HAL open science

Neuropeptide Y et préférences alimentaires chez le rat adulte. Influence des conditions nutritionnelles pré et post-natales

Rouba Kozak

To cite this version:

Rouba Kozak. Neuropeptide Y et préférences alimentaires chez le rat adulte. Influence des conditions nutritionnelles pré et post-natales. Médecine humaine et pathologie. Université Henri Poincaré - Nancy 1, 1999. Français. NNT : 1999NAN10105 . tel-01747524

HAL Id: tel-01747524

https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01747524

Submitted on 29 Mar 2018

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

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

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

Faculté des Sciences
U.F.R. Sciences & Techniques Biologiques
Ecole Doctorale Biologie & Santé

S.C.D. U.H.P. NANCY 1 SCIENCES BIBLIOTHÈQUE

Thèse

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE HENRI POINCARE, NANCY-I

en

NEUROSCIENCES et COMPORTEMENT

par

Melle Rouba KOZAK

Neuropeptide Y et préférences alimentaires chez le rat adulte. Influences des conditions nutritionnelles pré et post-natales.

Soutenue publiquement devant la commission d'examen le 20 Mai 1999, à 14 h, salle des thèses de la faculté des sciences.

Membres du Jury :

M. Fantino	Rapporteur	Professeur
M. Orosco	Rapporteur	Chargé de recherches INSERM
J. Abraini	Examinateur	Professeur
B. Beck	Examinateur	Chargé de recherches INSERM Directeur de thèse
C. Burlet	Examinateur	Professeur

INSERM U 308, 38 rue lionnois - 54000 Nancy

Ce travail a été effectué au sein de l'équipe de recherches sur les "Déterminants Neurobiologiques du Comportement Alimentaire" de l'INSERM Unité 308.

Je tiens à remercier Monsieur le professeur Claude Burlet pour m'avoir accueillie dans son équipe et pour m'avoir aidée à mener à bien ce travail.

Je suis très reconnaissante au Docteur Bernard Beck pour son aide si efficace et son entière disponibilité. Je le remercie également pour ses qualités humaines et son soutien moral.

Mes remerciement vont également au Docteur Martine Orosco et au professeur Marc Fantino qui ont accepté la lourde tâche de rapporteur,

A Monsieur le professeur Jacques Abraini pour avoir accepté de juger la qualité de ce travail,

Au Docteur Arlette Burlet pour sa participation effective et ses judicieux conseils,

Au Docteur Alain Stricker-Krongrad pour m'avoir transmis la technique de push- pull,

Au Docteur Julian Mercer pour la mesure de l'expression de l'ARNm du NPY ,ce qui nous a été très utile.

A Madame Françoise Bergerot et Mademoiselle Brigitte Fernette, à Monsieur Francesco Giannangeli et au Docteur Jean Pierre Max pour leur contribution dans de nombreuses étapes de ce travail,

Aux étudiants qui, par leur sympathie et leur témoignage d'amitié, m'ont permis de mener à terme ce travail.

J' exprime ma gratitude à l'ensemble des personnes de l'Unité 308 de l'INSERM qui m'ont aimablement accueillie.

Que Monsieur Michel Goulmy trouve ici le temoignage de mon amitié pour son soutien tant moral que matériel.

A tous les amis rencontrés en France qui m'ont appris qu'il n'y a pas besoin de beaucoup de bagages pour partir dans la vie, il suffit d'aimer.

A ma famille qui, malgré la distance, a toujours su rester présente.

Notre travail tente de faire le lien entre conditions alimentaires précoces, profil des préférences alimentaires et étude dynamique des systèmes à neuropeptide Y (NPY) au niveau de l'hypothalamus au cours de la vie. Des descendants de mères soumises à deux régimes déséquilibrés riches en glucides ou en lipides pendant la gestation et l'allaitement ont été comparés aux descendants de mères ayant ingéré un régime équilibré.

Nous avons dans un premier temps suivi la croissance des descendants mâles, depuis la naissance jusqu'à l'âge adulte. Les petits de mères nourries avec un régime hyperglucidique (HC) ont une courbe de développement comparable à celle de ceux nés de mères nourries avec un régime équilibré; en revanche, les petits nés de mères nourries avec un régime hyperlipidique (HF) montrent un déficit pondéral persistant. Une hypoinsulinémie accompagnée d'une hypoglycémie a été observée au sevrage chez ce groupe, celles-ci étant corrigées à l'âge adulte.

Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à l'évolution des préférences alimentaires de nos groupes à différentes périodes. Chez le groupe contrôle, on a constaté que la préférence est plutôt glucidique. Elle se forme à partir de 30 jours. En revanche, les deux autres groupes ne montrent encore aucune préférence à trente jours; celle-ci s'installe plus tardivement : à trois mois pour le groupe HC, à 4 mois pour le groupe HF. Par ailleurs, des changements du rythme nycthéméral de la consommation de chaque macronutriment ont été constatés chez les groupes HC et HF.

En ce qui concerne le NPY, aucun changement de concentration n'a été noté au sevrage ou à l'âge adulte dans son axe principal d'action formé par les noyaux arqués et paraventriculaires. Au sevrage, sa concentration augmente par contre significativement dans le noyau ventromédian (centre de satiété) chez les groupes HC et HF par rapport au groupe contrôle. Ce phénomène disparaît à l'âge adulte. Cependant, le système à NPY reste perturbé à cet âge ainsi que le montrent les études relative à la réactivité du système aux injections exogènes de NPY et à la mesure de sa libération hypothalamique in vivo.

L'étude de la réactivité à l'injection centrale de NPY a montré que par rapport au groupe contrôle, le groupe HF montre une sensibilité plus élevée à l'injection centrale de NPY, tandis que celle de groupe HC est plus faible. L'étude dynamique de la libération de NPY par la technique de "push-pull" intracérébrale montre que suite à l'administration périphérique de 2-deoxy-glucose bloquant l'utilisation intracellulaire de glucose, seul le groupe HC réagit par une augmentation de libération de NPY. Par contre, l'injection de mercaptoacétate, bloquant l'oxydation des acides gras au niveau des mitochondries n'affecte pas ce groupe, alors que le groupe HF montre une augmentation de la libération de NPY. Ces perturbations ne sont pas de même nature selon les groupes considérés et ne trouvent pas la même explication : si, dans le groupe HF elles peuvent provenir des différents désordres physiologiques, ce n'est pas le cas dans le groupe HC.

Il apparaît très vraisemblable qu'un mécanisme d'adaptation a tenté de se mettre en place pour corriger les changements induits par l'environnement nutritionnel anormal au cours du développement. Ceci a été facilité par le fait qu'après le sevrage, l'ensemble des rats a bénéficié d'un régime équilibré. Cette adaptation est plus facile dans le groupe HC.

En extrapolant ces résultats à l'homme, nous pouvons supposer qu'une prédisposition à des troubles métaboliques et à l'obésité provoquée par le déséquilibre alimentaire maternel peut être inhibée grâce à un régime alimentaire équilibré, même si cette "correction" reste sans doute fragile.

The aim of this study was to establish whether or not a link can be made between nutritional conditions in early life, food preferences and hypothalamic NPY system functioning (NPY) throughout life.

The offspring of dams fed on unbalanced diet, either a high carbohydrat diet (HC) or a high fat diet (HF), during the gestation and lactation periods were compared to rats obtained from dams fed on a well-balanced diet (C).

First, we studied the growth of male offspring from birth until adulthood. The growth of the HC group was similar to the control group. The HF rats weighed less than the other groups at birth, and this difference persisted, until later in life. At weaning, hypoinsulinemia and hypoglycaemia was established in the HF group in comparison to the C and HC groups. These differences disappear at adulthood.

After that, we studied the evolution of diet preferences in the three groups at different stages of development. The control group did indeed show a preference for the carbohydrate diet from the 30th day of life. Such a preference was not observed in the two other groups at 30 days of age, but it appeared later in life, at 3 months for the HC group and 4 months for the HF group. In addition the nycthemeral rhythm of the consumption of each macronutriment was modified in the HC and HF groups, in comparison to the C group.

Concerning the NPY system, the principal hypothalamic axis of NPY action formed by the arcuate and paraventricular nucleus (ARC-PVN) seemed to be unaltered at weaning and during adulthood, with respect to its NPY concentration and mRNA expression. At weaning, in the ventromedian nucleus (center of satiety), the NPY was abnormally high in the HC and HF groups. This phenomenon disappeared at adulthood. However, the NPY system remained altered in adulthood, as is shown by the alteration of the reactivity of the NPY system after central NPY injection and the study of hypothalamic release of NPY in vivo.

The study of the reactivity to NPY injection showed that, at adulthood, the HC rats were less sensitive to exogenous NPY than the two other groups, while the HF group was particularly sensitive. The dynamic study by push-pull technique showed that, after intraperitoneal 2-Deoxy-Glucose injection, which stops glucose utilization, the HC group reacted by increasing NPY liberation. On the contrary, the injection of mercaptoacetate, which stops fatty acid oxidation in mitochondria, did not have any effect on this group, but induced increased NPY release in the HF group.

Therefore, the NPY system is differently modified in the HC and the HF group, and these alterations are not due to the same reasons : They can be induced by physiological disorders in the HF group, but not in the HC group.

To a certain extent, we can consider that an adaptative mechanism occured in early life as a means to counteract the unbalanced diet. Well-balanced diet given to the offsprings after weaning facilitated this process, particularly in the HC group. By extrapolating these results in man, we can venture to say that the predisposition to metabolic disorders caused by mother's unbalanced diet can be partly corrected thanks to a well-balanced diet, even if this "correction" undoubtedly remains fragile.

Abbréviations

ACC : noyau accumbens
AH : aire hypothalamique
A.P. : Antéro-postériorite
APP : avian pancreatic olypeptide
ARC : noyau arqué
C : régime contrôle
CX : cortex pariétal (zone témoin)
2DG : 2-déoxy-glucose
EM : éminence médiane
F : jour de la vie foetale
HC : régime hyperglucidique poudre
HF : régime hyperlipidique poudre
HL : hypothalamus latéral
HPP : human pancreatic polypeptide
ICV : intracérébroventriculaire
Inj : injection
IRI : Insuline immunoréactive
J : jour
L : latéralité
LCR : liquide céphalo-rachidien
LPO : aire préoptique latérale
MPO : aire préoptique médiane
N : nuit
NDM : noyau dorsomédian
NPV : noyau paraventriculaire
NPY : neuropeptide Y
NSC : noyau suprachiasmatique
NSO : noyau supraoptique
NVM : noyau ventromédian
P : paraffine
P.P.P. : Perfusion push-pull
P.V.C. : polychlorure de vinyle
PYY: polypeptide YY
RG : règime liquide riche en glucides
RL : règime liquide riche en lipides
S : saccharine
VIP : Vasoactive intestinal peptide

Table des matières

I. Introduction et but du travail 1

II. Rappels bibliographiques 7

II. 1. Changements nutritionnels et hormonaux durant le développement 8

II. 2. Neuropeptide Y 10

II. 2. 1. Ontogenèse 10

II. 2. 1.1.Développement du système nerveux central 10
II. 2. 1.2. Ontogenèse du NPY et de ses récepteurs 10
II. 2. 1.3. Colocalisations du NPY avec d'autres neuromodulateurs de la prise alimentaire 15

II. 2. 2. Distribution centrale du NPY 16

III. Plan expérimental 18

IV. Matériel et méthodes 22

IV.1. Modèle animal 23

IV. 2. Techniques physiologiques expérimentales 23

IV. 2. 1. Mesure du comportement alimentaire 23

IV. 2. 1. 1. Composition des régimes alimentaires 23
IV. 2. 1.2. Mesure des paramètres de la prise alimentaire 24
IV. 2. 1.3. Protocoles des tests de préférences 25

IV. 3. Méthodes d'exploration du système à neuropeptide Y 26

IV. 3. 1. Chirurgie stéréotaxique 26

IV. 3. 1. 1. Localisations intracérébrales 26

IV. 3. 1. 2. Approche stéréotaxique 28

IV. 3. 1. 4. Systèmes d'implantation et types de canules 30

IV. 3. 2. Mesure de la réactivité comportementale des descendants à des injections intracérébroventriculaires de NPY 33

IV. 3. 3. Etude par canulation push-pull des libérations de NPY au niveau des noyaux paraventriculaires 33

IV. 4. Euthanasie 41

IV. 5. Microdissection des structures nerveuses 41

IV. 5. 1. Prélèvement des structures 41

IV. 5.1. Détermination de la taille des échantillons 42

IV. 6. Dosages 42

IV.6. 1. Neuropeptide Y 42

IV. 6.2. Insuline 43

IV. 6.3. Autres dosages 43

IV. 7. Méthodes statistiques 44

V. Résultats 45

V. 1. Paramètres maternels 46

V. 1. 1. Poids maternel durant la période de gestation et de lactation 46

V. 1. 2. Prise alimentaire maternelle durant la période de lactation 46

V. 1.3. Paramètres plasmatiques maternels 48

V. 1.4. Performance maternelle 48

V. 2. Etude sur les descendants 50

V. 2. 1. Paramètres physiologiques 50

V. 2. 1. 1. Influence de la composition du régime maternel sur le poids corporel des descendants 50

V. 2. 1. 2. Influence de la composition du régime maternel sur certains paramètres plasmatiques des descendants 50

V. 2. 1. 3. Consommation de régime équilibré chez les jeunes rats et les rats adultes de deux groupes expérimentaux en comparaison de rats contrôles 52

V. 2. 1. 4. Mesure des tissus adipeux 56

V. 2. 2. Etude des préférences alimentaires 56

V. 2. 2. 1. Tests de choix aigus 56

V.2.2.1.a. Influence de la palatabilité sucré dans le test de choix aigu 61

V.2.2.1.b. Influence de la palatabilité lipidique dans le test de choix aigu 65

V. 2. 2. 2. Test de saveur sucrée 69

V. 2. 2.3 . Tests de choix entre régimes contrastés 74

V. 2. 3. Etudes au niveau du système NPYergique 91

V. 2.3.1. Mesure de la concentration de NPY au niveau de l'hypothalamus 91

V. 2. 3.2. Mesure de la prise alimentaire après injection de différentes doses de NPY chez des rats adultes des trois groupes 94

V. 2. 3.3. Etude par canulation push-pull des libérations de NPY au niveau des noyaux paraventriculaires 96

VI . Discussion 105

VII. Conclusion générale 118

VII. Bibliographie 122

I. Introduction et but du travail

Dans les pays industrialisés, la fréquence de l'obésité est élevée. En France, 4 millions de personnes adultes ont une surcharge pondérale. L'importance de la mortalité due au diabète, à l'obésité et aux maladies cardiovasculaires y est de plus en plus inquiétante (De Gennes et al., 1972 ; Strasser et al., 1972 ; Walter et al., 1980). Le traitement de l'obésité a souvent été envisagé en terme de restriction calorique ; des résultats spectaculaires ont pu et peuvent être obtenus à court et à moyen terme. Cependant, sur le long terme, les résultats débouchent souvent sur un constat d'échec.

Depuis une vingtaine d'années, la recherche s'oriente sur le rôle du système nerveux central dans la régulation pondérale. Parmi les régions impliquées dans la régulation pondérale, l'hypothalamus est considéré aujourd'hui comme la plus importante (Hetherington et Ranson, 1940 ; Anand et Brobeck, 1940). Son rôle dans le contrôle du comportement alimentaire a été bien identifié.

Les études basées sur les lésions cérébrales provoquées chez plusieurs espèces animales ont mis en évidence l'implication de différents centres nerveux dans la régulation de la satiété, de la faim, des aversions et des préférences alimentaires.

L'hypothalamus ventromédian est impliqué dans la régulation de la satiété, alors que l'hypothalamus latéral est impliqué dans le processus de faim (Hetherington et Ranson, 1940).

A ces deux centres s'ajoutent les noyaux suprachiasmatiques et paraventriculaires (Leibowitz et al., 1981 ; Stanley et al., 1985). Depuis les années 60 jusqu'à aujourd'hui, des études continuent de découvrir l'existence dans ces noyaux d'un nombre toujours plus important de neuropeptides. L'hypothalamus devient ainsi une unité intégrative de réception et d'organisation des différents signaux relatifs à l'alimentation et à son ingestion.

Parmi les neuropeptides, l'intérêt est focalisé depuis des années sur le neuropeptide tyrosine, ou neuropeptide Y, qui appartient à la famille des polypeptides pancréatiques. Il est caractérisé par la présence de tyrosine aux extrémités N et C terminales. C'est un peptide de 36 acides aminés très riche en tyrosine, isolé par Tatemoto en 1982a,b ; sa structure est quasiment inchangée au cours de l'évolution (Bloomquist et al., 1992). Il est presque identique (93 %) chez l'homme, le rat, le cobaye et le lapin (Allen et al., 1984 ; Corder et al., 1988). Sa distribution ubiquitaire reflète son rôle dans de nombreux systèmes de communication interneuronale. S'il figure, en effet, parmi les peptides les plus abondants au niveau cérébral, sa concentration est particulièrement forte dans l'hypothalamus et moins élevée dans le cervelet (Chronwall et al., 1985). Son rôle dans la régulation de la prise alimentaire est sa fonction la mieux établie (White, 1993 ; Stanley et Thomas ; 1993). Lorsqu'il est injecté dans le ventricule latéral ou dans d'autres noyaux hypothalamiques, il stimule la prise alimentaire, même chez les animaux rassasiés (Levine et Morley, 1987 ; Leibowitz et al., 1988). Le NPY est également impliqué dans les préférences alimentaires ; il oriente de façon préférentielle le choix alimentaire du rat vers les régimes glucidiques (Stanley , 1985 ; Leibowitz, 1990 ; Beck et al., 1992).

Récemment, il a été mis en évidence que le statut nutritionnel (jeûne, renutrition) et la composition des régimes alimentaires influent sur la concentration hypothalamique de NPY

(Sahu et al., 1989 ; Beck et al., 1990). L'axe principal à l'action du NPY est constitué par les noyaux arqués et les noyaux paraventriculaires. Les noyaux arqués constituent le lieu de synthèse du NPY d'où partent de nombreuses efférences à destination des noyaux paraventriculaires (Sahu et al., 1988b ; Beck et al., 1990). Les bases neuroanatomiques de la préférence alimentaire montrent l'importance du NPY dans l'hypothalamus, et particulièrement dans deux sites : le noyau ventromédian et les noyaux paraventriculaires (Kanarek al., 1981 ; Sclafani et al., 1983). Notre laboratoire a montré l'existence d'une corrélation inverse entre d'une part la concentration de NPY dans les noyaux paraventriculaires (et plus particulièrement dans sa partie parvocellulaire), et d'autre part le rapport d'énergie apportée par les glucides ou les lipides (Beck et al., 1993).

Les rats à préférence marquée pour les glucides ont un taux central de NPY plus faible que celui des animaux préférant les lipides pendant la période diurne qui correspond à une phase d'inactivité dans le comportement alimentaire (Stricker-Krongrad et al., 1992). Le NPY interagit de façon permanente avec des facteurs périphériques circulants tels que l'insuline ou la leptine. L'insuline, hormone qui joue un rôle crucial dans les processus anaboliques, est fortement influencée par le régime ingéré (Schwartz et al., 1992). Elle interagit avec le NPY par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques localisés dans les noyaux arqués et paraventriculaires (Schwartz et al., 1992). Elle informe aussi le système NPYergique sur l'état de faim ou de satiété. La leptine, quant à elle, est émise, synthétisée dans le tissu adipeux et participe également à la régulation de synthèse du NPY. L'on a ainsi démontré que les neurones à NPY des noyaux arqués sont l'un des premiers sites d'action de la leptine (Mercer et al., 1996) (figure 1). Même si son rôle est primordial, le NPY n'est pas le seul neuropeptide impliqué dans la régulation du comportement alimentaire. Il s'agit en fait d'un système multifactoriel où interviennent de nombreux neuropeptides tels que la galanine, la neurotensine,(...). Il existe entre eux un équilibre dynamique susceptible d'être perturbé par l'altération d'un seul peptide. Cette complexité rend très difficile la recherche de solutions pharmacologiques efficaces (antagonistes, antisera, oligonucléotides antisens) pour normaliser les perturbations du comportement alimentaire.

A cela s'ajoute la multiplicité des récepteurs propres à chaque neuropeptide. Pour le neuropeptide Y, on en a dénombré 6 (Y_1 à Y_6) (Lundell et al., 1995 ; Gerald et al., 1996 ; Weinberg et al., 1996), classés en fonction de leur affinité pour différents ligands NPY-like ; tous sont clonés sauf Y_3. L'analyse des séquences montre une divergence importante dans la structure primaire avec seulement 30 à 40 % d'homologie. Ils transmettent leur réponse par l'intermédiaire des protéines G et en inhibant l'accumulation de l'AMP cyclique. En ce qui concerne le comportement alimentaire, seuls les sous-types Y_1 et Y_5 sont impliqués (McLaughlin et al., 1991 ; Bloomquist et al., 1992).

