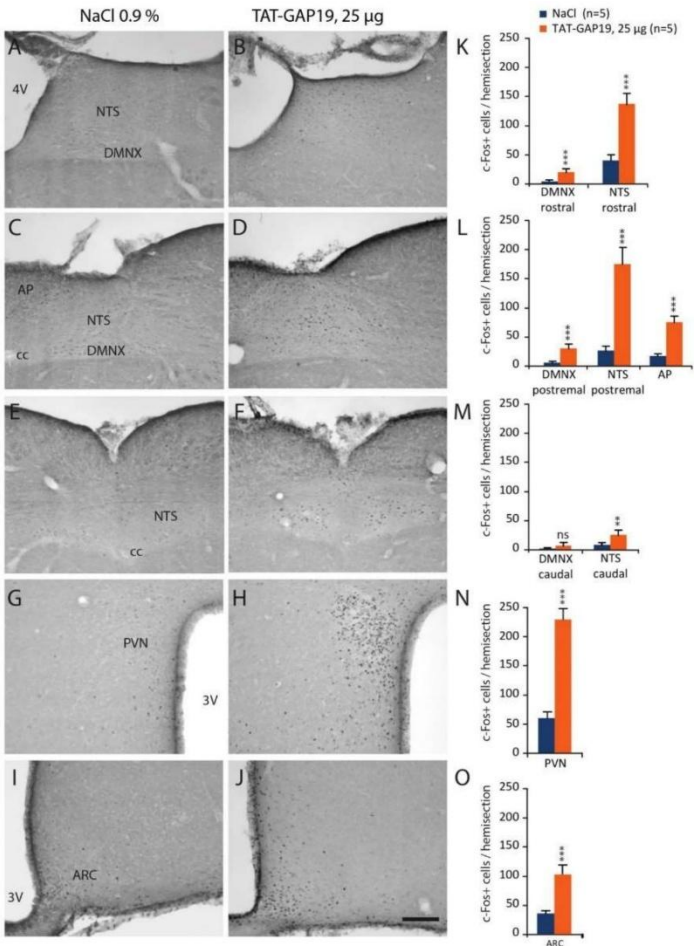


Figure 8. Microphotographs illustrating c-Fos protein immuno-labelling observed on coronal brain slices of mice treated with vehicle or TAT-Gap19 25 µg and sacrificed 3 h after injection. In response to TAT-Gap19 injection, c-Fos positive nuclei were located within the rostral (A,B), postremal (C,D) and caudal (E,F) dorsal vagal complex (DVC), the PVN (G,H) and the ARC (I,J). Scale bar: 200 µm. (K–O): Quantification of c-Fos positive cells in structures of interest for controls (n = 5) and for mice treated with TAT-Gap19 25 µg (n = 5). PVN: paraventricular nucleus, 3V: third ventricle, ARC: arcuate nucleus, 4V: fourth ventricle, NTS: nucleus tractus solitarius, AP: area postrema, cc: central channel. ns: no significant difference; ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$, significantly different from vehicle-treated mice.

V.2.5 - Discussion

The present work shows that the two main structures involved in homeostatic regulation of energy balance are characterized by a notable expression of Cx43 associated with high glial density. Interestingly in the hypothalamus Cx43 expression is sensitive to nutritional status changes (fasting, obesity). In addition, a strong basal HC activity in the ARC is suggested by the EtBr uptake assay. This HC activity is at least partially dependent on Cx43. Furthermore, the central administration of TAT-Gap19, a permeant peptide, that inhibits specifically the opening of Cx43 HC, induces a decrease in food intake, without affecting locomotor activity. Finally, i.c.v. TAT-Gap19 administration induces cellular activation attested by c-Fos expression specifically in the hypothalamus and the DVC. Altogether, these results constitute the first demonstration that glial Cx43 HC are involved in the regulation of food intake.

Cx43 Expression within the Hypothalamus and DVC and Modulation by Nutritional Status

Cx43 is a ubiquitous protein found in almost all tissues of the body except red cells, sperm and skeletal muscle cells [7]. Within the CNS, this protein is expressed by glia, mainly astrocytes and to a lesser extent microglia [9]. Exceptionally, neuronal Cx43 expression has been reported in olfactory bulb neurons [23] and spinal cord motor neurons [24], where Cx43 is involved in the formation of electrical synapses. We first investigated Cx43 expression in the hypothalamus and DVC, two major centers liable for the regulation of the energy balance including homeostatic control of food intake. An analysis of transcripts encoding proteins known for their ability to form GJs and/or HC in glial cells (Cx43, Cx30, Cx26 and Panx1) has shown that Cx43 is the most widely

expressed in the hypothalamus and DVC. These structures are enriched in Cx43 mRNA when compared to the cortex, a structure taken here as a reference and reported to express high level of Cx43 in the adulthood [25]. This strong Cx43 expression in the hypothalamus and DVC has been confirmed at the protein level by immunohistochemistry. These two structures are distinguished by a higher Cx43 immunoreactivity than surrounding structures. At the brainstem level, the Cx43 labelling clearly delimits the contours of the NTS. This high density Cx43 expression was found to a lesser extent at the hypothalamic level around the third ventricle and in the ARC. At higher magnifications, we confirmed the presence of Cx43 in membranes of GFAP + astrocytes. As previously described [26,27], tanycytes and more precisely β-tanycytes expressed Cx43. Interestingly, a population of tanycytes-like cells located within the DVC and originally described by Pecchi and colleagues [20] also expressed Cx43. Finally, it should also be noted that some Cx43 labeling is also associated with Iba1+ microglial cells. This cellular localization reported for the first time in the hypothalamus and DVC is consistent with the results of the literature obtained in other structures from the CNS [9].