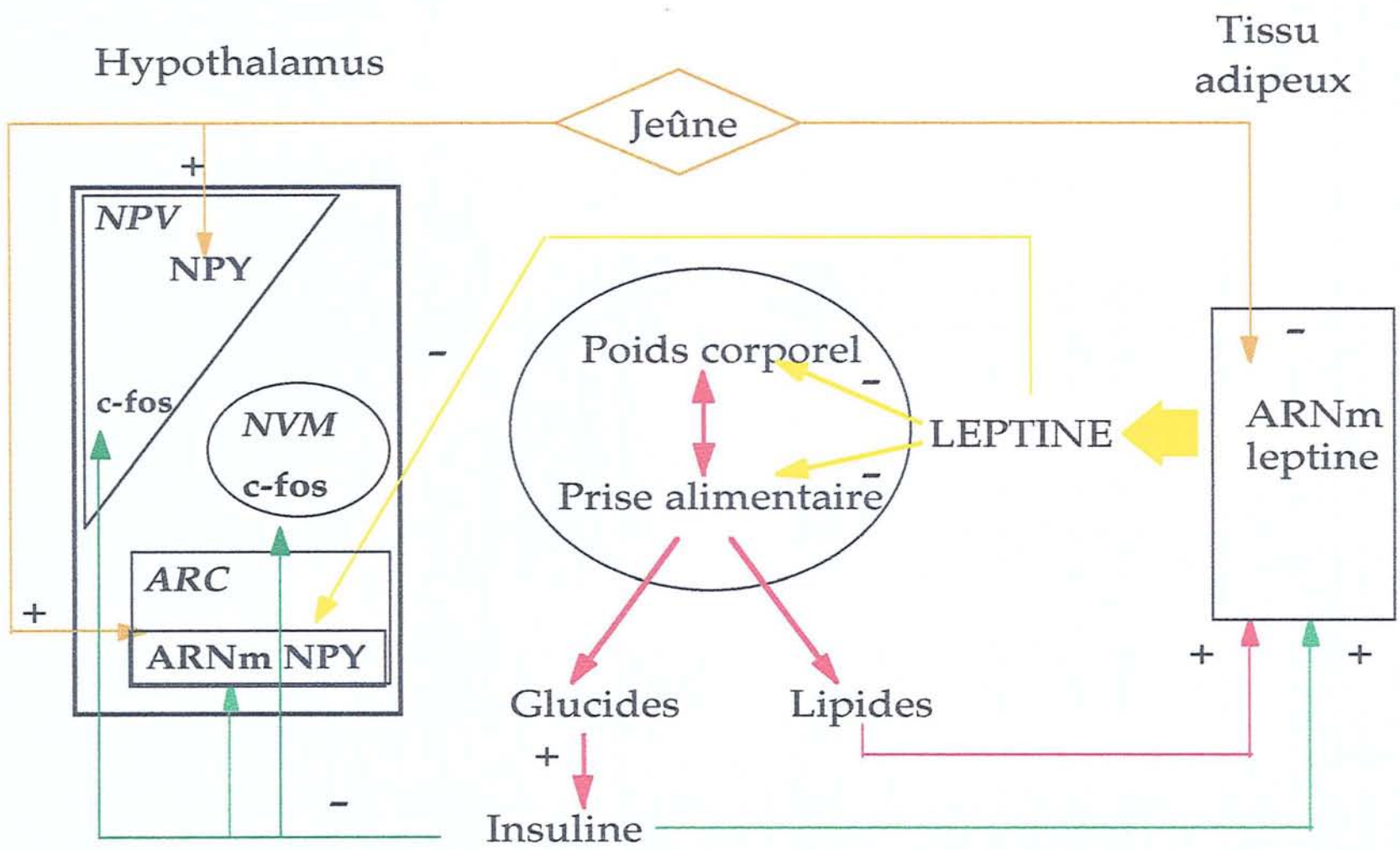


Figure 1: Relations entre facteurs périphériques et neuropeptide Y (NPY) dans la communication entre le tissu adipeux et différents noyaux hypothalamiques (NPV, NVM , ARC) (D'après B. Beck, 1997).

Ils se lient tous deux à la molécule 1-36 entière du NPY, mais Y_5 montre une plus grande affinité pour la fraction 2-36, qui est également orexigène. Tout ceci laisse entrevoir la difficulté de trouver une solution pharmacologique pour la recherche d'antagonistes efficaces, et nous incite à privilégier pour l'heure une approche préventive. On sait en effet que 60 % des cas d'obésité sont dus à l'environnement et à l'excès de prise alimentaire. L'ingestion d'une alimentation déséquilibrée, soit hyperglucidique, soit hyperlipidique, a pour conséquence une prise de poids accompagnée ou non de troubles métaboliques et hormonaux périphériques, tels que l'hyperglycémie, et l'insulinorésistance. Ces conséquences sont encore aggravées si ce régime alimentaire est administré pendant la période de croissance précoce (période prénatale ou postnatale). Il existe déjà dans la littérature plusieurs arguments qui tendent à démontrer l'influence d'un régime nutritionnel déséquilibré durant la période foetale et la prime enfance sur la croissance et le développement de l'obésité à l'âge adulte (Lemonnier et al., 1973 ; Ravelli et al., 1976 ; Aubert et al., 1980 ; Oscai et al., 1984 ; Resinck et al., 1984 ; Koski et al., 1986a ; 1986b ; Fujii et al., 1993 ; Vadlamudi et al., 1993 ; Longley-Evans et al., 1994 ; Lanoue et al., 1994 ; Ghusain-Choueiri et al., 1995 ; Laychock et al., 1995 ;Jackson et al., 1996a). Cet effet est durable, et persiste pendant plusieurs générations (Vadlamudi et al., 1995). C'est également durant cette période que se différencient d'une part le système peptidergique hypothalamique (Hôkfelt et al., 1991), et d'autre part les caractéristiques futures du tissu adipeux (Rolland-Cachera et al., 1982). Ces deux facteurs, central et périphérique, sont impliqués dans la régulation pondérale :

- chez le rat Zucker génétiquement obèse, une dérégulation peptidergique a été observée dès le plus jeune âge (Beck et al., 1993).

- l'injection, dans les jours qui suivent la naissance, de glutamate de sodium (un additif alimentaire très utilisé) induit une dégénérescence des neurones, en particulier dans les noyaux arqués sites d'action principaux du NPY. Elle entraîne aussi une forme particulière d'obésité caractérisée par une augmentation de la masse grasse sans surpoids (Olney et al., 1969) et des choix alimentaires différentiés à l'âge adulte (Stricker-Krongrad, 1994b).

Le NPY apparaît très tôt au cours du développement avant la plupart des autres substances hypothalamiques. Il interagit, comme nous l'avons expliqué, avec l'insuline qui joue alors un rôle crucial dans l'organisation cérébrale (Dörner, 1994). Ceci est confirmé par le grand nombre et la haute affinité des récepteurs durant cette période par rapport à l'âge adulte (Kappy, 1982 ; Sperling, 1983) : on a constaté en outre que les foetus de mères diabétiques ont un système NPYergique altéré (Singh et al., 1997).

Notre hypothèse de travail est que, durant la période de gestation et d'allaitement (alors que se développent les structures hypothalamiques), le régime maternel a un impact sur la descendance : leur développement, leurs préférences alimentaires, leur système NPYergique. Le développement sera donc évalué par le suivi du poids corporel, de la naissance jusqu'à l'âge

adulte (6 à 7 mois), par la mesure du tissu adipeux à différentes étapes (sevrage et âge adulte), et l'analyse de plusieurs paramètres plasmatiques (glucose, triglycérides, cholestérol, insuline).
Les préférences alimentaires seront estimées à plusieurs étapes (30 J, 90 J, 120 J) et comparées à celles d'un groupe contrôle.
Le système NPYergique sera étudié en mesurant le taux et l'expression de NPY au sevrage et à l'âge adulte, la réactivité à l'injection intracérébroventriculaire de NPY et la libération basale ou stimulée de ce peptide dans le noyau paraventrivulaire.

II. Rappels bibliographiques.

II.1. Les changements nutritionnels et hormonaux durant le développement

Dans l'utérus, le foetus reçoit 50% du glucose produit par la mère (Battaglia et al., 1978) à travers le placenta (Leturque et al.,1986 ; Di Giacomo,1990), le glucose constituant l'une des substances essentielles à sa croissance. Le placenta permet le passage des corps cétoniques et des acides gras libres qui peuvent être utilisés en remplacement dans le cas de carence en glucose. Le placenta est en revanche imperméable aux lipides (Herrera et al., 1990, 1992).

Les déchets se dissipant à travers l'organisme de la mère, le foetus, à ce stade du développement, est complètement dépendant de sa mère. En effet, les organes essentiels à la vie ne fonctionnent pas encore (poumons, foie), l'échange rapide de chaleur à travers le placenta est lié à la température de la mère, et lui assure une thermostabilité environnementale (Gilbert et al., 1985).

Le développement des foetus est influencé par la morphologie et la taille de la mère qui reflètent en partie son héritage génétique, et par son régime nutritionnel qui détermine les mécanismes homéostatiques (Jackson et Wootton, 1990 ; Jackson et al., 1996).

Après la naissance, la source nutritionnelle en provenance de la mère est brutalement coupée, cette période courte de sevrage est suivie par l'allaitement du nouveau-né. La durée de la période d'allaitement et l'état du développement physiologique du nourrisson ne sont pas les mêmes dans toutes les espèces, ce qui conduit chaque espèce à trouver une solution propre. Cette période d'allaitement est caractérisée par un taux de croissance très élevé et par une disproportion entre la taille du cerveau et le poids du corps à ce stade ; par conséquent, les besoins énergétiques du nouveau-né sont très importants. La composition du lait est différente d'une espèce à l'autre, mais du point de vue énergétique, il est riche en lipides et pauvre en glucides chez toutes les espèces (Jensen et al., 1978). Le lactose est le glucide dominant et, 95% des lipides sont des triglycérides.

Chez le rat, durant la période d'allaitement, il existe une relation très étroite entre le type de régime nutritionnel, le poids corporel de la mère, le développement de la glande mammaire (dont 60 % des cellules proliférent durant la gestation et 40 % les premiers jours de la lactation), et la composition et la quantité du lait (Williamson, 1980 ; Williamson et al., 1983 ; Knight et al., 1984 ; Grigor et al., 1987 ; Koski et Hill, 1990 ; Koski et al., 1990 ; Ramussen et al., 1992 ; Lanoue et al., 1994 ; Del Prado et al., 1997).

Durant la période de transition nutritionnelle allaitement-sevrage, le lait maternel est remplacé graduellement par la nourriture solide comme chez l'adulte (riche en glucides et faible en graisse). La quantité de triglycérides est considérablement diminuée dans le régime et le succharose et l'amidon remplace le lactose. Le sevrage se produit progressivement à partir du 14ème jour jusqu'au 30ème jour après la naissance, mais surtout entre le 15ème et le 18 ^{ème} jour. Pendant les 15 premiers jours, le rythme circadien n'est pas encore installé (Henning et al.,

1979), il s'installe vers le 29ème jour (Henning et al., 1981), la majorité de la consommation alimentaire devenant nocturne.

Ces adaptations néonatales aux changements nutritionnels et aux modifications environnementales sont orchestrées par des sécrétions d'hormones telles que l'insuline, l'hormone anabolique la plus efficace (figure 2)

A la fin de la vie foetale et jusqu'à la naissance, le taux d'insuline est très élevé et diminue rapidement durant la période d'allaitement (Girard et al., 1977). La diminution du taux de lactose et l'absence de rythme circadien diminue le taux d'insuline et augmente celui du glucagon plasmatique durant la période d'allaitement.

Entre le 20ème et le 30ème jour, l'état hormonal va s'inverser, et le rat, de façon spontanée, va s'orienter vers un régime glucidique. Par contre, si le rat a un régime lipidique, le glucagon plasmatique ne diminue pas et l'insuline n'augmente pas. Un sevrage précoce vers un régime riche en glucides et pauvre en lipides entraîne un changement hormonal adéquat lié au régime ingéré (Coupe et al., 1990 , Perdereau et al., 1990).

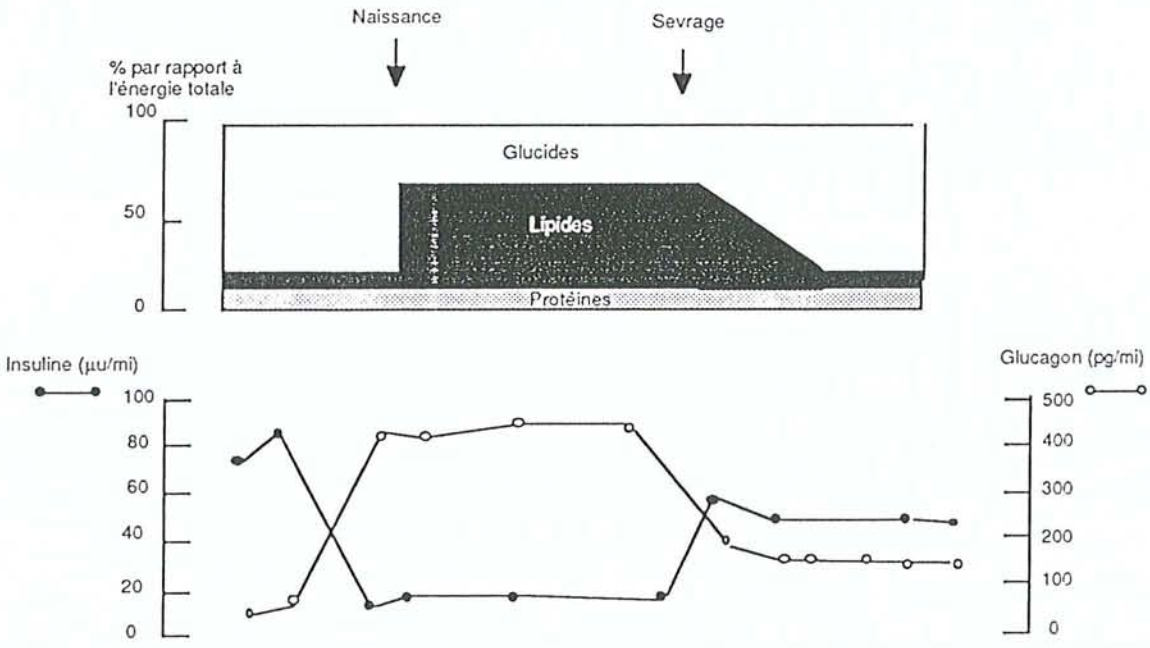


Figure 2 : Modification de la prise alimentaire et des concentrations hormonales en période embryonnaire, d'allaitement et de sevrage (J. Girard, 1992)

II.2. *Neuropeptide Y :*

II. 2.1. Ontogénèse

II.2.1.1. Développement du système nerveux central :

Jusqu'à présent, plusieurs études sur la morphogénèse du système nerveux central ont été réalisées. Bayer et al. (1973), Gardette et al. (1982), Mc Connell (1991) ont constaté que les séquences du développement cérébral ne sont pas fondamentalement différentes chez les mammifères. Seuls le stade de maturation à la naissance et le niveau du développement cérébral varient selon les espèces (Morgane et al., 1993).

L'histogénèse du système nerveux central est divisée en trois étapes principales : l'organogénèse, les productions neuronales et gliales, et la différenciation des neurones et des cellules gliales immatures (Morgane et al., 1992).

Elles sont régies par des facteurs intrinsèques immuables et extrinsèques ; les premiers sont des directives génétiques, les autres sont des facteurs environnementaux : facteurs nutritionnels et hormonaux.

La nutrition est probablement le signal le plus important par lequel l'environnement exerce son influence sur le foetus et le nouveau-né (Resinck et al., 1984). Un déséquilibre de la nutrition peut causer des changements hormonaux et modifier le signal morphogénétique, ce dernier aidant à la régulation de la différenciation neuronale.

Cette période critique du développement du système nerveux central (SNC), la formation des synapses, leur taille et leur nombre, ainsi que la distribution axonale et la densité des récepteurs associés au développement de neurotransmetteurs sont très importants.

Un déséquilibre nutritionnel pourrait provoquer une altération fonctionnelle au niveau du SNC, cette altération pouvant varier selon le stade de développement auquel le déséquilibre est intervenu et selon la longueur de celui-ci.

La majorité des travaux s'est intéressée à la malnutrition et à ses conséquences, et non à un déséquilibre des régimes alimentaires (figure 3).

II.2.1.2. Ontogenèse du NPY et de ses récepteurs :

Des études sur l'ontogenèse des neurotransmetteurs classiques et des neuropeptides ont été menées chez plusieurs espèces par des techniques d'immunohistochimie, de radioimmunoessais et d'analyse chromatographique (Foster et al., 1984 ; Allen et al.,1984 ; Hayashi et al., 1992 ; Ryan et al.,1997). Ainsi, chacun d'entre eux possède sa propre période d'apparition au cours du développement du système nerveux central.

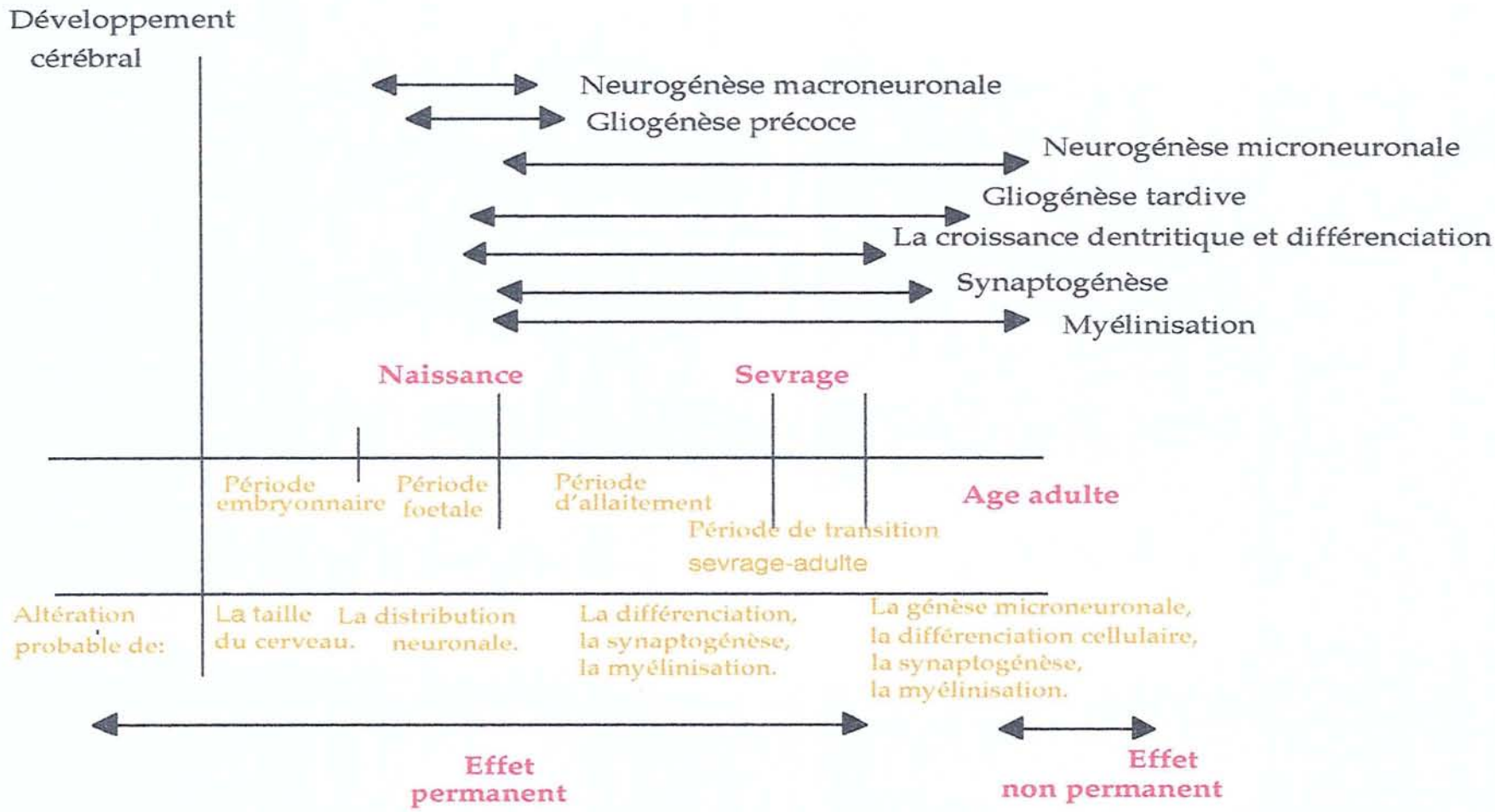


Figure 3 : Effets de la malnutrition sur le développement cérébral durant la période critique de la vie (pré-post natale) et à l'âge adulte (d'après Morgane, 1993).

Une première catégorie de neuropeptides apparaît dans la période embryonnaire, et une seconde plus tardivement dans la période post-natale.
Le NPY détecté dès le 14ème jour de la vie foetale appartient à la première catégorie (Allen et al.., 1984 ; Foster et al., 1984 ; Woodhams et al., 1985 ; Kagotani et al., 1989 ; Foster et al., 1992). Il apparaît donc avant la plupart des médiateurs hypothalamiques tels que les catécholamines, la substance P, la corticolibérine, détectées respectivement les 15ème, 16ème et 17ème jours, mais en même temps que la somatostatine (Shiosaka et al., 1981 ; Mc Gregor et al., 1982 ; Gilbert et al., 1985). Dans le diencéphale et dans le tronc cérébral, le NPY apparaît au même moment et sa concentration demeure constante jusqu'à la naissance. Il n'est pas détecté avant le 19ème jour de la vie foetale dans le cortex, l'hippocampe et le mésencéphale.

Dans le mésencéphale et le diencéphale, la concentration de NPY augmente rapidement dans les derniers jours de la vie foetale et les premiers jours après la naissance. Elle est multipliée par 3 entre le 19ème jour de la vie foetale et le jour de la naissance, approchant ainsi celle du rat adulte. Dans le tronc cérébral, le cortex et l'hippocampe, la concentration augmente très lentement durant les premiers jours après la naissance. Dans le cervelet, le NPY n'est pas détecté avant la naissance et son niveau demeure très faible après la naissance (Tableau 1).

Jours	**F 14**	**F 17**	**F 19**	**J 0**	**J 7**	**J 14**	**J 21**	**Adulte**
Cortex	-	-	+	+	+	++	++	++
Hippocampe	-	-	+	+	-	+++	+++	+++
Diencéphale	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
Mésencéphale	-	+	+	+++	+++	+++	+	+++
Tronc cérébral	+	+	+	++	++	+++	++	+++
Cervelet	-	-	-	-	-	-	+	-

Tableau 1 : Concentrations en NPY dans le cerveau de rat au cours du développement (M. Allen et al., 1984.) **F** : Jour de la vie foetale, **J** : Jour après la naissance).

Au niveau hypothalamique (Tableau 2), la première apparition de NPY a lieu au 14ème jour dans le noyau arqué et dans l'aire hypothalamique dorsolatérale (Allen et al., 1984), au 16ème jour dans les noyaux paraventriculaire et dorsomédian, et au 18ème jour dans le noyau suprachiasmatique. Après la naissance, le nombre de cellules immunoréactives au NPY augmente dans le noyau arqué et dans l'aire hypothalamique dorsolatérale. Plus tard, à 2 jours, les cellules immunoréactives au NPY disparaissent dans les régions cérébrales, à l'exception du

noyau arqué. Les fibres de NPY apparaissent vers le 17ème ou le 19 ^{ème} jour de la vie foetale, tout spécialement dans les noyaux arqué et paraventriculaire. Dans l'aire préoptique et le noyau suprachiasmatique, elles ne sont évidentes que juste après la naissance.

A la naissance, le système NPYergique n'est donc pas complètement mature. Il existe des changements morphologiques au niveau cellulaire comme des disparitions de cellules dans certaines régions (NPV), résultant de la prolifération de fibres provenant d'autres régions (ARC). Chez le rat adulte, les cellules à NPY ne sont pas visibles sans administration de colchicine (inhibiteur de transport axonal) (De Quidt, 1986).

Chez le rat traité avec le monosodium L-glutamate en période néonatale, la majorité des cellules au niveau de l'ARC est détruite. La présence de cellules immunoréactives est alors détectée dans la partie magnocellulaire du noyau paraventriculaire, et dans le noyau dorsomédian latéral, ainsi qu'une diminution du nombre de fibres dans les noyaux paraventriculaires suprachiasmatiques et l'aire préoptique, conséquence du turnover des peptides entre ces régions.

Les études s'appuyant sur les techniques d'hybridation in situ et l'autoradiographie (Tong et al., 1997) ont montré que dans la plupart des régions cérébrales, l'apparition des ARN messagers des récepteurs de sous-type Y_1 , impliqués dans la régulation du comportement alimentaire, survient dès le 14 ^{ème} jour de la vie foetale. Leur nombre augmente, se stabilise après la naissance, reste élevé durant 2 semaines et la concentration définitive des ARN_m est atteinte à la 3ème semaine. Dans l'hypothalamus, le sous-récepteur Y_1 a été détecté au 18 ^{ème} jour de la vie foetale, cependant son site d'action n'apparaît qu'autour du 20 ^{ème} jour. Ce profil de développement est similaire à celui des cellules immunoréactives à NPY. Cette apparition précoce suggère l'importance de ce neuropeptide dans le processus de maturation du système nerveux central (Tong et al., 1997).

Le profil de l'ontogenèse du récepteur Y_1 est différent de celui des autres récepteurs neuropeptidergiques. En effet, celui-ci apparaît à l'âge précoce et reste constant jusqu'à l'âge adulte, alors que les autres récepteurs neuropeptidergiques ont un profil de développement plus complexe. Ils apparaissent dans certaines régions durant la période foetale et disparaissent complètement de ces régions à l'âge adulte; c'est le cas du récepteur à la somatostatine (Cavanagh et al., 1988), de la substance P (Dam et al., 1988), et de la neurokinine (Jolicoeur et al., 1991 ; Hermans et al., 1993).

Jours	F 14,5	F 15,5	F 16,5	F 17,5	F 18,5	F 19,5	F 20,5	F 21,5	J 2	J 16
NSC	—	—	—	—						
APOm	—	—	—	—	—					
AH	—	—	—							
NDM	—	—	—							
HL										
NPV	—	—								
ARC										

Tableau 2 : Evolution des contenus en fibres et en cellules à NPY au cours du développement (Kagotani Y et al., 1989, F : Jour de la vie foetale, J : Jour après la naissance) .

II.2.1.3. Colocalisation du NPY avec d'autres neuromodulateurs de la prise alimentaire:

Plusieurs études morphologiques et pharmacologiques ont constaté une colocalisation anatomique et une interaction fonctionnelle entre le système NPYergique et d'autres systèmes de neurotransmetteurs classiques (Hôrvath et al., 1992 ; Hôrvath, 1996) ou des systèmes neuropeptidergiques.

Dans le chapitre précédent, nous avons abordé la colocalisation avec le système catécholaminergique chez les rats adultes (Everitt et al., 1984). La noradrénaline apparaît au 15ème jour de la vie foetale. La colocalisation centrale et périphérique avec le système NPYergique est immédiatement détectée, bien que ces deux systèmes soient dissociables. Durant la période critique de développement, la maturation des deux peptides est contrôlée par des facteurs différents et chacun a son propre profil de maturation ; rapide pour les neurones catécholaminergiques qui finissent leurs projections avant la naissance atteignant ainsi une maturation proche de l'adulte, plus lent pour le système NPYergique qui ne s'installe définitivement qu'après la naissance, en subissant diverses modifications morphologiques.
D'autres études ont aussi mis en évidence la colocalisation du NPY avec les opiacés (Hôrvath et al., 1992 ; Bergendahl et al., 1995 ; Garcia et al., 1995), la somatostatine (Vincent et al., 1982 ; Hendry et al., 1984), la vasopressine (Kagotani et al., 1989), la substance P et la galanine (Hôrvath et al., 1995, 1996 ; Ryan et al., 1997). Ces interactions observées surviennent très tôt, dès le 16ème jour pour la colocalisation NPY-somatostatine dans la base du tronc cérébral et la formation réticulée (Shiosaka et al., 1981).

La galanine est composée de 29 acides aminés. Comme le NPY, elle est largement distribuée dans le cerveau et spécialement dans l'hypothalamus où elle joue un rôle dans la régulation de la prise alimentaire (Kyrkouli et al., 1990). Elle participe surtout à l'appétit spécifique pour les lipides. A l'âge adulte, une interaction à la fois morphologique et fonctionnelle a été établie entre la galanine et le NPY (Kyrkouli et al., 1990 ; Leibowitz, 1990 ; Horvath, 1996). Cependant, la galanine possède un profil de développement tout-à-fait différent du NPY. Présente uniquement après la naissance, elle est détectée pour la 1ère fois au 2ème jour dans le diencéphale à de très petites quantités et plus tard, entre 14 et 28 jours dans plusieurs aires du tronc cérébral pour atteindre l'état mature (Sizer et al., 1990). Cette observation montre que l'influence de facteurs externes et environnementaux peut ne pas avoir le même effet d'un système à l'autre.

II.2.2. Distribution centrale du NPY du rat adulte :

La distribution du neuropeptide Y dans le système nerveux central a été étudiée à l'aide des techniques d'immunocytochimie et de dosage radioimmunologique des régions cérébrales microdisséquées (Everitt et al., 1984 ; Chronwall et al., 1985 ; Sawchenko et al., 1985 ; Bai et al., 1985 ; O'Donohue et al., 1985). Le NPY est largement distribué dans le système nerveux central et périphérique où on le trouve à des concentrations plus élevées que la plupart des autres neuropeptides.

Aucune différence de concentration n'a été relevée entre mâles et femelles. On enregistre des variations de concentration en fonction des structures et du rythme circadien. La concentration dans l'hypothalamus est très forte alors que le NPY est presque indétectable au niveau du cervelet. Nous allons maintenant nous intéresser la distribution du NPY dans différentes régions du cerveau chez le rat :

Au niveau du télencéphale, on note la présence de cellules et de fibres immunoréactives dans l'hippocampe, et à un moindre degré, dans le cortex cérébral.

Dans le striatum, on note principalement la présence de cellules tandis que l'amygdale contient plutôt des fibres.

Au niveau du diencéphale, l'hypothalamus contient de très fortes concentrations de cellules et de fibres immunoréactives à NPY (O'Donohue et al., 1985 ; Chronwall et al., 1985 ; Bai et al., 1985). Le plus grand nombre de neurones immunoréactifs se trouve dans le noyau arqué (Bai et al., 1985) tandis que le plus grand nombre de fibres se trouve dans les noyaux paraventriculaires et les noyaux suprachiasmatiques (Everitt et al., 1984).

Au niveau du mésencéphale, on trouve des cellules à NPY dans la substance grise centrale et une grande concentration de fibres dans les corps mammillaires et la substance grise périaqueducale (Everitt et al., 1984).

Au niveau du métencéphale, les cellules immunoréactives sont localisées dans la partie dorsale du locus coeruleus, dans la partie dorsolatérale du raphé et dans la pars compacta.

Au niveau de la medulla oblongata, le noyau du tractus solitaire contient des cellules immunoréactives à NPY dans son extension rostrocaudale. Le noyau parabrachial (Everitt et al.,1984), de même que le locus coeruleus, contiennent des fibres en faible densité.

Il existe deux systèmes de projections hypothalamiques, l'un extrinsèque (colocalisé avec la noradrénaline) et l'autre intrinsèque.

Le premier système est constitué d'une voie tronc cérébral-hypothalamus (Sawchenko et al., 1985). Il prend son origine au niveau du groupe cellulaire A1/C1 situé dans la partie ventro-latérale des medulla oblongata, au niveau du groupe A2/C2 situé dans la partie dorsale et dorsolatérale du tractus solitaire, et au niveau du groupe A6, situé dans le locus coeruleus. Ce système extrinsèque emprunte les voies ascendantes ventrales et dorsales du système

catécholaminergique pour projeter ses fibres vers l'aire médiane préoptique, vers les noyaux paraventriculaires, l'éminence médiane et les noyaux dorsomédians.
Le second système prend son origine dans le noyau arqué (Bai et al., 1985 ; Kerkerian, 1986 ; Danger et al., 1990) et projette ses fibres vers les noyaux paraventriculaires dorsomédians, les noyaux ventromédians ipsilatéraux (Bai et al., 1985 ; Kerkerian, 1986), ainsi que vers les éminences médianes (Pelletier et al., 1984). Des études sur les lésions des projections tronc cérébral-hypothalamus montrent que les noyaux ventromédians, suprachiasmatiques et arqués ne reçoivent pas de projections du tronc cérébral (Sahu et al., 1988). A l'inverse, au niveau des noyaux paraventriculaires, dorsomédians, de l'éminence médiane et de l'aire préoptique, 50 à 60 % des fibres à NPY sont d'origines extrinsèques.

III. Plan expérimental

Nous avons étudié les effets de régimes contrastés (riches en glucides ou en lipides), imposés à la mère gestante et allaitante, sur le comportement alimentaire de ses petits ainsi que sur leur système NPYergique de régulation. Le protocole expérimental est décrit dans la figure (5) et comprend plusieurs phases. La première phase concerne le conditionnement des mères : pendant deux semaines, les rates de souche Long-Evans ont été nourries, soit avec un régime contrôle (C) équilibré, soit avec un régime riche en glucides (HC), soit avec un régime riche en lipides (HF) (Tableau 3). Le taux de protéines choisi (20% de poids) est suffisant pour permettre une gestation correcte. Les animaux qui ne se sont pas adaptés ont été exclus des protocoles.

L'accouplement a été effectué avec des rats de même souche à raison de trois femelles par mâle. Après l'accouplement, les femelles ont été placées dans des cages individuelles et nourries avec le régime auquel elles sont habituées. Dès le 3ème jour après la naissance des ratons, les portées ont été équilibrées en nombre de petits à l'intérieur des 3 groupes, là où cela était nécessaire (8 ± 2petits). La consommation des femelles allaitantes et le poids des ratons ont été mesurés jusqu'au sevrage (21jours). Lors du sevrage, seuls les ratons mâles ont été conservés pour la suite de l'expérience (figure 5). Le poids des animaux a été mesuré régulièrement du 3ème jour de la naissance jusqu'à la fin de la période expérimentale.

A deux périodes, au sevrage et à l'âge adulte (6-7 mois), le sang a été récupéré pour établir un bilan sanguin (glycémie, triglycéridémie, cholestérolémie et insulinémie), de plus, à J 206 les tissus adipeux (périrénal, épididymaire et sous-cutané) et les foies ont été prélevés et pesés immédiatement.

La deuxième phase a permis de déterminer l'évolution des préférences alimentaires des rats à différentes étapes de la vie : 1 mois, 3 mois et 4 mois.

A chaque étape, les rats ont été soumis à trois tests de préférence. Le premier était un test de choix aigu . Après une période d'adaptation de 9 jours, les rats ont été soumis le premier jour à un test de choix pendant une heure. Deux bouteilles leur ont été proposées au début de la phase diurne après 4 heures de jeûne. Chacune contenait un régime à base de lait écrémé de densité calorique identique qui ne différait que par sa principale source d'énergie issue de glucides (RG) ou de lipides (RL); aux deuxième et troisième jours la variation de goût a été neutralisée par l'ajout de paraffine au régime RG ou et de saccharine au régime RL.

Le deuxième test était un test d'orientation vers la saveur sucrée. Ce test durait 24 heures et cherchait à évaluer les différences de consommation de solution sucrée entre les groupes de rats. Chaque rat disposait d'un biberon d'eau et d'un biberon de solution sucrée (20%), en plus du régime contrôle.

Le troisième test étudiait le choix de régime contrastés. Ce test à long terme a duré 9 jours et consistait à choisir entre un régime solide hyperglucidique (HC) et un régime solide hyperlipidique (HF). Les consommations ont été enregistrée journellement.

De plus, la consommation en fonction des rythmes nycthéméraux a été enregistrée au début, au milieu et à la fin du test. Les consommations du régime contrôle ont été mesurées quotidiennement pendant encore 5 jours, à partir du 44 ième et à partir de 100 ième jour.

Dans la troisième phase nous avons étudié la distribution et l'évolution quantitative des systèmes NPYergiques au niveau de l'hypothalamus chez les descendants, au sevrage (21 J) et à l'âge adulte (204 J). Douze animaux de chaque groupe ont été sacrifiés par décapitation. Les cerveaux ont été prélevés et immédiatement congelés pour les déterminations des contenus en peptides dans les noyaux microdisséqués. Les différents noyaux hypothalamiques ont été microdisséqués selon la technique de Palkovits (1973) après section des cerveaux en coupes épaisses (300 µm). Les zones suivantes ont été prélevées : noyaux arqués, paraventriculaires, ventromédians, dorsomédians, suprachiasmatiques, accumbens et supraoptiques, hypothalamus latéral, éminence médiane, aires médianes préoptiques latérales et médianes et cortex pariétal. Le neuropeptide Y a été dosé par extraction acide à l'aide de techniques radioimmunologiques spécifiques mises au point dans notre laboratoire (Beck, 1990). Nous avons aussi, en coopération avec le Dr Mercer (Molecular Neuroendocrinology unit, Rowett Research Instituty, Aberdeen, Scotland), mesuré au sevrage l'expression de l'ARNm du NPY au niveau des noyaux arqués.

Nous avons également, à l'âge adulte (4 - 5 mois), mesuré la réactivité comportementale des descendants à des doses intracérébroventriculaires (ICV) de NPY. Pour cela, douze animaux de chaque groupe ont été tirés au sort et une canule a été implantée stéréotaxiquement au niveau du ventricule latéral de chaque animal. Deux semaines après l'opération, chaque rat a été injecté soit avec du liquide céphalorachidien (L.C.R) témoin, soit avec différentes doses de NPY selon un plan équilibré, avec une période de repos de 48 h entre deux injections.
Enfin, nous avons effectué une étude par canulation push-pull des libérations de NPY au niveau des noyaux paraventriculaires. Dix rats de chaque groupe ont été perfusés à deux reprises espacées d'une semaine, selon la technique de perfusion push-pull. Les séances ont eu lieu dans différentes conditions de stimulations pharmacologiques en injectant soit :

- du 2-déoxy-glucose, inhibiteur du métabolisme glucidique (200 mg/Kg),
- du mercaptoacétate, inhibiteur du métabolisme lipidique (300 µM/Kg),

ces deux agents ayant la propriété de déclencher une prise de nourriture.

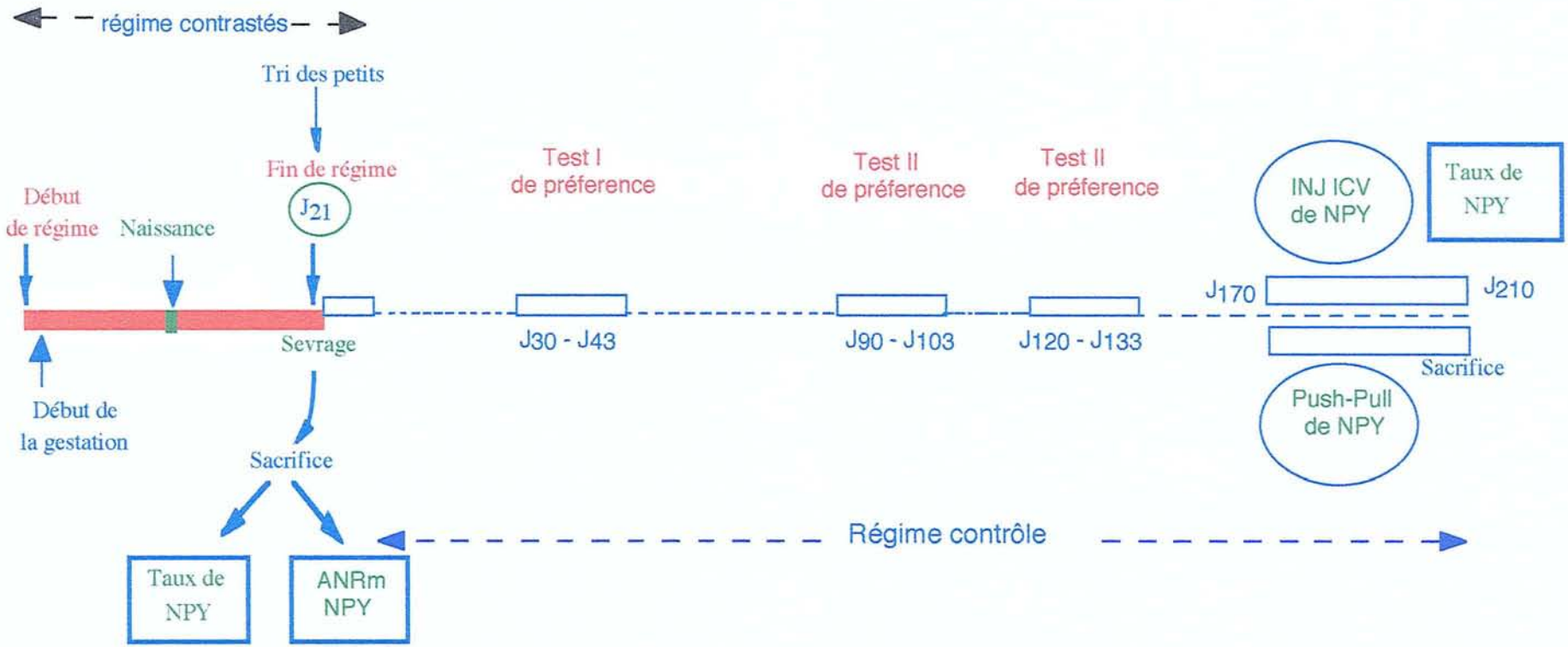


Figure 5 : Protocole experimental

IV. Matériel et Méthodes

IV.1. Modèle animal

Cette étude porte sur 280 rats mâles issus de 93 femelles et de 31 mâles de souche Long-Evans de 3 à 4 mois provenant de l'élevage CERJ (France). Les animaux, maintenus dans des conditions constantes de température (23 ± 1C°) et d'hygrométrie, sont soumis à un cycle lumineux 12/12 non-inversé (9h - 21h, jour) et reçoivent de l'eau et de la nourriture *ad libitum*.