We then investigated whether Cx43 expression (mRNAs and protein) can be modified by drastic changes in energy balance. Control of Cx expression occurs mainly at the transcriptional level [7] and the short Cx half-life, of the order of only a few hours (1.5 to 4 h for the Cx43, [28], implies a permanent synthesis. We first chose to test a 24 h fast, known to cause a change in the energy substrates used. This change in metabolism is accompanied by a decrease in insulinemia and leptinemia and an increased secretion of ghrelin [29]. Under these conditions, we observed a decrease in Cx43 expression in the hypothalamus. No change in Cx43 expression was observed in the DVC. The important contribution of the hypothalamus to counter-regulatory mechanisms observed during a fast [30] may explain this result. Refeeding (2 and 4 h) did not restore the initial levels of Cx43. Secondly, we looked for variations in Cx43 expression in diet-induced obese (DIO) animals. We observed an upregulation of Cx43 expression in the hypothalamus of DIO animals, while again no modification was observed within the DVC. The turnover, internalization and degradation of Cxs including Cx43 are highly associated with phosphorylation/dephosphorylation events and can be triggered by a variety of stimuli (e.g., growth factors, extracellular matrix interactions, ischemia, inflammation, see [28] for review). Cx43 phosphorylation by protein kinases especially at serine 368 has been associated to i/ GJ internalization, ii/ changes in GJ intercellular communication and iii/ reduced Cx43 half-life [31]. Interestingly, we observed a marked decrease in phosphorylated Cx43 levels in the hypothalamus during fasting while during induced obesity, the level of phosphorylated Cx43 increased.

Using EtBr uptake as an index of HC activity, we observed a high HC permeability within the ARC of *ad libitum*-fed mice. This HC activity relied significantly on Cx43 HC, especially in GFAP+ astrocytes, since it was inhibited by TAT-Gap19, a mimetic peptide preventing interaction between the C-terminal part of Cx43 with the L2 loop and thus causing the specific closure of the Cx43 HC [12]. It is noteworthy that TAT-Gap19 has no influence on communication via the GJ made up of Cx43 [12]. HC are known to mediate the transfer of signaling molecules i.e., ATP and glutamate, between the cytoplasm and the extracellular space, constituting a non-vesicular route for gliotransmitters release (see [32] for review). In agreement with this concept, blockade of Cx43 HC with GAP26 resulted in reduced frequency of excitatory post-synaptic currents (fEPSPs) recorded in hippocampal CA1 neurons after Schaffer collateral stimulation via ATP signaling [33]. Furthermore, it was demonstrated that glial Cx43 modulates glutamatergic synaptic activity of CA1 pyramidal cells via changes in synaptically released glutamate [34].

In the hypothalamus and the DVC, Cx43 labelling was often found in close proximity, even juxtaposed, to bassoon positive elements. Bassoon is a very large scaffolding proteins of the cytomatrix assembled at the active zone where neurotransmitters are released [21]. Our stereological study revealed that a high proportion of Cx43 signal (~80–85%) was found in the close environment of the synaptic elements (<1 μm). This result is quite different from a pioneer ultrastructural work by Sipe and Moore [35] performed at the lateral hypothalamic area level reporting that about 90% of astrocytic GJ, identified on the basis of morphological criteria, was positioned within a distance of 15–20 μm from a synaptic terminal. On the other hand, our observation is to be compared to the work carried out at the barrel cortex where the average distance between an excitatory synapse and an astroglial Cx43 GJ, identified on electron-

microscopic images, was about 0.7 µm [36]. Nevertheless, contrary to cited works, our stereological analysis is not based on the morphological identification of GJ but on Cx43 immunofluorescence staining, which allows the detection of connexons involved in both GJ and HC. Thus, we can assume that a proportion of Cx43 that we detected in the immediate vicinity of the synapse is not engaged in GJ but could constitute HC. The high HC activity we observed in hypothalamus slices support this assumption.

Altogether, these results suggest that, in structures involved in homeostatic regulation of food intake, Cx43 expression and Cx43 GJ and/or HC gating can be regulated by hormonal and/or metabolic signals associated with nutritional status. In turn, these modulations could result in a disturbance of astrocytic and tanycytic GJ networks and/or the release of neuroactive compounds through Cx43 HC.

The Inhibition of Cx43 HC Diminishes Food Intake

All of the results discussed above prompted us to test the effect of Cx43 HC inhibition on food intake of *ad libitum*-fed mice. We postulated that Cx43 HC activity could allow the release of neuroactive compounds and hence constitute a tonic modulation of neuronal networks dedicated to the control of food intake. To specifically target Cx43 HC, we used GAP19 as previously done with EtBr uptake assays. Nonetheless, to facilitate GAP19 diffusion and cell penetration *in vivo*, we coupled GAP19 to a TAT sequence, derived from HIV. The TAT sequence facilitates cellular internalization of the peptide by a macropinocytosis mechanism [37]. Moreover, we have chosen to administer this peptide by i.c.v. injection in lateral ventricles in order to reach both the hypothalamus and DVC, which border the third and fourth ventricles, respectively. This route of administration, which is not totally specific for the targeted structures, can potentially induce diffusion of the peptide in other brain structures and lead to unspecific behavioral effects. However, based on our previous results [38], we postulated that this would not be the case because of the facilitated peptide diffusion from the ventricles to the ARC and NTS thanks to the proximity of the organs circumventricular, namely the median eminence and the area postrema. FITC labeling of biotinylated TAT-Gap19 or TAT-Gap19 -I14A performed at different time points after their i.c.v. administration confirmed a privileged presence of the peptide in the ARC and NTS after its ventricular injection. Thus, we next evaluated the impact of i.c.v. TAT-Gap19 administration performed at the beginning of the mouse activity period. TAT-Gap19 rapidly (<1.5 h) diminished food intake, and this effect persisted throughout the dark phase. A meal microstructure analysis revealed that TAT-Gap19 causes both meal frequency and size decrease. While meal frequency reduction is evocative of a sickness behavior [39], the decrease in meal size refereed to a more physiological process since endogenous substances regulating food intake, i.e., cholecystokinin, leptin, are known to modify the meal size. The possible nonspecific action of TAT-Gap19 inducing a broad distress resulting in anorexia seems unlikely since we did not observe signs of suffering. In accordance, i.c.v. TAT-GAP injection did not modify locomotor activity. In addition to food intake, we looked for a possible effect of TAT-Gap19 on carbohydrate regulation. The permeability of these HC for the glucose suggests a role for Cx43 in central glucodetection, and it was previously reported that the inhibition of Cx43 synthesis, by interfering RNAs (siRNAs) injected into the rats hypothalamus parenchyma, decreases hypothalamic glucose sensitivity and glucose sensing-induced insulin secretion [40]. Here, the TAT-Gap19 peptide did not alter glycaemia or insulinemic regulation following a glucose overload. The differences in the protocols used, i.e., a reduction of Cx43 expression by siRNAs and acute inhibition of Cx43 HC activity could explain this apparent discrepancy. Finally, mapping of cellular activation using c-Fos immunolabelling [41] was carried out on sections of the bulbar region and of the entire diencephalon. At a time where anorexia is ongoing, the i.c.v. TAT-Gap19 peptide injection induced cellular activation only in the hypothalamus and DVC. This activation profile is characteristic of cellular activation obtained after i.c.v. administration of appetite suppressant compounds [3,5,17,39,42]. This result shows that inhibition of Cx43 HC within the hypothalamus and DVC modifies the activity of circuitries potentially involved in central appetite control, which could explain the diminution of meal number and size observed in the behavioral study.

Possible Mechanisms Underlying the Reduction of Food Intake Induced by Cx43 HC Inhibition

The release of gliotransmitters and their involvement in brain functions are illustrated by numerous results obtained on different physiological and pathological models (see for reviews [43,44]). In this context, the release of neuroactive substances by Cx HC has been largely proposed (see for review [11]). Astrocytic release of ATP through the Cx26 HC contributes to the control of breathing [45]. Stehberg and colleagues [13] have shown that the release of neuroactive substances via the astrocytic Cx43 HC is necessary for long-term memorization of fear conditioning. Indeed, injection of TAT-Cx43L2 or GAP27 into the basolateral amygdala resulted in amnesia to fear conditioning training. Interestingly, co-administration of these blocking peptides with a gliotransmitter cocktail including glutamate, glutamine, lactate, D-serine, glycine, and ATP restored fear conditioning memory. Nevertheless, this study did not identify a specific gliotransmitter in mediating the effects of HC on learning and memory. Similarly, the nature of neuroactive substance(s), released by hypothalamic and brainstem glial cells through Cx43 HC, capable of modulating food intake remains to be identified. This issue appears as a puzzle since most of the compounds transported through Cx43 HC have a profound impact on food intake. ATP, amino acids and their metabolites including glutamine glutamate, aspartate, glycine or D-serine can directly or indirectly (via modulation of neurotransmitters release) modify feeding behavior [46]. Interestingly, most of them were known for their orexigenic action. For instance, glutamate was reported to stimulate feeding behavior by acting at the hypothalamic level [47]. ATP appears also as a potential candidate. Its release through Cx43 HC has been widely reported [11], and this compound exerts orexigenic effects thanks to its action on P2X2 [48] and P2Y [49] receptors.