IV.2. Techniques physiologiques expérimentales

IV.2.1. Mesure du comportement alimentaire :

IV.2.1.1. Composition des régimes alimentaires :

Les régimes solides sont donnés dans des mangeoires en acier inoxydable comportant une grille qui limite le gaspillage de nourriture. Trois régimes, exposés dans le tableau 3, ont été utilisés:

- deux régimes contrastés,
- un régime contrôle.

Les deux régimes contrastés tirent la plus grande part de leur énergie soit des sucres, soit des graisses :

- 70,0 % pour le régime riche en hydrates de carbone (HC)
- 73,7 % pour le régime riche en graisses (HF)

Dans le troisième régime contrôle (C), 53,6 % des énergies sont issues des sucres, et 31,2 % des graisses.

La teneur en protéines (en % des énergies) est de 15,2 %, 16,7 % et 11,8 % pour C, RG, RL respectivement.

Ces trois régimes (contrastés et contrôle) se différencient de par :

- leur densité calorique (kcal/g),
- leur source principale d'énergie, traduite par le rapport des énergies issues des sucres sur celles issues des graisses.

Les régimes liquides utilisés pour le test de palatabilité sont donnés dans des biberons, et préparés à partir de lait écrémé (Besnier Bridel alimentaire, France). De densité calorique identique, ils ne se différencient que par leur principale source d'énergie issue de glucides (régime RG) ou de lipides (régime RL). L'ajout de paraffine (neutre en calorie) au régime RG (régime RG+P) permet d'obtenir une texture et un goût comparable à ceux du régime RL ; l'ajout de saccharine (neutre en calorie) au régime RL (régime RL+S) permet d'obtenir une texture et un goût comparable au régime RG (Tableau 4).

Tableau 3 : Composition des régimes contrôle (C), hyperglucidique (HG) et hyperlipidique (HF).

Ingrédients (g/100g)	C	HC	HL
Amidon	38	45	13
Saccharose	19	23	7
Margarine	18	7	55
Caséine	18	18	18
Mélange salin	4	4	4
Vitamines**	1	1	1
Cellulose	2	2	2
Densité calorique (kcal./g)	**4,3**	**3,9**	**5,5**
Energie (%)			
-Glucides	53,6	70,0	14,5
-Lipides	31,2	13,3	73,7
-Protéines	15,2	16,7	11,8
rapport glucides/lipides (rapport énergétique)	1,7	5,3	0,2

* Mélange salin 205 b (UAR-Villemoisson sur Orge, France).

** Mélange vitaminique 200 b (UAR-Villemoisson sur Orge, France).

IV.2.1.2. Mesure des paramètres de la prise alimentaire

La prise alimentaire, exprimée en grammes ou en apport calorique (prise alimentaire x densité calorique), est mesurée par pesées des mangeoires. Celles-ci sont effectuées pendant la première heure de la période diurne pour la prise alimentaire sur 24h et pendant la première heure de la période diurne et la dernière heure de cette même période, pour les mesures des rythmes nycthéméraux. La fréquence des mesures peut être plus élevée lorsque l'on étudie l'effet d'une injection aigüe sur la prise alimentaire. Lors des tests de choix, les biberons pesés ont été presentés au milieu de la phase diurne et pesés une heure plus tard.

Tableau 4 : Composition des régimes liquides hyperglucidique (RG) et hyperlipidique (RL).

Ingrédient (g/100g)	RG	RL	RG+P	RL+S
Lait écremé	10	10	10	10
Sucre	40	10	40	10
Huile de colza	4	17,3	4	17,3
Paraffine	-	-	13,3	-
Saccharine	-	-	-	0,03
Monostéarate de glycérol	1,25	1,25	1,25	1,25
Rhodygel	0,35	0,35	0,35	0,35
Densité énergétique (kcal/g)	**2,36**	**2,36**	**2,36**	**2,36**

IV.2.1.3. Protocole des tests de préférences (Figure 6) :

Le premier test est un test aigu à court terme qui consiste à choisir entre deux régimes liquides riches en glucides ou en lipides (RG ou RL). Il s'est déroulé sur trois jours après une période d'habituation de 9 jours. Durant cette période les rats recevaient le régime RG les jours impairs, et le régime RL les jours pairs. lors des trois journées de test, les rats sont mis à jeun de 9h à 13h puis on leur présente les deux régimes simultanément durant une heure. Après cette heure de test, les animaux retrouvent leur régime contrôle équilibré solide jusqu'au lendemain 9h.

Le premier jour du test, les animaux avaient le choix entre les régimes RG et RL; le deuxième jour, entre les régimes RG et RL auquel on ajoutait de la saccharine, et le troisième jour, on leur présentait les régimes RL et RG supplémenté avec de la paraffine (tableau 4).

Le deuxième test auquel les rats ont été soumis est un test de saveur sucrée. Lors de ce test, chaque rat avait à sa disposition durant 24h deux biberons, l'un contenant de l'eau, et l'autre une solution de saccharose à 20%.

Le troisième test consistait à choisir entre régime solide hyperglucidique (HC) et un régime solide hyperlipidique (HF) durant 9 jours. Les consommations étaient enregistrées quotidiennement à 9h. aux premier, cinquième et neuvième jours, ainsi qu' à 21h, et ce, afin d'étudier la consommation en fonction des rythmes nycthéméraux.

IV.3. Méthodes d'exploration in vivo du système à neuropeptide Y:

Le sytème à neuropeptide Y a été étudié par deux méthodes : mesure de la réactivité des animaux suite à l'injection ICV de NPY exogéne et mesure de la libération in vivo de NPY dans le noyau paraventriculaire par la technique de push-pull. Ces deux méthodes nécessitent la pose de canules permantes par chirurgie stéréotaxique.

IV.3.1. Chirurgie stéréotaxique

IV.3.1.1. Localisations intracérébrales

Les coordonnées intracérébrales des structures nerveuses sont préalablement estimées à partir de l'atlas stéreotaxique de Paxinos et Watson (1982) utilisé pour des cerveaux de rats Wistar mâles (de 250 à 350 g). Cet atlas est basé sur la position quasi-plane de la surface supérieure de l'os crânien dans son extension occipito-frontale, position qui est atteinte par réglage en profondeur de la barre d'incisive du maxillaire supérieur sous le plan horizontal. Dans ces conditions, trois points de référence sont utilisés (figure 7) :

- Le milieu de la ligne interaurale, qui correspond au zéro absolu et qui est indépendant de la souche d'animaux utilisée,
- Le point lambda, à la jonction de la suture lambdoïde (occipito-temporale) avec la suture sagittale (intertemporale).
- Le point bregma, à la jonction de la suture sagittale avec la suture coronale (fronto-pariétale).

Ces deux derniers points de référence sont liés à la souche et à l'âge des animaux utilisés (Paxinos et al., 1985, 1990).

Nous avons utilisé comme point principal de référence le point bregma qui semble le moins sujet à variation intraspécifique (Whishaw et al., 1977 ; Paxinos et al., 1985). Dans ces conditions, la position moyenne d'une structure intracérébrale est définie dans le système tri-axial suivant:

- l'antéro-postériorité (A.P.) : position par rapport au bregma dans le plan sagittal,
- la latéralité (L) : déviation par rapport au plan sagittal,
- la profondeur (P) : position dans le plan dorso-ventral par rapport à la surface crânienne.

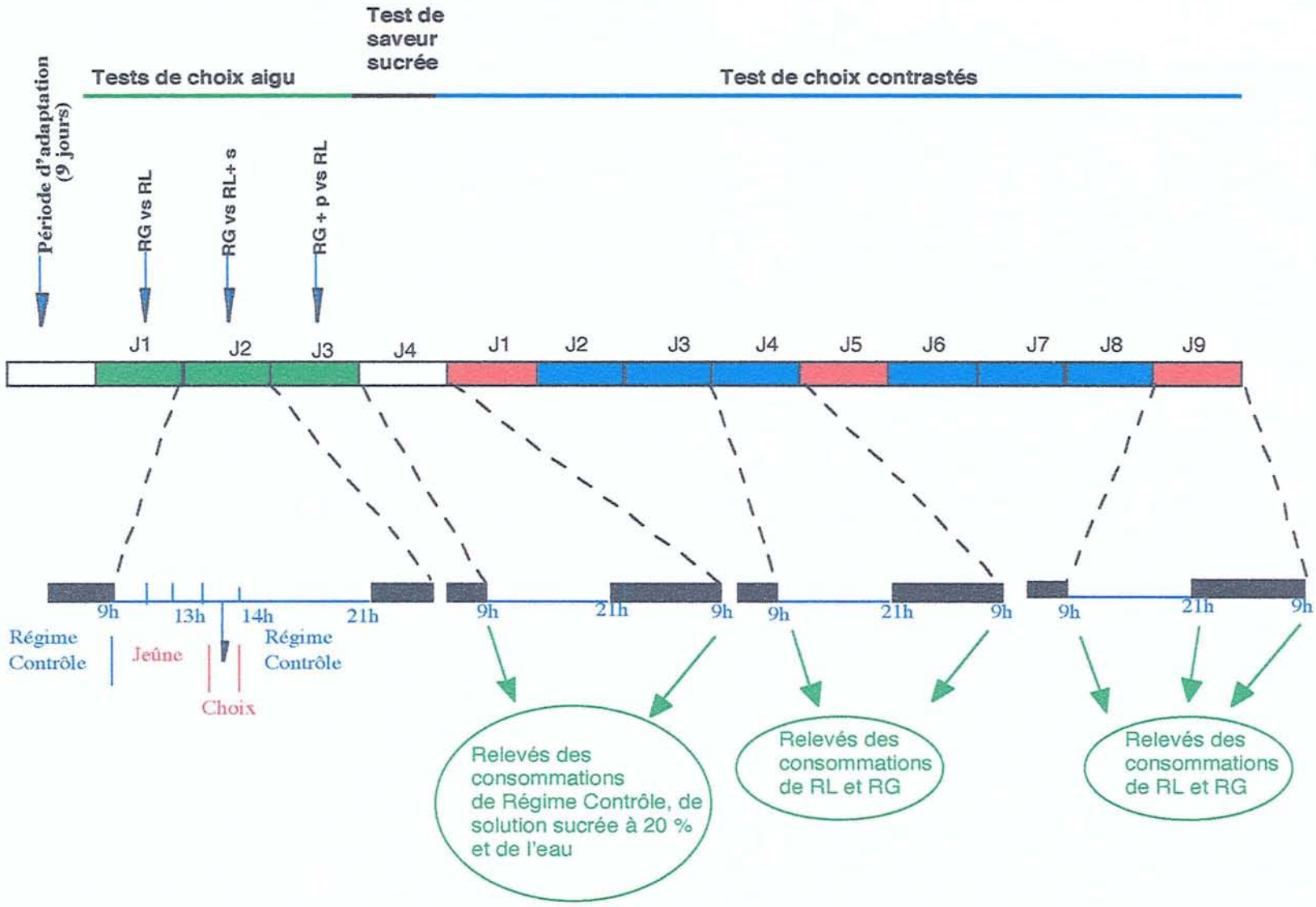


Figure 6 : Protocole des différents tests de choix.

On obtient alors les coordonnées suivantes :

* noyau paraventriculaire pour la perfusion push-pull :

Long-Evans : AP : -1,45 L : - 0,70 P : -7,45 (mm)

* ventricule lateral :

Long-Evans : AP : -1,4 L : 1 P : 3,5 (mm).

IV.3.1.2. Approche stéréotaxique :

Après anesthésie (de 30min à 3heures) par injection intrapéritonéale de chlorhydrate de kétamine (Kétalar, Parke-Devis, France), à raison de 150 mg de Kétamine base/Kg, l'animal est introduit dans l'appareil à stéréotaxie (LPC, Narishige, Tokyo, Japon). Pour ce faire, deux barres introduites dans les conduits auditifs jusqu'à perforation tympanique maintiennent le rat en rotation sur l'axe interaural par pression sur les bulbes tympaniques. Après centrage de l'animal dans l'appareil, la rotation est bloquée par introduction des incisives du maxillaire supérieur dans la pièce de gueule. La surface crânienne est mise à nue par incision rostro-caudale (1 à 1,5 cm suivant le type de chirurgie), les adhérences membranaires sont finement disséquées et le cuir chevelu est réséqué en partie droite et gauche. Après séchage à l'air libre afin de visualiser les différents repères osseux, les deux points de référence suivants sont notés (Figure 7):

- le point lambda (occipito-temporal),
- le point bregma (temporo-frontal) dans les coordonnées du zéro absolu.

Les coordonnées d'implantation sont déduites du point bregma et repérées crâniométriquement sur la surface de l'os. Avec une fraise reliée à une perceuse de dentiste, un volet osseux est levé autour du point d'implantation, laissant apparaitre la dure-mère et le tissu cortical. Celle-ci est finement disséquée avec une pointe d'aiguille, pour éviter la compression du tissu cérébral lors de la descente du système de canulation.

Après descente de la canule intracrânienne jusqu'à la réalisation complète des trois coordonnées stéréotaxiques, la canule est maintenue à demeure par cimentation et solidarisation sur deux à quatre vis implantées dans l'os crânien. Le système d'implantation est alors remonté, la peau recousue et l'animal dégagé de l'appareil de stéréotaxie.

IV.3.1.4. Systèmes d'implantation et types de canules :

Deux types de canules et deux systèmes d'implantation ont été utilisés.

* Implantation dans le ventricule latéral pour l'injection intracérebrale (Figure 8) :

La canule métallique est réalisée à partir d'aiguilles hypodermiques sectionnées (Terumo G27, diamètre externe 400µm, longueur 11mm).

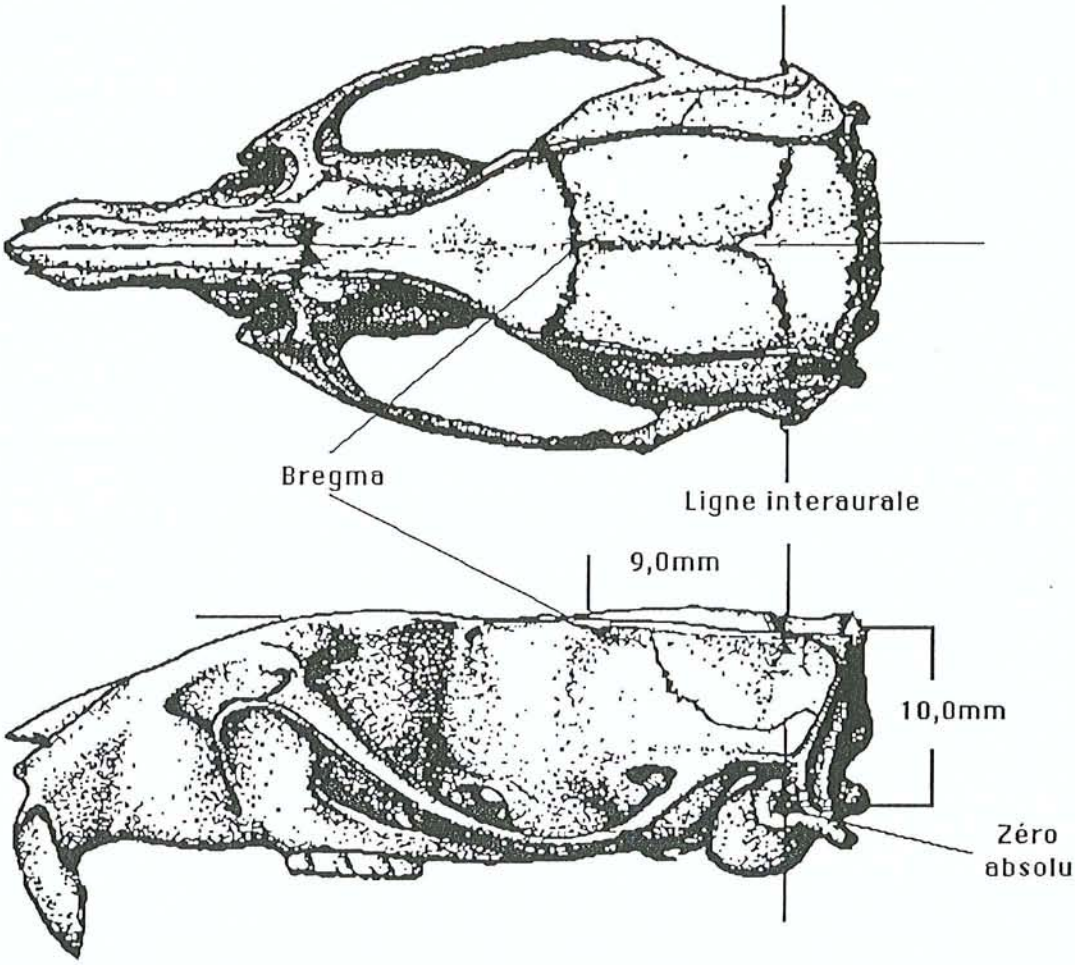


Figure 7 : Vue dorsale et latérale du crâne de rat avec localisation des trois points de référence (Zéro absolu, Lambda et Bregma).

Elle est implantée verticalement au niveau du ventricule latéral. La canule est maintenue à demeure par enrobage dans du ciment dentaire (Crown et Bridge). Elle est obstruée par des stylets (fils d'acier inoxydables courbés: longueur 11mm, diamètre externe 200 µm) afin d'éviter qu'elle ne se bouche.

* Implantation paraventriculaire en perfusion push-pull (P.P.P.) (Figure 9) :

Le système d'implantation est constitué de deux parties mobiles en polychlorure de vinyle (P.V.C.). La partie la plus conséquente vient s'insérer dans le système de descente de l'appareil de stéréotaxie. La partie la plus petite est constituée d'un cône creux dans lequel vient s'insérer un stylet inox à profondeur réglable. Les deux parties sont solidaires par l'intermédiaire d'une vis.

La canule est constituée d'une aiguille d'injection spinale 25G (I = 10 mm ; diamètre externe = 520 µm ; Becton-Dickinson) venant s'insérer très précisément autour du cône de P.V.C. . Le stylet est alors réglé en profondeur de façon à ce qu'il sorte très légèrement de la canule. Cette disposition permet une meilleure pénétration du système dans le parenchyme cérébral et évite la pénétration de tissu dans la canule lors de sa descente.
La remontée est faite en désolidarisant les deux pièces par l'intermédiare de la vis, permettant ensuite le retrait en douceur du cône de la canule. La canule est obturée à l'aide du mandrin d'origine de l'aiguille spinale.

IV.3.2. Mesure de la réactivité comportementale des descendants à des doses ICV de NPY (Figure 10) :

A l'âge adulte (4-5 mois), douze animaux de chaque groupe ont été tirés au sort pour mesurer leur réactivité à l'injection ICV de NPY. Une canule a été implantée stéréotaxiquement au niveau du ventricule latéral de chaque animal.

Deux semaines après l'opération, chaque rat a été injecté soit avec du liquide céphalo-rachidien (témoin), soit avec différentes doses de NPY (0,5 ; 1 ; 3 µg) selon un plan équilibré, avec une période de repos de 48 h entre deux injections. Le NPY était dissout dans du liquide céphalorachidien artificiel composté de Na Cl (124 mM), KCl (3,3 mM) KH2PO4 (1,4 mM) , MgSO4 (1,3 mM), CaCl2 (2,5 mM), NaHCO3 (26 mM), glucose (10 mM) et d'eau bidistillée apyrogène (1 litre) avec un pH est de 7,6. La solution est filtrée sur membrane Millipore (pores de 200 µm) et stérilisée sous ultraviolets. Elle est, par la suite, fractionnée en aliquots de 50 ml pour perfusion intracérébrale. Les rats, non à jeun, ont été injectés au début de la phase diurne à raison de 5 µl par animal à la vitesse de 2 µl/ min. La canule d'injection est restée en place durant 30 secondes après la fin de l'injection. La prise alimentaire a été mesurée à 1, 3, 6 et 24 heures après injection. A la fin de la période expérimentale, le placement des canules a été vérifié.