Another intriguing question that remains open is that of the glial cells identity at the origin of food intake regulation via HC Cx43. Presumably, GFAP + astrocytes are the primary cell type involved in such regulation given i/ their involvement in the tripartite synapse and astrocyte-neuron communications (see for review [50]) and ii/ the strong Cx43 expression that we observed in GFAP+ cells within the hypothalamus and the DVC. However, tanycytes should not be overlooked. Indeed,we observed that Cx43 is expressed by a subpopulation of tanycytes both within the hypothalamus and DVC. Given their contribution to the regulation of food intake that has emerged in recent years [1,3,51,52], we can assume that tanycytes are susceptible to release, via Cx43 HC, which are neuroactive substances acting on energy balance regulation. This is often the approach we used, i.e., icv injection of TAT-Gap19, as is it can clearly inhibit Cx43 HC activity in the cells bordering both the third and fourth ventricles. Finally, it was proposed that microglia cells also contribute to the modulation of energy balance [1]. Albeit, Cx43 seems to be scarcely expressed by hypothalamic and brainstem microglia, we cannot totally rule out the possibility that microglial Cx43HC inhibition underlines the effect of TAT-Gap19 on food intake. The deletion of the Cx43 gene in specific cell type could partly answer this question.

In summary, this study provides the first evidence indicating that inhibition of Cx43HC activity interferes with the control of food intake and suggests a possible tonic glial delivery of orexigenic molecules via Cx43HC. By reducing food intake, the inhibition of glial Cx43 could constitute a new therapeutic avenue against overweight, obesity and their comorbidities. More broadly, this work helps to support the hypothesis of the involvement of the glial compartment in regulating the energy balance.

Author Contributions M.D., S.G. and J.-D.T. designed the study. F.G., M.B., J.-M.B., R.B., K.P., F.V., B.L., M.D.and S.G. performed experiments. F.G., M.B., J.-M.B., R.B., K.P., B.L., N.R., M.D., S.G. and J.-D.T. analyzed the data. J.-D.T. wrote the original draft. All authors have read, corrected and agreed to the final version of the manuscript. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was supported by funding obtained from the Aix-Marseille Université (AMU) and the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS). F.G. was the recipient of a fellowship from Nestlé France.

Acknowledgments: The authors acknowledge Elise Courvoisier and Coraline Airault for their support in qPCR experiments (Plateforme Analyse et Valorisation de la Biodiversité, Marseille), as well as Elena Dossi for her help for the slice preparations and EtBr uptake assays. The authors are grateful to Alain Tonetto (Plateforme de Recherche Analytique Technologique et Imagerie, Marseille) for his assistance in confocal imaging. We thank Jérôme Espejo for his precious contribution to animal's maintenance and management (Animalerie Saint Jérôme). We would also like to express our gratitude to Ayush Srivastava for the English editing of the revised manuscript.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. García-Cáceres, C.; Balland, E.; Prevot, V.; Luquet, S.; Woods, S.C.; Koch, M.; Horvath, T.L.; Yi, C.-X.; Chowen, J.A.; Verkhratsky, A.; et al. Role of astrocytes, microglia, and tanycytes in brain control of systemic metabolism. *Nat. Neurosci.* **2019**, *22*, 7–14. [CrossRef] [PubMed]
2. Argente-Arizón, P.; Freire-Regatillo, A.; Argente, J.; Chowen, J.A. Role of non-neuronal cells in body weight and appetite control. *Front. Endocrinol.* **2015**, *6*, 42. [CrossRef]
3. Guillebaud, F.; Duquenne, M.; Djelloul, M.; Pierre, C.; Poirot, K.; Roussel, G.; Riad, S.; Lanfray, D.; Morin, F.; Jean, A.; et al. Glial Endozepines Reverse High-Fat Diet-Induced Obesity by Enhancing Hypothalamic Response to Peripheral Leptin. *Mol. Neurobiol.* **2020**, *57*, 3307–3333. [CrossRef] [PubMed]
4. Dallaporta, M.; Bonnet, M.S.; Horner, K.; Trouslard, J.; Jean, A.; Troadec, J.-D. Glial cells of the nucleus tractus solitarius as partners of the dorsal hindbrain regulation of energy balance: A proposal for a working hypothesis. *Brain Res.* **2010**, *1350*, 35–42. [CrossRef]
5. Guillebaud, F.; Girardet, C.; Abysique, A.; Gaigé, S.; Barbouche, R.; Verneuil, J.; Jean, A.; Leprince, J.; Tonon, M.-C.; Dallaporta, M.; et al. Glial Endozepines Inhibit Feeding-Related Autonomic Functions by Acting at the Brainstem Level. *Front. Neurosci.* **2017**, *11*, 308. [CrossRef]
6. MacDonald, A.J.; Holmes, F.E.; Beall, C.; Pickering, A.E.; Ellacott, K.L.J. Regulation of food intake by astrocytes in the brainstem dorsal vagal complex. *Glia* **2020**, *68*, 1241–1254. [CrossRef]
7. Oyamada, M.; Oyamada, Y.; Takamatsu, T. Regulation of connexin expression. *Biochim. Biophys. Acta* **2005**, *1719*, 6–23. [CrossRef]
8. Evans, W.H.; Martin, P.E.M. Gap junctions: Structure and function (Review). *Mol. Membr. Biol.* **2002**, *19*, 121–136. [CrossRef]
9. Giaume, C.; Leybaert, L.; Naus, C.C.; Sáez, J.C. Connexin and pannexin hemichannels in brain glial cells: Properties, pharmacology, and roles. *Front. Pharmacol.* **2013**, *4*, 88. [CrossRef]
10. Giaume, C.; Liu, X. From a glial syncytium to a more restricted and specific glial networking. *J. Physiol. Paris* **2012**, *106*, 34–39. [CrossRef]
11. Montero, T.D.; Orellana, J.A. Hemichannels: New pathways for gliotransmitter release. *Neuroscience* **2015**, *286*, 45–59. [CrossRef]
12. Abudara, V.; Bechberger, J.; Freitas-Andrade, M.; De Bock, M.; Wang, N.; Bultynck, G.; Naus, C.C.; Leybaert, L.; Giaume, C. The connexin43 mimetic peptide Gap19 inhibits hemichannels without altering gap junctional communication in astrocytes. *Front. Cell. Neurosci.* **2014**, *8*, 306. [CrossRef]
13. Stehberg, J.; Moraga-Amaro, R.; Salazar, C.; Becerra, A.; Echeverría, C.; Orellana, J.A.; Bultynck, G.; Ponsaerts, R.; Leybaert, L.; Simon, F.; et al. Release of gliotransmitters through astroglial connexin 43 hemichannels is necessary for fear memory consolidation in the basolateral amygdala. *FASEB J.* **2012**, *26*, 3649–3657. [CrossRef]
14. Meunier, C.; Wang, N.; Yi, C.; Dallerac, G.; Ezan, P.; Koulakoff, A.; Leybaert, L.; Giaume, C. Contribution of Astroglial Cx43 Hemichannels to the Modulation of Glutamatergic Currents by D-Serine in the Mouse Prefrontal Cortex. *J. Neurosci.* **2017**, *37*, 9064–9075.