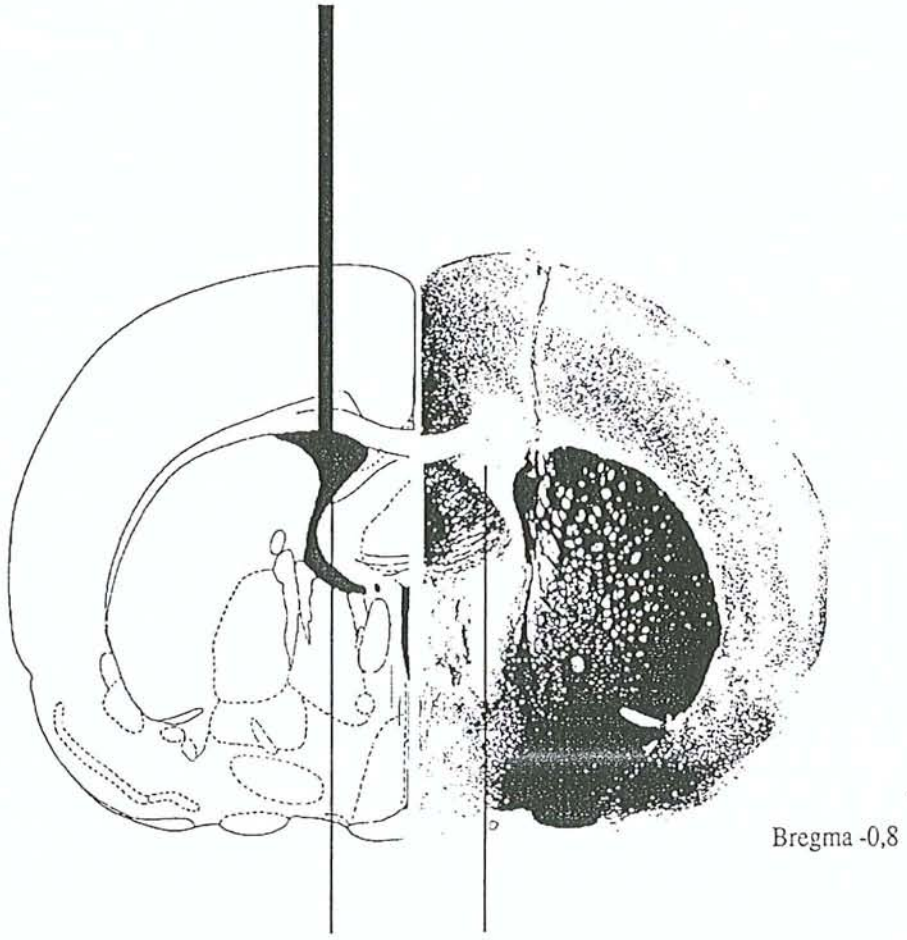


Figure 8 : Système d'implantation en canulation au niveau du ventricule latéral.

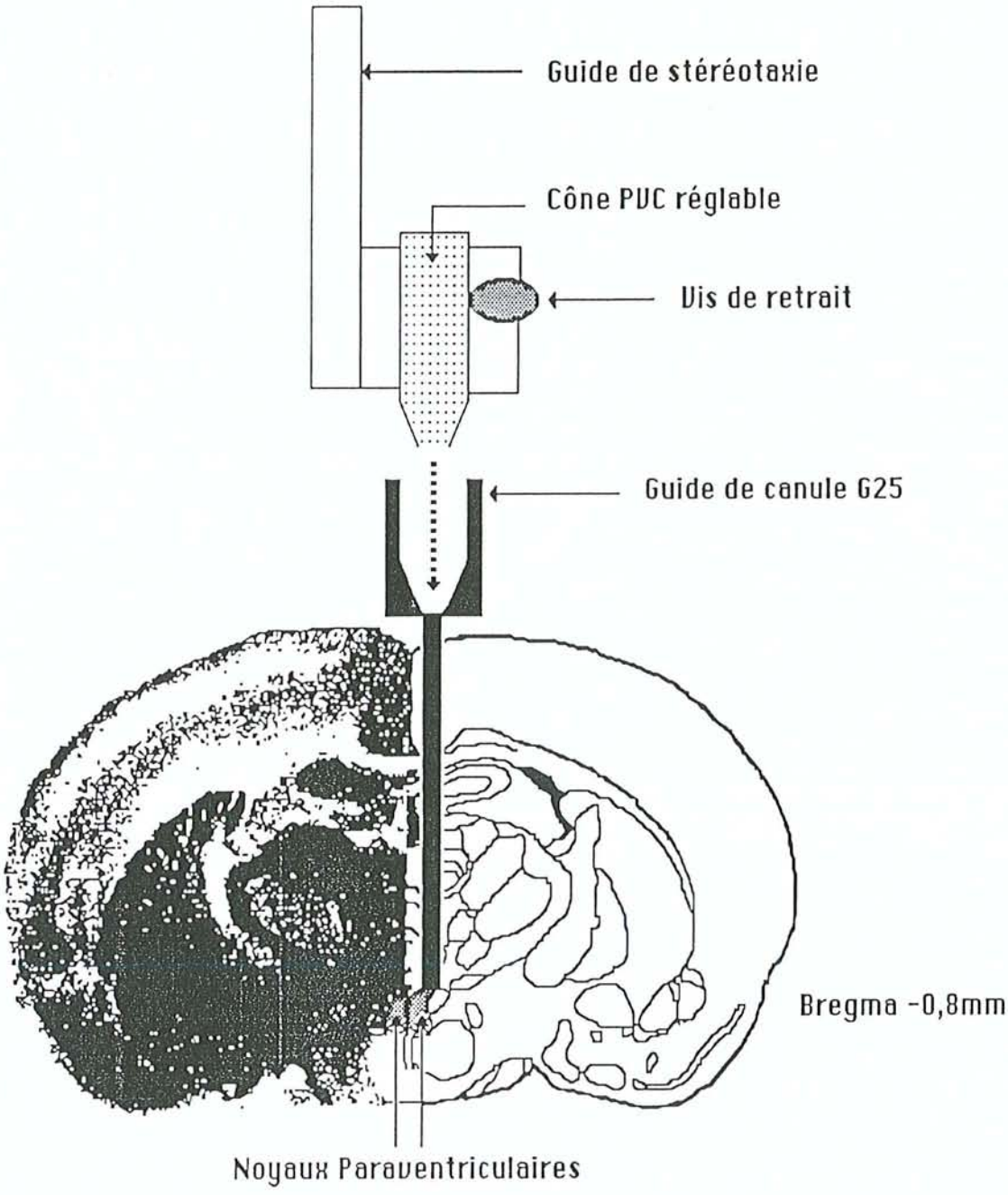


Figure 9 : Système d'implantation en canulation Push-Pull

IV.3.3. Etude par canulation push-pull des libérations de NPY au niveau des noyaux paraventriculaires (Figure 11) :

Dix rats de chaque groupe ont été perfusés à trois reprises à une semaine d'intervalle, selon la technique de push-pull. Les séances ont eu lieu dans différentes conditions :

- Condition normale (libération basale).
- Sous stimulation pharmacologique :

Nous avons agi directement sur le métabolisme des macronutriments en injectant :

- du 2-déoxy-glucose, inhibiteur du métabolisme glucidique (200mg/Kg),
- du mercaptoacétate, inhibiteur du métabolisme lipidique (300µl/Kg).

Ces deux agents ont la propriété de déclencher une prise de nourriture .

Plan d'une journée de perfusion :

de 9h à 10h : période de stabilisation,
de10h à 10h 30 : collecte d'échantillons (toutes les 30 min),
10h30 : injection intrapéritonale du produit,
de 10h30 à 12h30 : collecte d'échantillons.

- La perfusion push-pull (P.P.P.) comme technique de mesure de la libération extracellulaire de neuropeptide Y :

La technique de perfusion push-pull a été décrite pour la première fois par Gaddum (1961). Dans cette approche, deux tubes concentriques sont implantés stéréotaxiquement dans une aire cérébrale précise. Le liquide de perfusion est introduit par le tube interne (Push) et extrait par le tube externe (Pull).

Le fluide de perfusion est en contact direct avec le parenchyme cérébral qui entoure la pointe de la canule. Les substances endogènes sont recueillies par le liquide de perfusion. La perfusion push-pull a été utilisée pour mesurer la libération de nombreux composés tels que les catécholamines, les acides aminés et les peptides dans des aires cérébrales précises (Michelot et al., 1979, Barbanel et al.,1986 ; Ixart, 1987).

La technique de perfusion push-pull permet le recueil de substances telles que le neuropeptide Y qui sont :

- soit de haut poids moléculaire (ce facteur étant une limite du transfert de masse),
- soit présentes à faible concentration dans le milieu externe.

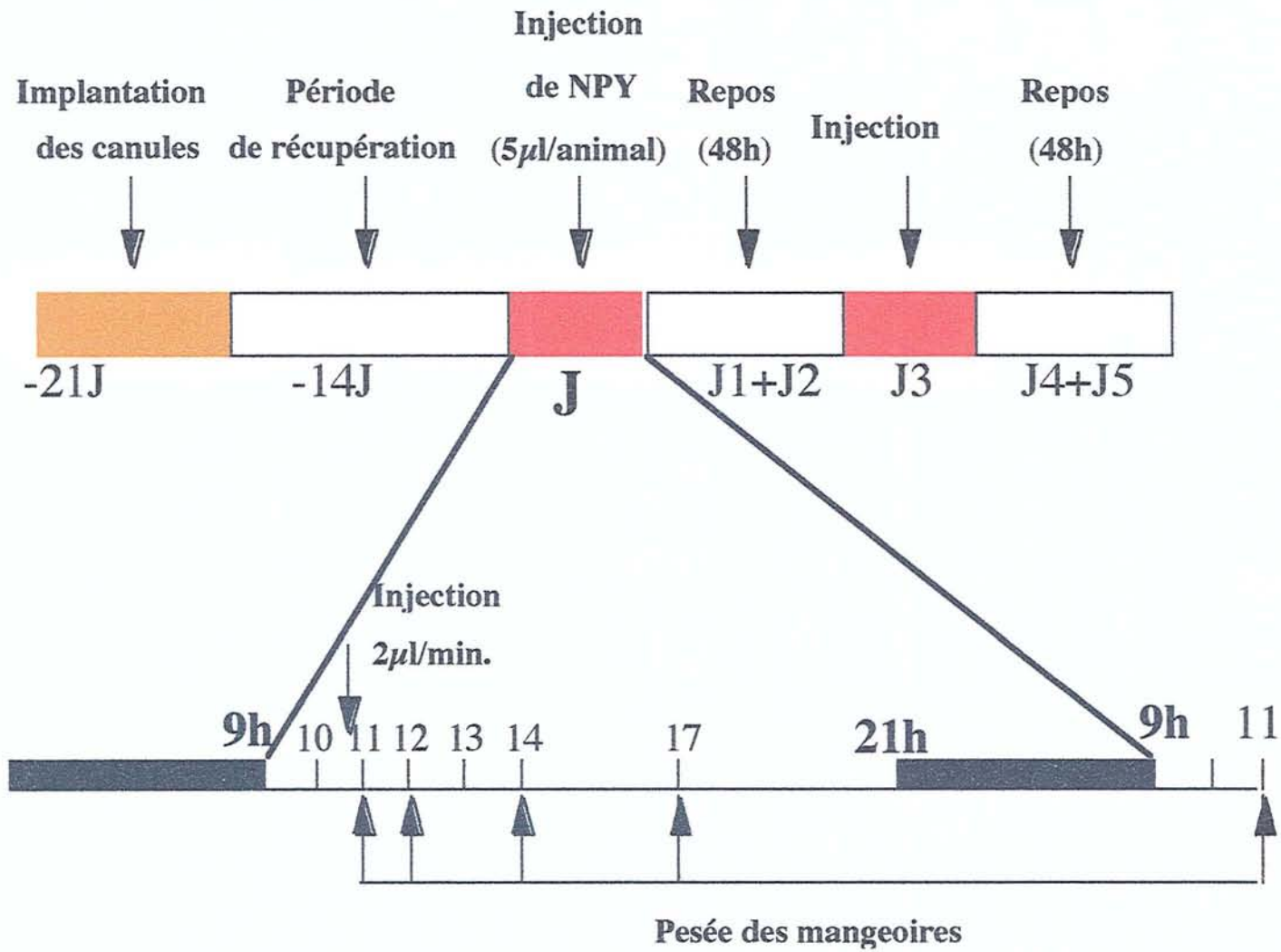


Figure 10 : Protocole d'injection ICV de NPY chez les trois groupes expérimentaux à l'âge adulte.

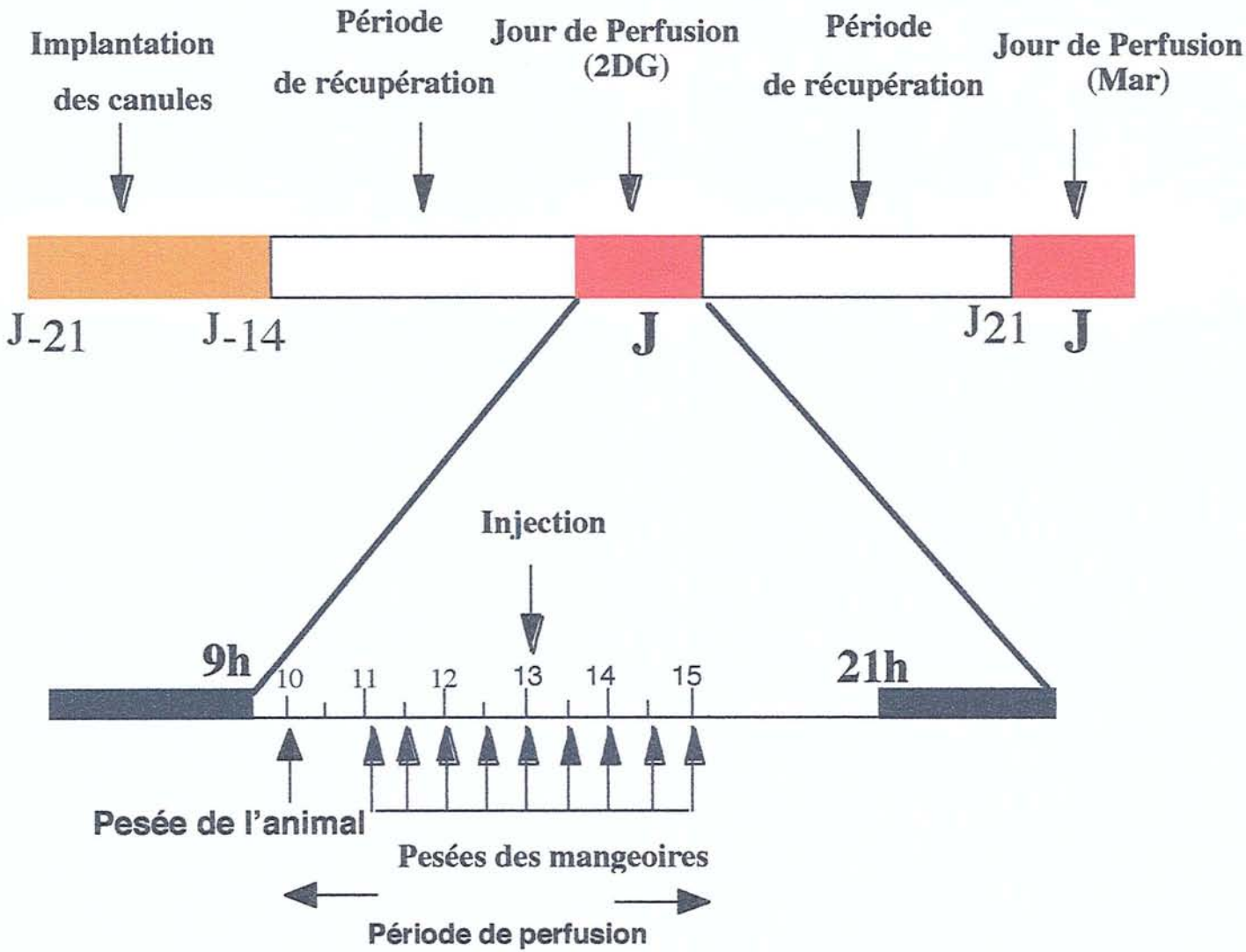


Figure 11 : Protocole de perfusion Push-Pull

* Type de sonde adaptée à la technique de push pull (figure 12) :

Elle a été mise au point par nous-même au laboratoire. Le corps externe de la canule est constitué d'une aiguille spinale Yale (Becton-Dickinson) de gauge 25G (diamètre externe : 520µm, diamètre interne : 260µm). Afin de réduire la hauteur d'implantation, l'ailette antérieure de l'aiguille spinale est supprimée avec une fraise de dentiste. La canule est mise à la longueur de 10 mm pour une implantation dans le noyau paraventriculaire. La pointe de l'aiguille spinale est délicatement abrasée afin de réduire les dommages tissulaires lors de la descente de la canule dans le parenchyme cérébral. Le corps interne de la canule est constitué par une extrémité plastique de style G20 percée en son milieu et sur toute sa longueur afin d'y loger une partie d'aiguille G20 (diamétre antérieure: 900µm, diamètre interne: 700µm) dépassant de 4 à 5mm vers le bas. Elle est prolongée par une aiguille G25 qui pénétrera dans la canule de même taille auparavant implantée dans l'animal. La partie push (aiguille G33 , longueur : 50mm, diamètre externe 210µm, diamètre interne : 110mm) traverse la sonde sur toute la longueur et ressort de 1mm du tube G25 tandis que la partie pull s'arrête dans la section G20 de la sonde. La partie push et la partie pull dépassent de 1 à 2cm par l'extrémité en plastique, et sont munies d'une tête d'aiguille de G26 de manière à y introduire les cathéters des pompes push et pull.

* Mise en place sur l'animal :

La partie externe (canule"push") est implantée par stéréotaxie. Pendant la perfusion, le stylet est remplacé par la partie interne (canule "push" et deuxième canule "pull").

* Zone utile de perfusion :

La zone de perfusion est constituée par le volume d'échange entre la canule et le tissu cérébral qui l'entoure. Ce volume est directement relié :

- à la protusion du tube "push" par rapport au tube "pull",
- au diamètre du tube "pull".

Il peut être calculé en considérant un cylindre droit à base circulaire, à partir d'un cercle de diamètre égal à celui du tube "pull".

$S = \pi D^2/4$

$V = \pi H. D^2/4$

D : diamètre du tube "pull"

H : protusion du tube "push" par rapport au tube "pull"

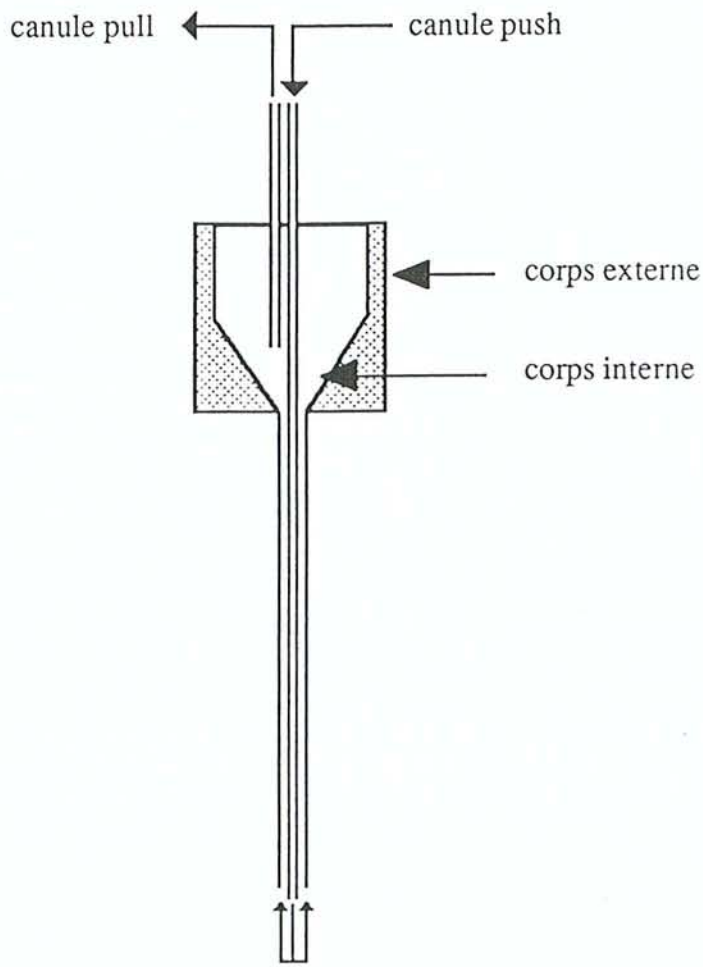


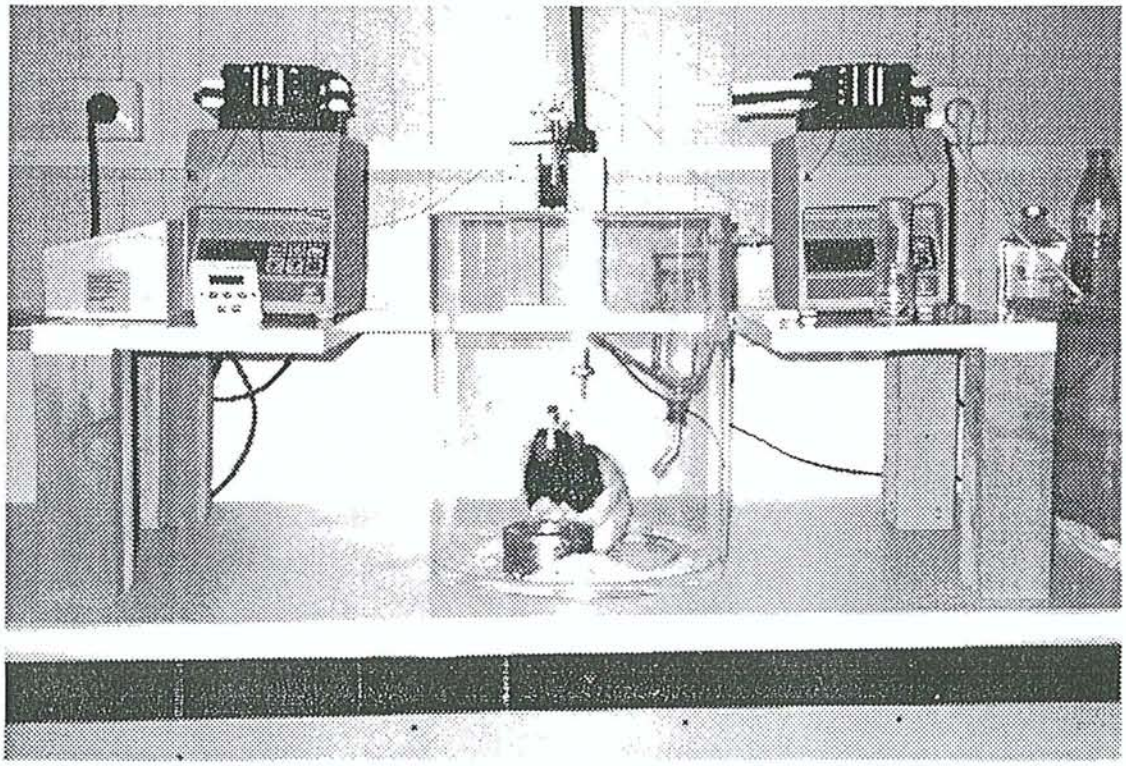
Figure 12 : Sonde de perfusion Push-Pull

* Environnement expérimental

Les séances de perfusion sont effectuées dans une pièce spécifique. Cette pièce aveugle de 18 m^2 au sol comprend un sas d'entrée (4 m^2) et un groupe d'aspiration d'air (renouvellement total de l'air 3 fois par heure). Elle reproduit les conditions de stabulation d'un box expérimental d'animalerie. La pièce est habillée d'une paillasse supportant un plateau technique de perfusion.

Le plateau technique de perfusion push-pull est constitué de deux pompes péristaltiques à commande numérique (Gilson Minipuls 3,4 canaux). L'ensemble est représenté sur la photo 1. La pompe push et la pompe pull sont connectées à la canule de perfusion push-pull par l'intermédiaire d'un cathéter technicon de diamètre interne 0,64 mm (orange/ blanc; 0,23cc/mm); les deux pompes péristaltiques sont reliées à un joint tournant à deux voies (Havard Apparatus Bioscience, France) par l'intermédiaire d'un cathéter Fandre n° 1 dans la sortie push, et d'un cathéter Fandre n°2 (dans l'entrée pull). Ces mêmes cathéters relient l'animal (la sonde) au joint tournant qui est fixé à l'extrémité d'un bras oscillant permettant de limiter la tension exercée sur la sonde par le couple animal/cathéters.

Les animaux sont placés dans des cages circulaires transparentes avec de l'eau à volonté pendant tout la durée de perfusion (Photo 1).



* Equilibre des flux en perfusion push-pull in *vivo*

La perfusion Push-pull nécessite la présence d'un équilibre constant des flux permettant l'obtention d'un bilan net égal à zéro. Cet état de fait découle de deux phénomènes, en partie liés:

- à l'absence d'interface entre le tissu et le liquide de perfusion (système ouvert),
- à l'existence d'un équilibre instable (au cours du temps).

Trois dimensions importantes sont à prendre en compte par l'expérimentateur :

- la dimension physique : c'est-à-dire la mesure exacte des flux,
- la dimension temporelle : c'est-à-dire les modifications des grandeurs physiques au cours du temps,
- la dimension physiologique : elle est engendrée par la présence d'une interface biologique dans le système de perfusion.

* Calibration des pompes push et pull

Le débit (µl/mn) en sortie d'une pompe péristaltique dépend de deux facteurs :

- le diamètre du cathéter (en mm),
- la vitesse de rotation (en tours/mn).

Seule la vitesse de rotation est contrôlée par l'expérimentateur. Elle est exprimée en tours/min sur la face avant de la pompe de perfusion. La précision (mesure exacte du flux) dépend en grande partie de la qualité du cathéter et de la qualité de la pompe péristaltique (qualité des galets, qualité du moteur).

Les pompes péristaltiques Gilson Miniplus 3 ont été choisies pour les raisons suivantes :

- plage de vitesse de rotation étendue : de 0,01 à 48 tours/mn,
- stabilité excellente de la vitesse de la tête de pompe : 0,1% de la vitesse de rotation,
- incrément de 0,01 t/mn entre 0 et 10 tours/mn,
- contre-pression maximale de 5 bras en sortie du cathéter (à 10 cm de la tête de la pompe).

Les calculs nécessaires à la calibration des pompes à l'équilibration des flux ont été réalisés suivant la méthode utilisée par A. Stricker- Krongrad (These, 1993).

* Equilibration des flux *in VIVO* en perfusion PUSH-PULL

L'équilibration des flux en perfusion push-pull sur l'animal vigile non contraint est un des objectifs qui reste le plus difficile à atteindre, et à maintenir au cours du temps, dans

l'établissement de cette technique. En effet, l'absence d'interface entre le milieu de perfusion et le tissu perfusé prend des proportions encore plus critiques dans un système vivant vigile dont le comportement reste imprévisible.

Il en découle, des mesures physiques faites dans les paragraphes précédents pour prédire le comportement du système de perfusion, qu'*in vivo*, la rupture nette de l'équilibre des flux est un facteur totalement imprévisible et ne peut donc pas être anticipée par l'expérimentateur. Celui-ci doit donc se placer dans des conditions telles que :

- le rétablissement de l'équilibre des flux soit le plus rapide et le plus précis possible,
- le comportement de l'animal soit le plus propice au maintien de l'équilibre des flux.

Après implantation du corps externe de la canule de perfusion push-pull par stéréotaxie, les animaux sont laissés en repos pendant 7 jours (phase post-opératoire), pendant lesquels l'intégrité de la canule est vérifiée chaque jour. Cette vérification, qui prend place pendant la phase d'habituation des animaux à la manipulation, consiste à manoeuvrer plusieurs fois de suite le couple canule externe-canule interne. De plus, les sondes étant implantées dans le NPV, l'absence de remontée de liquide céphalorachidien (traduisant une rupture du troisième ventricule) est vérifiée. Avant la phase d'implantation stéréotaxique, le couple canule interne-canule externe subit les procédures expérimentales exposées au chapitre précédent :

- calibration des cathéters (abaque vitesse/débit),
- calcul du rapport de pas K en phase aérienne.

Cette procédure permet d'associer à chaque couple de canules un rapport de pas K qui sera utilisé comme référence au début de la séance de perfusion in vivo.

Le déroulement d'une séance de perfusion comprend trois phases critiques :

- la mise en place du corps externe de la canule sur l'animal et sa solidarisation,
- l'établissement des flux dans le système de perfusion,
- le maintien de l'équilibre des flux durant la perfusion.

Pour des raisons de commodités, les animaux sont perfusés pendant la phase claire qui correspond à la période de repos chez le rat. En effet, c'est durant cette période que les animaux sont les plus calmes, ce qui facilite grandement la séance de perfusion.

La séance de perfusion commence entre 9h et 10h le matin, et dure 5 à 6 heures.

Dans un premier temps, l'animal est transféré de sa cage dans celle de perfusion push-pull, où il a de l'eau et de la nourriture à volonté sauf dans certains protocoles que nous décrirons plus tard. Pendant l'habituation de l'animal à l'environnement expérimental (15 à 30 mn), les cathéters pull et push sont remplis de liquide céphalorachidien artifiel par rétro-pompage. Le corps interne est introduit avec précaution dans le corps externe de la canule push-pull. Une fois l'ensemble solidarisé, l'animal se trouve relié au système de perfusion push-pull.

Dans un deuxième temps, et approximativement à heure fixe afin d'éliminer des variations de libération qui seraient dues à des différences nycthémérales en terme de fractionnement (variations temporelles), les flux sont établis dans le systéme de perfusion. La vitesse de la pompe pull est alors affichée à la valeur réelle du débit désiré.
La stimulation du sysème à NPY a été réalisée par des injections intrapéritonèales de Les solutions de 2-déoxy-D-glucose ($C_6H_{12}O_5$; 2DG) et de mercaptoacétate ($C_2H_2O_2SNa$; Mer) (Sigma Chemicals, La Verpillière, France). Ces solutions sont diluées dans du LCR ainsi que les différentes doses de NPY (Sigma Chemicals, La Verpillière, France). A la fin de la période expérimentale, le placement des canules a été vérifié sur coupes frontales de 20 µm colorées à la thionine de Laskey. L'examen du placement de la tête de la canule de perfusion push-pull montre que cette extrémité se situe dans l'extension latérale du noyau paraventriculaire, loin de toute atteinte ventriculaire.

IV.4. Euthanasie

Les animaux sont sacrifiés après un jeûne de 4 heures pour provoquer une vidange gastrique. Le tronc est séparé de la partie céphalique à l'aide d'une guillotine, et le sang est recueilli sur un mélange d'inhibiteur des protéases (Iniprol R; 4000 UI/ml) et d'anticoagulant (EDTA; 10mg/ml). Le sang est ensuite centrifugé (4°C; 2000g; 20mn), puis la fraction plasmatique est prélevée et répartie en aliquots de 1 et 0,5 ml.

IV.5. Microdissection des structures nerveuses

Après décapitation de l'animal, le scalp est retiré avec des ciseaux. Puis deux incisions parallèles sont faites pour retirer l'os occipital. Deux autres incisions rostrocaudales permettent de lever un volet osseux pariéto-frontal, laissant apparaître la partie supérieure de l'encéphale. Ensuite une profonde incision est faite entre la partie caudale des bulbes olfactifs et le reste du cerveau. Celui-ci est récliné, laissant apparaitre les deux nerfs optiques. Ceux-ci sont coupés pour éviter d'abimer la base du cerveau lors de son retrait. Le cerveau est prélevé puis immédiatement congelé à -80°C.

IV.5.1. Prélèvement des structures :

La microdissection des structures encéphaliques est réalisée suivant la méthode inspirée de Palkovits (1973) adaptée par Burlet et al. (1987). Le cerveau congelé est débité en coupes coronales épaisses (300µm) au microtome-cryostat (-7°C) dans le sens antéro-postérieur. Chaque coupe est recueillie sur une lame porte-objet propre et sèche. La microdissection des différents territoires se fait dans les vapeurs d'azote liquide sous une loupe binoculaire. Les

repères de microdissection sont tirés de l'atlas standard du cerveau de rat (Paxinos et al., 1982). Les noyaux sont prélevés à l'aide de trocards cylindriques de diamètre en relation avec leur taille (de 200 à 700 µm), ou bien disséqués au scalpel en tenant compte de leur morphologie. Les fragments sont immédiatemment immergés dans 500 µl de solution d'extraction (HCl 0,2 N ; Iniprol-EDTA 9:1(V/V) maintenus dans la glace fondante puis conservés à -80 °C jusqu'à extraction et dosage.
Les territoire suivants ont été prélevés :

ARC : noyau arqué
ACC : noyaux d'accumbans
NPV : noyau paraventriculaire
NSO : noyau supraoptique
NDM : noyau dorsomédian
NSC : noyau suprachiasmatique
NVM : noyau ventromédian
HL : hypothalamus latéral
LPO : aire préoptique latèrale
MPO : aire préoptique médiane
EM : éminence médiane
CX : cortex pariétal (zone témoin)

IV.5.2. Détermination de la taille des échantillons :

Les mesures biochimiques faites sur extraits tissulaires sont normalisées par le contenu protéique des noyaux, ce qui permet des comparaisons inter-noyaux intra-groupe ou intra-noyau inter-groupes.

IV.6. Dosage radioimmunologique

IV.6.1. Neuropeptide Y :

Le neuropeptide Y est mesuré par dosage radioimmunologique par défaut de réactifs (les anticorps étant en concentration insuffisante par rapport aux antigènes) (Yalow et Berson,1966). Les tissus microdisséqués sont homogénéisés par sonication (Vibra Cell, Danbury, CT) dans 500 µl de milieu d'extraction (HCl 0,2N, Iniprol ; EDTA 9:1(V/V)). Après centrifugation à 4°C, le surnageant est réparti en aliquots de 100µl. Au moment du dosage, les aliquots sont neutralisés par ajout de NaOH et dilués avec du tampon de dosage : tampon

phosphate 0,04M (pH=7,4) ; albumine sérique humaine (fraction V, Sigma Chemicals, La Verpillière, France), de l'azide de sodium 0,1% (Merck Darmstadt) et de l'aprotinine (Iniprol®, Laboratoires Choay ; 4000 IU/ml). Du NPY porcin (Sigma, La Verpillière, France) est utilisé comme standard. L'anticorps est un antisérum de lapin avec la spécificité suivante (pourcentage de réaction croisée):

Spécificité	% de réaction croisée
NPY	100%
HPP	0,02%
APP	0,007%
PYY	0,003%
VIP	< 0,001%

- HPP : Human Pancreatic Polypeptide
- APP : Avian Pancreatic Polypeptide
- PYY : Polypeptide YY
- VIP : Vasoactive Intestinal Peptide

Pour la gamme standard, les tubes de liaison non-spécifique et les échantillons (doublons) sont pré-incubés 24h à 4°C. Ensuite, 100 µl de I^{125}-NPY (10^4cpm, Amersham IM 170, Les Ulis, France) sont ajoutés et incubés 24 h supplémentaires. La séparation entre le peptide lié et le peptide libre se fait par addition de 500 µl d'un mélange 2% charbon (Norit A, Kodak,NPY)-0,2% dextran (T70, Pharmacia, Uppsala, Suède). La fraction liée est mesurée dans un scintillateur gamma (MDA 312 System, Kontron, Velizy, France) connecté à un micro-ordinateur pour le calcul de la courbe standard et des résultats (en ng/noyau).

Dans ces conditions, la liaison maximale est de 36,9 ± 3,6 %, la liaison non-specifique de 7,7 ± 0,9 %, et la décroissance de 50% (IC50) est obtenue pour 0,48 ± 0,05ng/ml.

IV.6.2. Insuline :

L'insuline immunoréactive (IRI) est mesurée par une technique radio-immunologique (un seul anticorps, précipitation avec du charbon) utilisant un kit commercial (INSIK, CIS, Gif sur Yvette, France), et de l'insuline de rat comme standard (Novo, Copenhague).

IV.6.3. Autres dosages :

Le glucose plasmatique, le cholestérol et les triglycérides sont mesurés par méthodes colorimétriques enzymatiques (GOP/PAP, CHOD/PAP et GPO/PAP, respectivement) à l'aide de kits commerciaux (Boehringer-Mannheim, Meylan, France).

Le contenu protéique tissulaire est mesuré sur un prélèvement de 100 µl après sonication (30 secondes). Il est mesuré par la méthode de Lowry avec réactif Folin (Lowry, 1951).

IV.7. Méthodes statistiques :

L'ensemble des résultats est présenté sous forme de moyenne ± l'erreur standard (myennes ± SEM). Ils sont comparés par une analyse de variance à une ou plusieurs voies dans les cas de distributions dissymétriques. Nous avons utilisé également les test-t de Student sur séries appariées ou indépendantes si la distribution des paramètres pouvait être comparée à une loi Normale (Gaussienne). Les analyses ont été réalisées au moyen d'un micro-ordinateur Macintosh (Apple Macintosh) utilisant un programme Statview 4,1. Les différences entre les groupes étudiés pour un test sont considérées comme significatives pour des valeurs de p inférieures à 0,05.

Dans la thèse de

Mademoiselle Rouba KOZAK

Il n'y a pas de page n° 45

V.1. Paramètres maternels

V.1.1. Poids maternel durant la période de gestation et de lactation :

Les résultats exposés dans le tableau 5 montrent les poids des trois groupes de mères (C), (HF) et (HC). Au début de la période d'accouplement, le poids des mères (270 à 285g) n'est pas significativement différent.

Après une semaine de gestation, une augmentation du poids est notée par rapport au poids initial, mais aucune différence n'est observée entre les trois groupes.

Même au troisième jour après la naissance, les poids des mères ne sont pas différents. Cependant, au 11ème jour après la mise bas, le groupe HF pèse significativement (12-14 %) moins que les deux autres groupes de mères ($p < 0,001$). Cette différence persiste jusqu'à la fin de la période d'allaitement.

poids corporel (g)	C	HC	HF
Accouplement	275,5 ± 4,5	284,4 ± 5,8	274,3 ± 3,5
J 7 de gestation	296,6 ± 6,7	288,8 ± 4,5	300,4 ± 7,0
J 3 d'allaitement	293,0 ± 6,0	294,8 ± 5,1	286,2 ± 5,0
J 11 d'allaitement	298,9 ± 4,9	293,9 ± 6,0	260,7 ± 10,5***
J 17 d'allaitement	296,6 ± 9,2	302,6 ± 3,7	266,6 ± 11,8*
J 21 d'allaitement	295,1 ± 7,0	294 ± 3,5	261,9 ± 10,2**

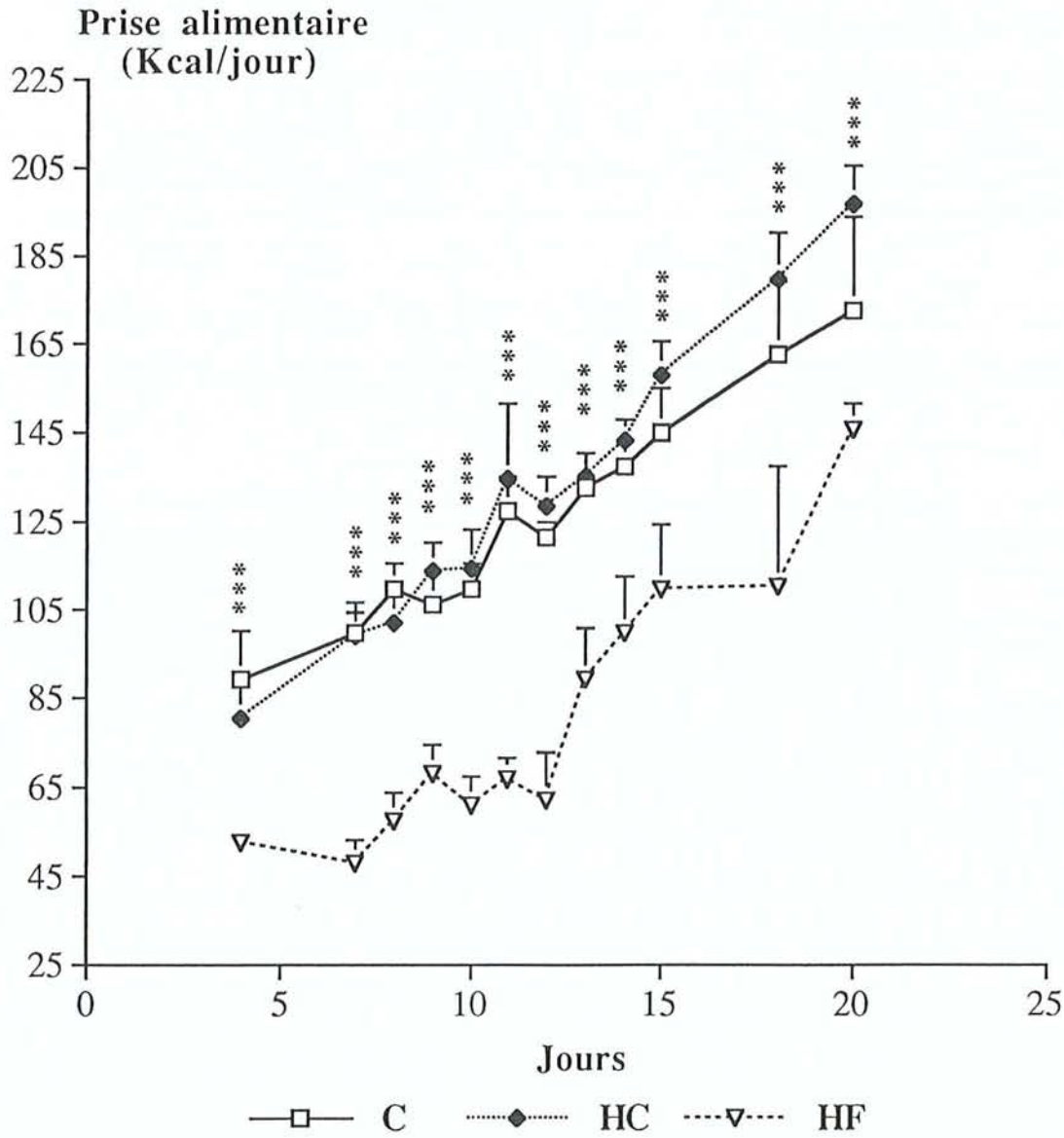
Tableau 5 : Poids corporel de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 16), hyperglucidique (HC; n = 20) ou hyperlipidique (HF; n = 17) durant la période de gestation et d'allaitement. * : HF vs C, HC; $p < 0,05$, ** : HF vs C , HC; $p < 0,01$, *** : HF vs C, HC; $p < 0,001$.