[CrossRef]
15. Walrave, L.; Pierre, A.; Albertini, G.; Aourz, N.; De Bundel, D.; Van Eeckhaut, A.; Vinken, M.; Giaume, C.; Leybaert, L.; Smolders, I. Inhibition of astroglial connexin43 hemichannels with TAT-Gap19 exerts anticonvulsant effects in rodents. *Glia* **2018**, *66*, 1788–1804. [CrossRef]
16. Andrade, D.C.; Iturriaga, R.; Toledo, C.; Lucero, C.M.; Díaz, H.S.; Arce-Álvarez, A.; Retamal, M.A.; Marcus, N.J.; Alcayaga, J.; Del Rio, R. Topical Application of Connexin43 Hemichannel Blocker Reduces Carotid Body-Mediated Chemoreflex Drive in Rats. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2018**, *1071*, 61–68. [CrossRef] [PubMed]
17. Gaigé, S.; Djelloul, M.; Tardivel, C.; Airault, C.; Félix, B.; Jean, A.; Lebrun, B.; Troadec, J.-D.; Dallaporta, M. Modification of energy balance induced by the food contaminant T-2 toxin: A multimodal gut-to-brain connection. *Brain Behav. Immun.* **2014**, *37*, 54–72. [CrossRef] [PubMed]
18. Gundersen, H.J.; Jensen, E.B. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J. Microsci.* **1987**, *147*, 229–263. [CrossRef]
19. West, M.J.; Slomianka, L.; Gundersen, H.J. Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in thesubdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. *Anat. Rec.* **1991**, *231*, 482–497. [CrossRef] [PubMed]
20. Pecchi, E.; Dallaporta, M.; Charrier, C.; Pio, J.; Jean, A.; Moyse, E.; Troadec, J.-D. Glial fibrillary acidic protein (GFAP)-positive radial-like cells are present in the vicinity of proliferative progenitors in the nucleus tractus solitarius of adult rat. *J. Comp. Neurol.* **2007**, *501*, 353–368. [CrossRef]
21. Gundelfinger, E.D.; Reissner, C.; Garner, C.C. Role of Bassoon and Piccolo in Assembly and Molecular Organization of the Active Zone. *Front. Synaptic Neurosci.* **2015**, *7*, 19. [CrossRef] [PubMed]
22. Contreras, J.E.; Sáez, J.C.; Bukauskas, F.F.; Bennett, M.V.L. Gating and regulation of connexin 43 (Cx43) hemichannels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 11388–11393. [CrossRef] [PubMed]
23. Zhang, C. Gap junctions in olfactory neurons modulate olfactory sensitivity. *BMC Neurosci.* **2010**, *11*, 108. [CrossRef]
24. Hormuzdi, S.G.; Filippov, M.A.; Mitropoulou, G.; Monyer, H.; Bruzzone, R. Electrical synapses: A dynamic signaling system that shapes the activity of neuronal networks. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, *1662*, 113–137. [CrossRef] [PubMed]
25. Nadarajah, B.; Thomaidou, D.; Evans, W.H.; Parnavelas, J.G. Gap junctions in the adult cerebral cortex: Regional differences in their distribution and cellular expression of connexins. *J. Comp. Neurol.* **1996**, *376*, 326–342. [CrossRef]
26. Szilvásy-Szabó, A.; Varga, E.; Beliczai, Z.; Lechan, R.M.; Fekete, C. Localization of connexin 43 gap junctions and hemichannels in tanycytes of adult mice. *Brain Res.* **2017**, *1673*, 64–71. [CrossRef]
27. Recabal, A.; Elizondo-Vega, R.; Philippot, C.; Salgado, M.; López, S.; Palma, A.; Tarifeño-Saldivia, E.; Timmermann, A.; Seifert, G.; Caprile, T.; et al. Connexin-43 Gap Junctions Are Responsible for the Hypothalamic Tanycyte-Coupled Network. *Front. Cell. Neurosci.* **2018**, *12*. [CrossRef] [PubMed]
28. Pogoda, K.; Kameritsch, P.; Retamal, M.A.; Vega, J.L. Regulation of gap junction channels and hemichannelsby phosphorylation and redox changes: A revision. *BMC Cell Biol.* **2016**, *17* (Suppl. 1), 11. [CrossRef]
29. Ahima, R.S.; Prabakaran, D.; Mantzoros, C.; Qu, D.; Lowell, B.; Maratos-Flier, E.; Flier, J.S. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature* **1996**, *382*, 250–252. [CrossRef]
30. Routh, V.H. Glucose sensing neurons in the ventromedial hypothalamus. *Sensors* **2010**, *10*, 9002–9025. [CrossRef]
31. Pogoda, K.; Kameritsch, P.; Mannell, H.; Pohl, U. Connexins in the control of vasomotor function. *Acta Physiol.* **2019**, *225*, e13108. [CrossRef]
32. Abudara, V.; Retamal, M.A.; Del Rio, R.; Orellana, J.A. Synaptic Functions of Hemichannels and Pannexons: A Double-Edged Sword. *Front. Mol. Neurosci.* **2018**, *11*, 435. [CrossRef]
33. Chever, O.; Lee, C.-Y.; Rouach, N. Astroglial connexin43 hemichannels tune basal excitatory synaptic transmission. *J. Neurosci.* **2014**, *34*, 11228–11232. [CrossRef] [PubMed]
34. Chever, O.; Pannasch, U.; Ezan, P.; Rouach,