V.1.2. Prise alimentaire maternelle durant la période de lactation :

La prise alimentaire a été enregistrée à partir du 4ème jour de la période de lactation chez les trois groupes de mères. Le résultat exposé sur le graphique 1 montre que la prise calorique des mères HF est moindre que celle des mères C ou HC.

Au 4ème jour, la différence est de l'ordre de 73% ($p < 0,01$) par rapport au groupe des mères C, et 55 % ($p < 0,02$) par rapport au groupe des mères HC (89,9± 11,2 kcal (C), 80,6 ± 8,5 kcal (HC), 52,6 ± 3,2 kcal (HF)).

Cette différence persiste à être significative au 20ème jour de la période de lactation (au sevrage) ; elle est de l'ordre de 18 % ($p < 0,001$) par rapport au groupe des mères C et 35 % ($p < 0,001$) par rapport au groupe des mères HC (172,7 ± 21,0 kcal, 197,6± 8,9 kcal, 145,5 ± 6,2 kcal) pour C, HC, HF respectivement.



Graphique 1 : Prise alimentaire (moyennes ± SEM) durant la période d'allaitement chez des mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 14), hyperglucidique (HC; n = 15) ou hyperlipidique (HF; n = 12). Différences significatives, *** : C , HC vs HF; $p < 0,001$.

V.1.3. Paramètres plasmatiques maternels :

Les résultats concernant les données de quelques paramètres plasmatiques chez les trois groupes de mères à la fin de la période de lactation (au sevrage), montrent (graphique 2) que les taux de glucose plasmatique ne sont pas significativement différents entre les trois groupes de mères (6,68 ± 2,24 (HC); 7,13 ± 0,26(C) ; 6,65 ± 0,35 (HF) mmol/L), ainsi que le taux de cholestérol (1,75 ± 0,10 (C) ; 1,74 ± 0,10 (HC) ; 1,72 ± 0,06 (HF) mmol/L), et celui des triglycérides (1,03 ± 0,10 (C) ; 1,23 ±0,12 (HC);0,9 ± 0,09 (HF) mmol/L).

V.1.4. Performance maternelle :

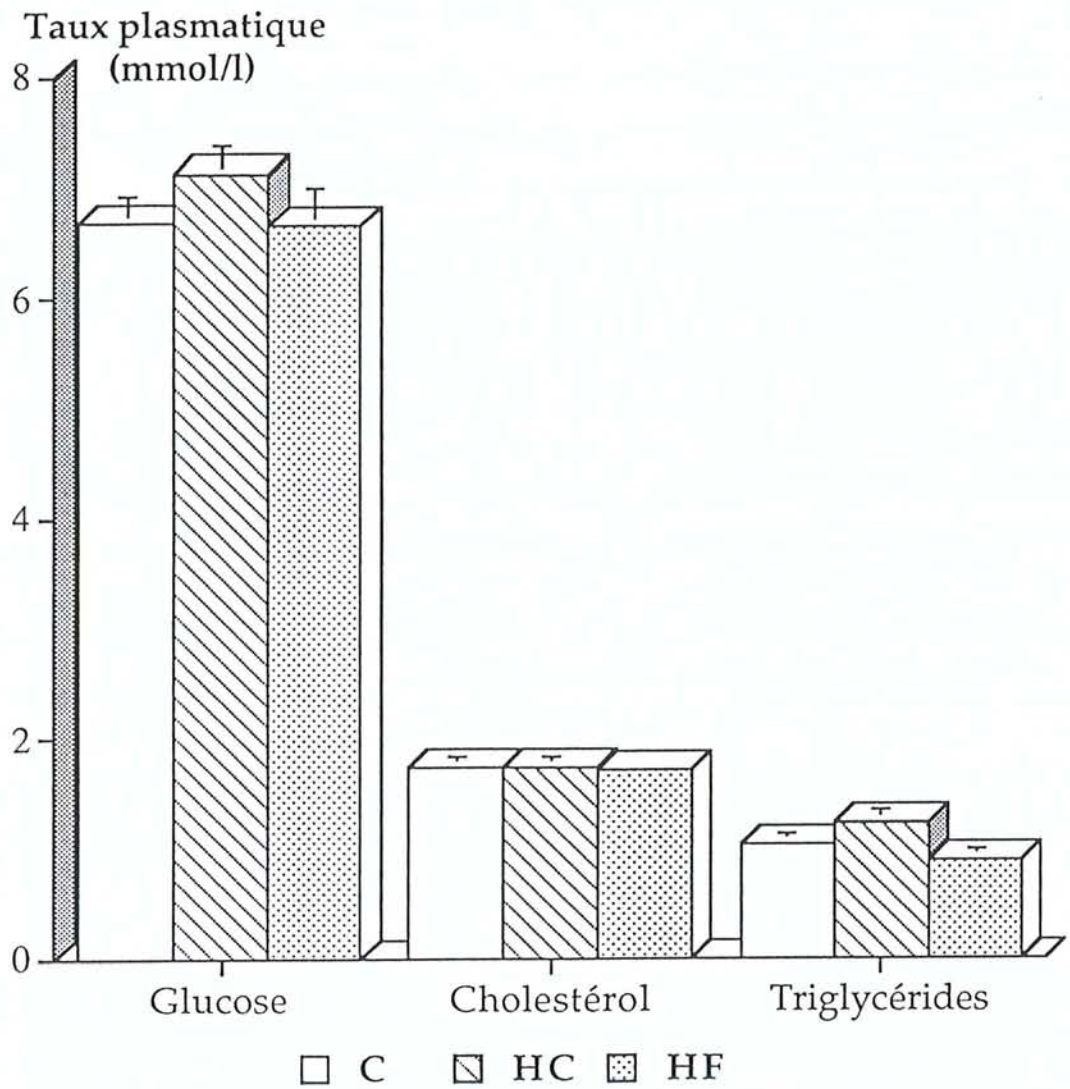
Durant la période de gestation, le type de régime (HC, HF) n'altère pas la capacité de reproduction chez les rats femelles, ni la durée de gestation, quand elles sont comparées au groupe contrôle.

Le nombre de petits par portées et la survie des ratons ne sont pas affectés chez ces deux groupes de mères HC et HF par rapport au groupe contrôle C (n = 10 ± 2).

La performance maternelle durant la période de lactation a été estimée par la mesure du gain de poids chez les nourrissons. Ils montrent que la performance des mères HF est altérée par rapport au groupe contrôle C tandis que la performance des mères HC est comparable à celle des mères contrôle. La mesure du poids des petits à 3, 11, 17 et 21 jours montre que le gain pondéral entre les 3ème et 11ème jours chez les nourrissons des mères HF est significativement moins important que dans les deux autres groupes (11,4 ± 0,9g (C) et 12,4 ± 0,7g (HC) ; 7,3 ± 0,4g (HF); $p < 0,001$).

Entre le 11 ^{ème} et le 17 ^{ème} jour, la différence de gain pondéral persiste entre le groupe HF, le groupe HC et le groupe C (7,1 ± 1,2g (HF) vs 14,0 ± 0,6g (C) ; $p < 0,001$ et vs 11,3 ± 1,0g (HC); $p < 0,005$).

La différence de gain pondéral n'est plus apparente entre les nourrissons des mères HF et C entre 17 et 21 jours après la naissance (11,1 ± 1,5g (HF) vs 14,7 ± 2,4g (C)) ; par contre, cette différence persiste encore entre les nourrissons de mères HC et HF (11,1 ± 1,5g (HF) vs 18,5 ± 1,6g (HC) ; $p < 0,004$).



Graphique 2 : Taux plasmatique de glucose, cholestérol, triglycérides (moyennes ± SEM) au sevrage chez des mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 14), hyperglucidique (HC; n = 15) ou hyperlipidique (HF; n = 12).

V.2. Etude sur les descendants

V.2.1. Paramètres physiologiques :

V.2.1.1. Influence de la composition du régime maternel sur le poids corporel des descendants :

Les résultats sont exposés sur le graphique 3. Ils indiquent les poids des rats dès le 3 ème jour de la naissance jusqu'à l'âge adulte (6 -7 mois), chez les trois groupes.

Au 3ème jour après la naissance (graphique 3a), les rats du groupe HC pèsent significativement plus que ceux des autres groupes (7,0 ± 0,2g vs 6,0 ± 0,2g (HF); $p < 0, 001$ et vs 6,3 ± 0,2g (C); $p < 0, 02$).

A 11 jours, la différence entre HC et C n'est plus apparente tandis que les rats du groupe HF pèsent significativement moins que ceux des autres groupes (13,8 ± 0,5g vs 19,0 ± 0,6g (HC) et vs 17,8 ± 0,7g (C); $p < 0,0001$).

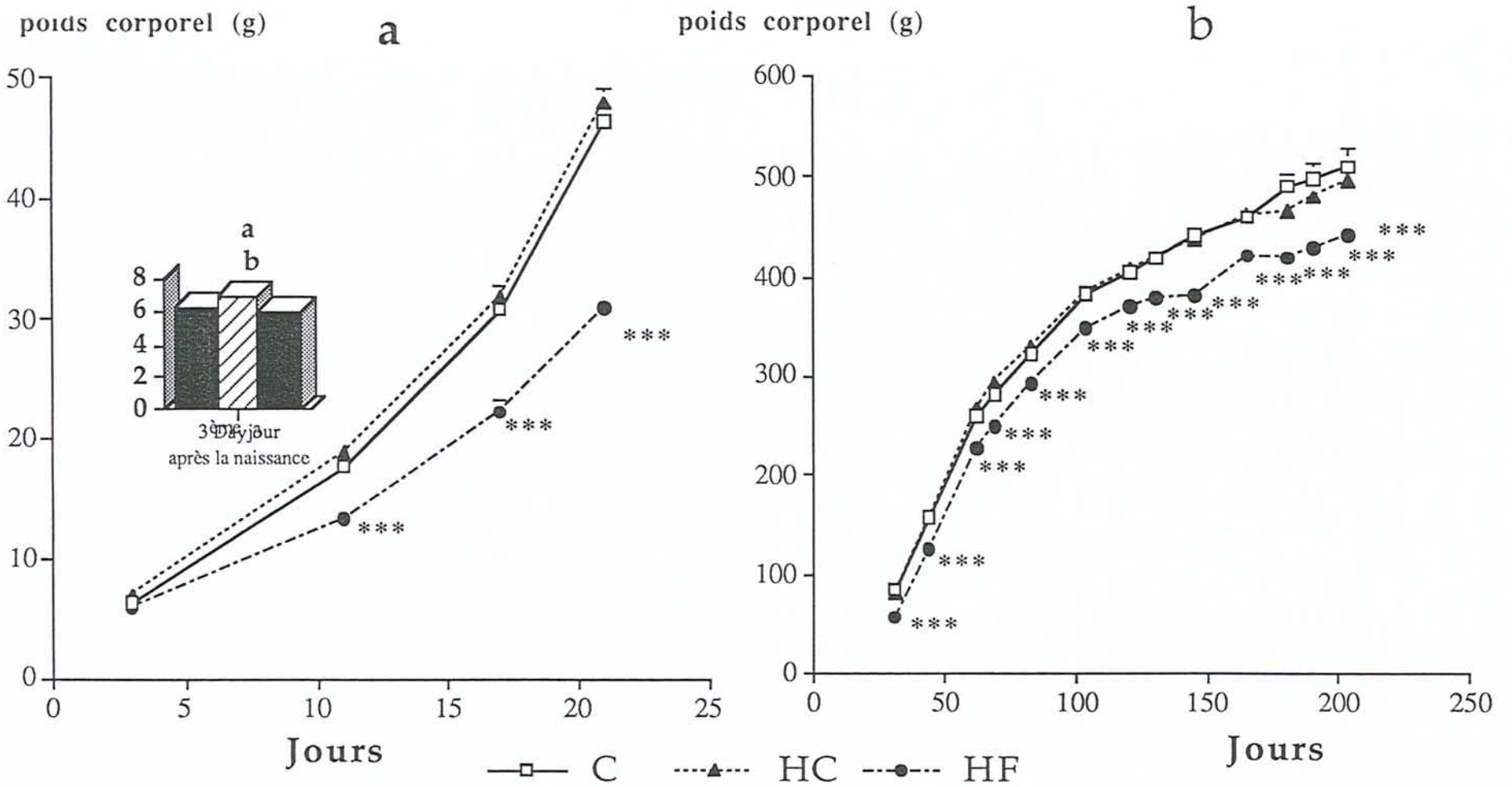
Au sevrage (21 jours), la différence entre le groupe HF et les deux autres groupes est de 48 à 54 % (31,0 ± 0,9g vs 48,0 ± 1,17g (HC) et 46,5 ± 1,1 g (C); $p < 0,0001$). Cette différence persiste jusqu'à l'âge adulte (graphique 3b), mais diminue au cours du temps. A 93 jours, cette différence est de l'ordre de 13 à 16% (309,5 ± 6,5g (HF) vs 360,2 ± 4,2g (HC) et vs 349,8 ± 6,4g (C); $P < 0,0001$). A 120 jours, elle est de l'ordre de 9 à10 % (369,1 ± 7,2 g (HF) vs 407,7 ± 5,3g (HC) et vs 404,8 ± 7,4g (C); $p < 0,0001$). Et à 204 jours, elle est de 12 à 16 % (440,3 ± 8,6 g (HF) vs 495,2 ± 8,7g (HC) et vs 510,4 ± 17,7g (C); $p < 0,0001$).

V.2.1.2. Influence de la composition du régime maternel sur certains paramètres plasmatiques des descendants :

Les résultats concernant les données de quelques paramètres plasmatiques chez les trois groupes des rats à deux périodes, au sevrage et à l'âge adulte (6 -7 mois), sont exposés sur le graphique 4.

Au sevrage, la glycémie du groupe HF est significativement plus basse que celle des animaux contrôle ou HC, (6,6 ± 0,2 mmol/L (HF) vs 7,7 ± 0,2 mmol/L (HC) et vs 7,8 ± 0,2 mmol/L (C); $p < 0,0001$).

Cette diminution est associée à une diminution de l'insuline plasmatique immunoréactive chez ce même groupe par rapport aux deux autres groupes, (1,97 ± 0,30 ng/ml (HF); 3,78 ± 0,36 ng/ml (HC); 4,30 ± 0,45, ng/ml (C); $p < 0,0001$).



Graphique 3 : Poids corporel chez des rats nés de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 33), un régime hypergluciduque (HC; n = 25) ou un régime hyperlipidique (HF; n = 24) pendant les périodes de gestation et allaitement. Différences significatives : *** : HF vs C, HC; $p < 0,001$, **a** : HC vs C, $p < 0,01$, **b** : HF vs HC ; $p < 0,03$.

ou au groupe HC (2,87 ± 0,10 mmol/L (HF) vs 2,38 ± 0,05 mmol/L (HC); $p < 0,0001$ et vs 2,56 ± 0,83 mmol/L (C); $p < 0,02$).

Aucune différence n'a été observée entre les trois groupes au niveau des triglycérides (1,32 ± 0,17 mmol/I (C); 1,71 ± 0,21 mmol/L (HC); 2,10 ± 0,34 mmol/L (HF)).

A l'âge adulte, les taux de glucose, de cholestérol et d'insuline ne sont plus significativement différents entre les trois groupes de rats (graphique 5).

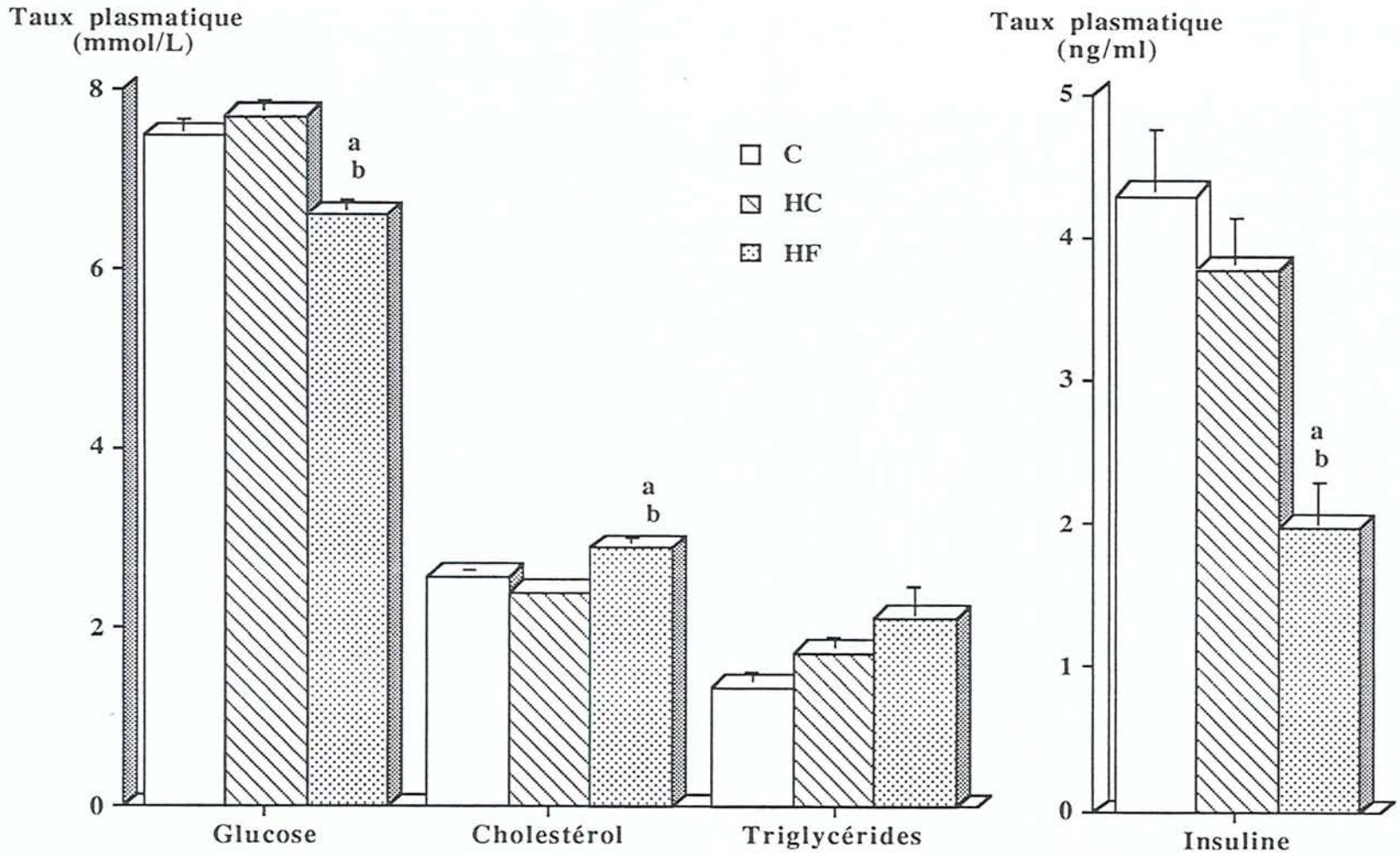
Le taux de triglycérides chez les groupes HF et HC tend à être significativement plus élevé que celui des rats contrôle (4,06 ± 0,42 mmol/I (HC) et 4,14 ± 0,48 mmol/I (HF) vs 2,69 ± 0,28 mmol/L (C); $p < 0,056$) (graphique 5).