N. Astroglial connexin 43 sustains glutamatergic synaptic efficacy. *Philos. Trans. R Soc. B Biol. Sci.* **2014**, *369*, 20130596. [CrossRef] [PubMed]

35. Sipe, J.C.; Moore, R.Y. Astrocytic gap junctions in the rat lateral hypothalamic area. *Anat. Rec.* **1976**, *185*,247–251. [CrossRef] [PubMed]
36. Genoud, C.; Houades, V.; Kraftsik, R.; Welker, E.; Giaume, C. Proximity of excitatory synapses and astroglial gap junctions in layer IV of the mouse barrel cortex. *Neuroscience* **2015**, *291*, 241–249. [CrossRef]
37. Gump, J.M.; Dowdy, S.F. TAT transduction: The molecular mechanism and therapeutic prospects. *Trends Mol. Med.* **2007**, *13*, 443–448. [CrossRef] [PubMed]
38. Dallaporta, M.; Pecchi, E.; Pio, J.; Jean, A.; Horner, K.C.; Troadec, J.D. Expression of leptin receptor by glial cells of the nucleus tractus solitarius: Possible involvement in energy homeostasis. *J. Neuroendocr.* **2009**, *21*, 57–67. [CrossRef]
39. Girardet, C.; Bonnet, M.S.; Jdir, R.; Sadoud, M.; Thirion, S.; Tardivel, C.; Roux, J.; Lebrun,B.; Mounien, L.; Trouslard, J.; et al. Central inflammation and sickness-like behavior induced by the food contaminant deoxynivalenol: A PGE2-independent mechanism. *Toxicol. Sci.* **2011**, *124*, 179–191. [CrossRef]
40. Allard, C.; Carneiro, L.; Grall, S.; Cline, B.H.; Fioramonti, X.; Chrétien, C.; Baba-Aissa, F.; Giaume, C.; Pénicaud, L.; Leloup, C. Hypothalamic astroglial connexins are required for brain glucose sensing-induced insulin secretion. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **2014**, *34*, 339–346. [CrossRef]
41. Dragunow, M.; Faull, R. The use of c-Fos as a metabolic marker in neuronal pathway tracing. *J. Neurosci. Methods* **1989**, *29*, 261–265. [CrossRef]
42. Rouquet, T.; Clément, P.; Gaigé, S.; Tardivel, C.; Roux, J.; Dallaporta, M.; Bariohay, B.; Troadec, J.-D.; Lebrun, B. Acute oral metformin enhances satiation and activates brainstem nesfatinergic neurons. *Obesity* **2014**, *22*,2552–2562. [CrossRef] [PubMed]
43. MacDonald, A.J.; Robb, J.L.; Morrissey, N.A.; Beall, C.; Ellacott, K.L.J. Astrocytes in neuroendocrine systems:An overview. *J. Neuroendocr.* **2019**, *31*, e12726. [CrossRef] [PubMed]
44. Sahlender, D.A.; Savtchouk, I.; Volterra, A. What do we know about gliotransmitter release from astrocytes? *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **2014**, *369*, 20130592. [CrossRef]
45. Huckstepp, R.T.R.; Id Bihi, R.; Eason, R.; Spyer, K.M.; Dicke, N.; Willecke, K.; Marina, N.; Gourine, A.V.; Dale, N. Connexin hemichannel-mediated CO_2-dependent release of ATP in the medulla oblongata contributes to central respiratory chemosensitivity. *J. Physiol.* **2010**, *588*, 3901–3920. [CrossRef]
46. He, W.; Wu, G. Metabolism of Amino Acids in the Brain and Their Roles in Regulating Food Intake. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2020**, *1265*, 167–185. [CrossRef]
47. Stanley, B.G.; Urstadt, K.R.; Charles, J.R.; Kee, T. Glutamate and GABA in lateral hypothalamic mechanisms controlling food intake. *Physiol. Behav.* **2011**, *104*, 40–46. [CrossRef]
48. Colldén, G.; Mangano, C.; Meister, B. P2X2 purinoreceptor protein in hypothalamic neurons associated with the regulation of food intake. *Neuroscience* **2010**, *171*, 62–78. [CrossRef]
49. Kittner, H.; Franke, H.; Harsch, J.I.; El-Ashmawy, I.M.; Seidel, B.; Krügel, U.; Illes, P. Enhanced food intake after stimulation of hypothalamic P2Y1 receptors in rats: Modulation of feeding behaviour by extracellular nucleotides. *Eur. J. Neurosci.* **2006**, *24*, 2049–2056. [CrossRef]
50. Durkee, C.A.; Araque, A. Diversity and Specificity of Astrocyte-neuron Communication. *Neuroscience* **2019**, *396*, 73–78. [CrossRef]
51. Prevot, V.; Dehouck, B.; Sharif, A.; Ciofi, P.; Giacobini, P.; Clasadonte, J. The Versatile Tanycyte: A Hypothalamic Integrator of Reproduction and Energy Metabolism. *Endocr. Rev.* **2018**, *39*, 333–368. [CrossRef]
52. Elizondo-Vega, R.J.; Recabal, A.; Oyarce, K. Nutrient Sensing by Hypothalamic Tanycytes. *Front. Endocrinol.* **2019**, *10*. [CrossRef] [PubMed]

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutionalaffiliations.



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

V.3 - Gaigé S et al. (2022)_Article

Gaige S, Barbouche R, **Barbot M**, Boularand S, Dallaporta M, Abysique A, Troadec JD. Constitutively active microglial populations limit anorexia induced by the food contaminant deoxynivalenol. J Neuroinflammation. 2022 Nov 19;19(1):280. doi: 10.1186/s12974-022-02631-7. PMID: 36403004; PMCID: PMC9675145.

Gaige *et al. Journal of Neuroinflammation* (2022) 19:280
https://doi.org/10.1186/s12974-022-02631-7

Journal of Neuroinflammation

RESEARCH Open Access

Constitutively active microglial populations limit anorexia induced by the food contaminant deoxynivalenol

Stéphanie Gaige[1†], Rym Barbouche[1†], Manon Barbot[1], Sarah Boularand[2], Michel Dallaporta[1], Anne Abysique[1*] and Jean-Denis Troadec[1*]

Abstract

Microglia are involved in neuroinflammatory processes during diverse pathophysiological conditions. To date, the possible contribution of these cells to deoxynivalenol (DON)-induced brain inflammation and anorexia has not yet been evaluated. DON, one of the most abundant trichothecenes found in cereals, has been implicated in mycotoxicosis in both humans and farm animals. DON-induced toxicity is characterized by reduced food intake, weight gain, and immunological effects. We previously showed that exposure to DON induces an inflammatory response within the hypothalamus and dorsal vagal complex (DVC) which contributes to DON-induced anorexia. Here, in response to anorectic DON doses, we reported microglial activation within two circumventricular organs (CVOs), the area postrema (AP) and median eminence (ME) located in the DVC and the hypothalamus, respectively. Interestingly, this microglial activation was observed while DON-induced anorexia was ongoing (i.e., 3 and 6 h after DON administration). Next, we took advantage of pharmacological microglia deletion using PLX3397, a colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R)-inhibitor. Surprisingly, microglia-depleted mice exhibited an increased sensitivity to DON since non-anorectic DON doses reduced food intake in PLX3397-treated mice. Moreover, low DON doses induced c-Fos expression within feeding behavior-associated structures in PLX3397-treated mice but not in control mice. In parallel, we have highlighted heterogeneity in the phenotype of microglial cells present in and around the AP and ME of control animals. In these areas, microglial subpopulations expressed Iba1, TMEM119, CD11b and CD68 to varying degrees. In addition, a CD68 positive subpopulation showed, under resting conditions, a noticeable phagocytotic/endocytotic activity. We observed that DON strongly reduced CD68 in the hypothalamus and DVC. Finally, inactivation of constitutively active microglia by intraperitoneal administration of minocycline resulted in anorexia with a DON dose ineffective in control mice. Taken together, these results strongly suggest that various populations of microglial cells residing in and around the CVOs are maintained in a functionally active state even under physiological conditions. We propose that these microglial cell populations are attempting to protect the brain parenchyma from hazardous molecules coming from the blood. This study could contribute to a better understanding of how microglia respond to environmental contaminants.

Keywords: Brainstem; CD11b; CD68; Circumventricular organs; Hypothalamus; Iba1; Minocycline; Mycotoxin; PLX3397; TMEM119.

V.4 - Lebrun et al. (2020)_Revue de la littérature

Lebrun B, **Barbot M**, Tonon MC, Prévot V, Leprince J, Troadec JD. Glial endozepines and energy balance: Old peptides with new tricks. Glia. 2021 May;69(5):1079-1093. doi: 10.1002/glia.23927. Epub 2020 Oct 26. PMID: 33105065.

Received: 11 August 2020 | Revised: 9 October 2020 | Accepted: 9 October 2020

DOI: 10.1002/glia.23927

GLIA

WILEY

REVIEW ARTICLE

Glial endozepines and energy balance: Old peptides with new tricks

Bruno Lebrun[1] | Manon Barbot[1] | Marie-Christine Tonon[2] | Vincent Prévot[3] | Jérôme Leprince[2] | Jean-Denis Troadec[1]

V.4.1 - Abstract

The contribution of neuroglial interactions to the regulation of energy balance has gained increasing acceptance in recent years. In this context, endozepines, endogenous analogs of benzodiazepine derived from diazepam-binding inhibitor, are now emerging as major players. Produced by glial cells (astrocytes and tanycytes), endozepines have been known for two decades to exert potent anorexigenic effects by acting at the hypothalamic level. However, it is only recently that their modes of action, including the mechanisms by which they modulate energy metabolism, have begun to be elucidated. The data available today are abundant, significant, and sometimes contradictory, revealing a much more complex regulation than initially expected. Several mechanisms of action of endozepines seem to coexist at the central level, particularly in the hypothalamus. The brainstem has also recently emerged as a potential site of action for endozepines. In addition to their central anorexigenic effects, endozepines may also display peripheral effects promoting orexigenic actions, adding to their complexity and raising yet more questions. In this review, we attempt to provide an overview of our current knowledge in this rapidly evolving field and to pinpoint questions that remain unanswered.

Keywords: ACBP; astrocytes; autophagy; brainstem; diazepam-binding inhibitor; energy metabolism; hypothalamus; leptin; octadecaneuropeptide; tanycytes.

V.5 - Troadec et al. (2022)_Revue de la littérature

Troadec JD, Gaigé S, **Barbot M**, Lebrun B, Barbouche R, Abysique A. Glial Modulation of Energy Balance: The Dorsal Vagal Complex Is No Exception. Int J Mol Sci. 2022 Jan 16;23(2):960. doi: 10.3390/ijms23020960. PMID: 35055143; PMCID: PMC8779587.



Review

Glial Modulation of Energy Balance: The Dorsal Vagal Complex Is No Exception

Jean-Denis Troadec *, Stéphanie Gaigé, Manon Barbot, Bruno Lebrun, Rym Barbouche and Anne Abysique *

V.5.1 - Abstract

The avoidance of being overweight or obese is a daily challenge for a growing number of people. The growing proportion of people suffering from a nutritional imbalance in many parts of the world exemplifies this challenge and emphasizes the need for a better understanding of the mechanisms that regulate nutritional balance. Until recently, research on the central regulation of food intake primarily focused on neuronal signaling, with little attention paid to the role of glial cells. Over the last few decades, our understanding of glial cells has changed dramatically. These cells are increasingly regarded as important neuronal partners, contributing not just to cerebral homeostasis, but also to cerebral signaling. Our understanding of the central regulation of energy balance is part of this (r)evolution. Evidence is accumulating that glial cells play a dynamic role in the modulation of energy balance. In the present review, we summarize recent data indicating that the multifaceted glial compartment of the brainstem dorsal vagal complex (DVC) should be considered in research aimed at identifying feeding-related processes operating at this level.

Keywords: NTS; area postrema; astrocytes; food intake; glucose; leptin; metabolism; microglia; obesity; oligodendrocytes; vagliocytes.