V.2.1.3. Consommation de régime équilibré chez les jeunes rats et les rats adultes des deux groupes expérimentaux en comparaison des rats contrôles :

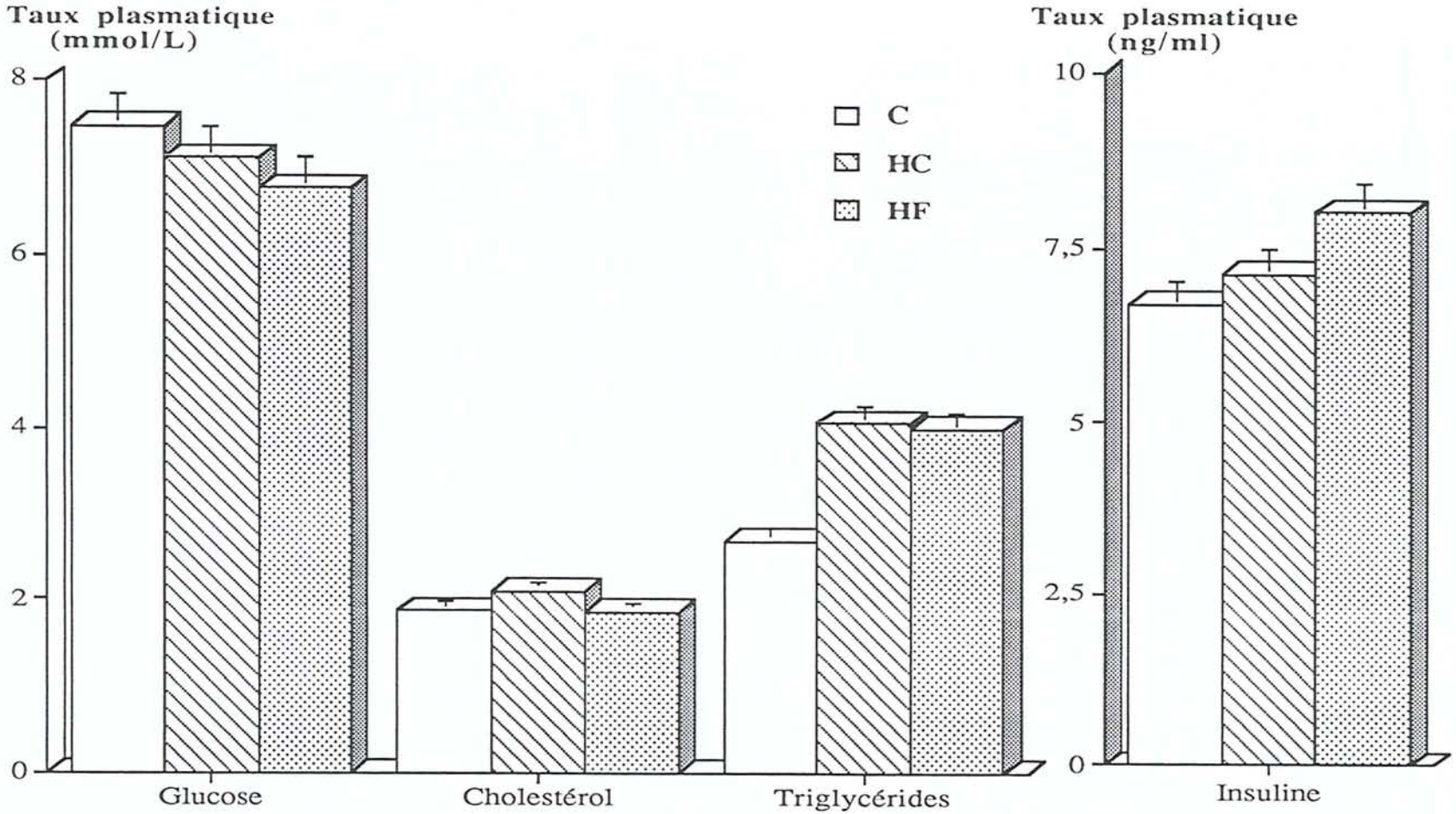
La prise calorique des rats a été mesurée durant 5 jours à deux périodes de la vie (35 et 100 jours). Les résultats sont exprimés sur le graphique 6.

Chez les jeunes rats du groupe HF, la prise calorique est significativement moins élevée que chez les deux autres groupes : -15% ; $p < 0,001$ par rapport aux jeunes rats contrôle C, et -20% ; $p < 0,001$ par rapport aux HC (200,8 ± 4,1kcal (C) ; 190,5 ± 4,1 kcal (HC) ; 166,2 ± 5,7 kcal (HF).

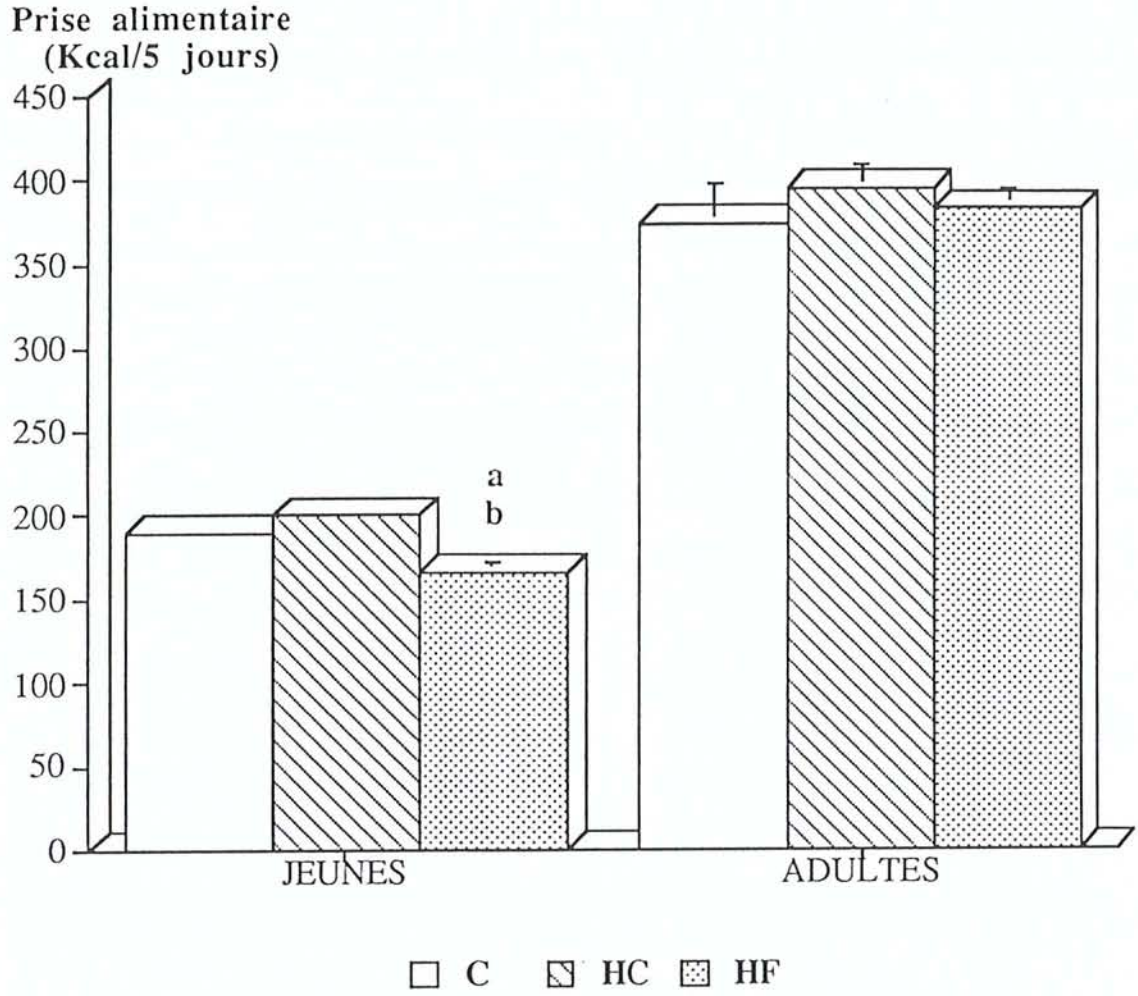
Cette différence de prise alimentaire entre les trois groupes disparaît à l'âge adulte (373,6 ± 24,3 Kcal (C) ; 394,0 ± 14,1kcal (HC) ; 382,2 ± 11,6 kcal (HF)).



Graphique 4: Taux plasmatique de glucose, cholestérol, triglycérides et insuline (moyennes ± SEM) au sevrage chez des ratons nés de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 15), hyperglucidique (HC; n = 21) ou hyperlipidique (HF; n = 21). Différences significatives : **a** : vs C; **b**: vs HC, $p < 0,05$.



Graphique 5 : Taux plasmatiques de glucose, cholestérol, triglycérides et insuline (moyennes ± SEM) à l'âge adulte chez des rats nés de mères nourries avecun régime contrôle (C; n = 12), hyperglucidique (HC; n = 10) ou hyperlipidique (HF; n = 11).



Graphique 6 : Prise alimentaire (moyennes ± SEM) chez des rats jeunes (35J) et des rats adultes (100 J) nés de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 14), hyperglucidique (HC; n = 15) ou hyperlipidique (HF; n = 12). Différences significatives : **a** : vs C, $p < 0,001$; **b** : vs HC, $p < 0,001$.

V.2.1.4. Mesure des tissus adipeux :

La mesure de la masse du foie et des tissus adipeux (périrénal, épididymaire et sous-cutané) est exposée dans le tableau 6. Aucune différence significative n'a été notée entre les trois groupes à l'âge adulte (6-7 mois), à l'exception des tissus adipeux épididymaires chez le groupe de rats HF qui pèsent significativement moins que chez le groupe contrôle (-20%, $p < 0,005$). Une tendance à la baisse apparaît également chez le groupe HC (-11%, $p < 0,07$).

Poids des tissus (g)	C	HC	HF
Foie	13,3 ± 0,6	13,8 ± 0,4	12,6 0,4
Tissu adipeux total	40,8 ±1,9	42,3 ± 2,8	36,7 ± 2,8
Tissu adipeux périrénal	11,7 ± 0,8	11,2 ± 0,6	10,8 ± 0,4
Tissu adipeux épididymaire	12,1 ± 0,7	10,8 ± 0,4	9,8 ± 0,3**
Tissu adipeux sous-cutané	18,4 ± 1,5	18,8 ± 0,7	16,2 ± 0,7

Tableau 6 : Poids des différents tissus adipeux des rats adultes nés de mères nourries avec un régime contrôle (C ; n = 23), hyperglucidique (HC ; n = 29) ou hyperlipidique (HF ; n = 29), ** : HF vs C; $p < 0,01$.

V.2.2. Etude des préférences alimentaires

V.2.2.1.Tests de choix aigus (1h) :

- **Chez les jeunes rats** à 1 mois (30 jours), la mesure du choix entre deux régimes liquides RG et RL chez les trois groupes de rats (graphique 7) montre que :

La prise totale des régimes pendant la durée (1h) ne diffère pas entre les groupes (3,0 ± 0,2g (C); 3,2 ± 0,3g (HC); 3,1 ± 0,3g (HF); n.s.). La prise du régime liquide RG chez le groupe contrôle C est significativement plus importante que la consommation de régime liquide RL (2,0 ± 0,2g vs 1,2 ± 0,1g ; $p < 0,004$) ; la consommation de régime RG ne diffère pas de la

consommation de RL chez les deux autres groupes : 1,8 ± 0,2g vs 1,3 ± 0,2g pour HC et 1,5 ± 1,2g vs 1,59 ± 0,2g pour HF.

En terme de pourcentage (graphique 7), le même resultat est observé : le groupe contrôle consomme significativement plus de régime RG que de régime RL (62% vs 38%; $p < 0,001$), contrairement aux autres groupes qui ne montrent aucune préférence pour l'un ou l'autre de ces régimes : 55% vs 45% pour le groupe HC et 48% vs 52% pour le groupe HF. De plus, la consommation de régime RG chez le groupe HF est moins importante que chez groupe contrôle; par contre, la consommation de régime RL est plus importante ; $p < 0,05$.

- Chez les rats adultes

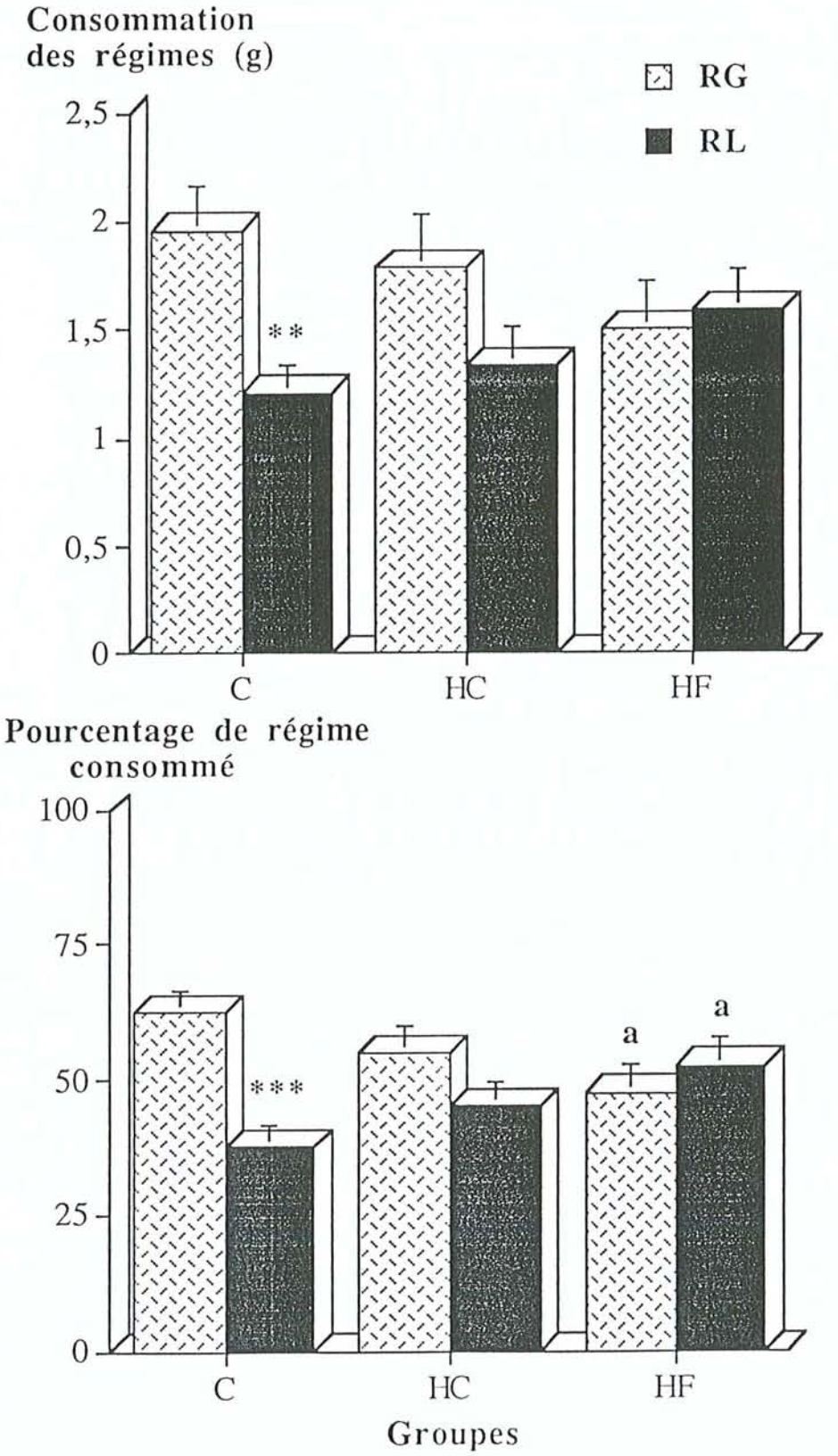
* A 3 mois (90 jours), la mesure du choix entre deux régime liquides RG et RL chez les trois groupes de rats (graphique 8) montre qu'aucune différence n'a été constatée entre les trois groupes quant à la consommation totale (6,4 ± 0,8g (C); 6,2 ± 0,5g (HC); 6,5 ± 0,5 (HF)), et que la préférence du groupe contrôle à ce stade va toujours vers le régime RG ; cependant, cette préférence est moins marquée que chez le rat jeune. La consommation de régime RG du groupe C tend à être plus élevée que celle de régime RL (3,8 ± 0,6g (RG) vs 2,5 ± 0,4g (RL) ; $p < 0,09$). Le groupe HC consomme significativement plus de régime RG que de régime RL (4,1 ± 0,5g (RG) vs 2,1 ± 0,2g (RL) ; $p < 0,003$). Le groupe HF ne montre toujours pas de préférence pour l'un ou l'autre régime (3,7 ± 0,6g (RG) vs 2,9 ± 0,4g (RL)).

En terme de pourcentage, la différence de consommation est significative entre les régimes RG et RL chez le groupe C (58 % vs 42% ; $p < 0,03$) et le groupe HC (63% vs 37%; $p < 0,001$), mais pas chez le groupe HF (54% vs 46%).

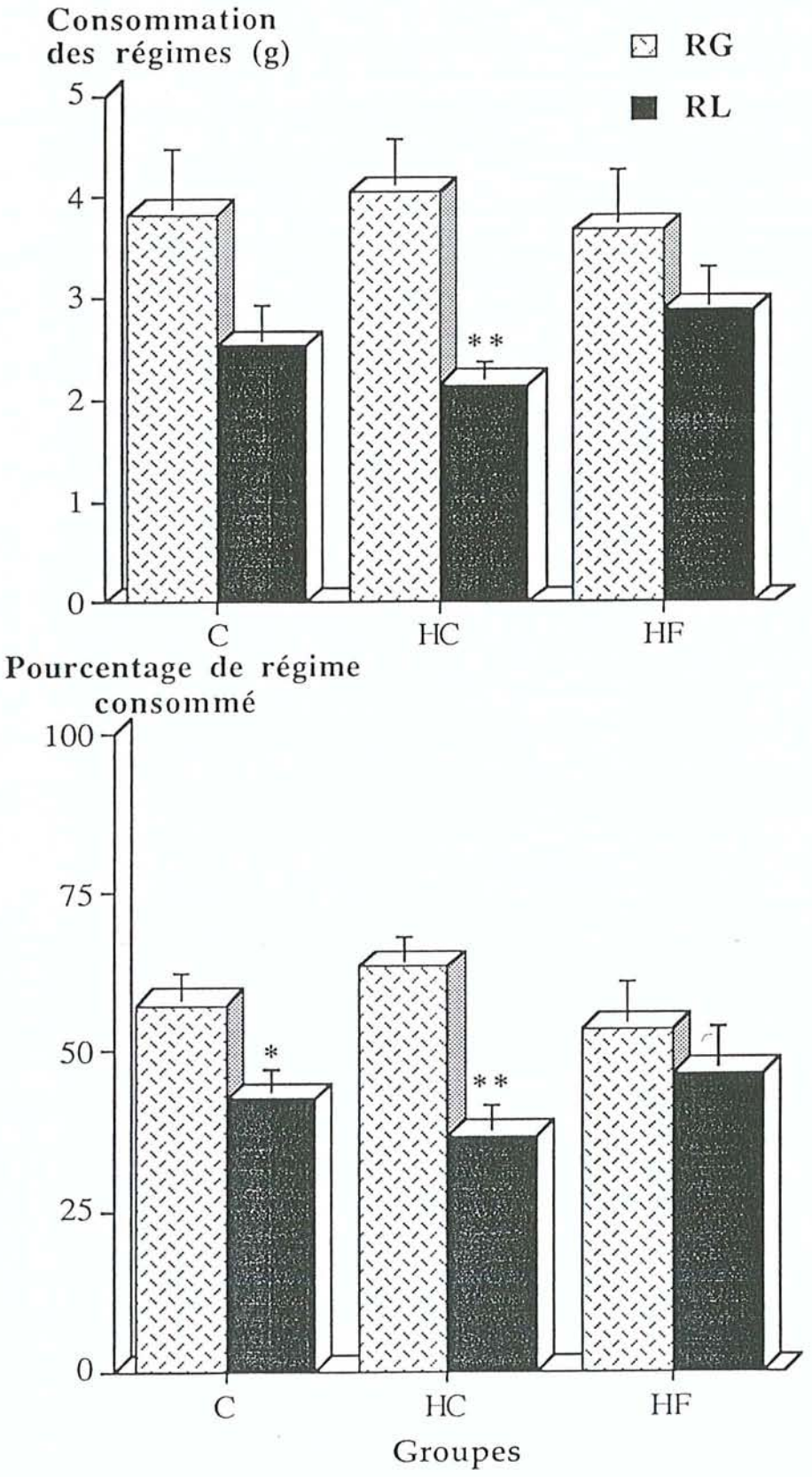
* A 4 mois (120 jours), la mesure du choix entre deux régimes liquides RG et RL chez les trois groupes de rats (graphique 9) montre que la préférence chez le groupe contrôle reste stable (2,4 ± 0.4g (RG) vs 1,8 ± 0,3g (RL) ; $p < 0,05$) mais le groupe HC ne montre plus de préférence pour le régime RG (3,5 ± 0,6g (RG) vs 2,77 ± 0,5g (RL) ; n.s.). Le groupe HF, à ce stade, montre plutôt une préférence pour le régime RG (3,0 ± 0,3g (RG) vs 1,9 ± 0,4g (RL); $p < 0,05$).

Les données exprimées en terme de pourcentage confirment ces résultats, c'est-à-dire une préférence stable pour le groupe C (57% (RG) vs 43% (RL) ; $p < 0,03$) et une modification de comportement pour les deux autres groupes :

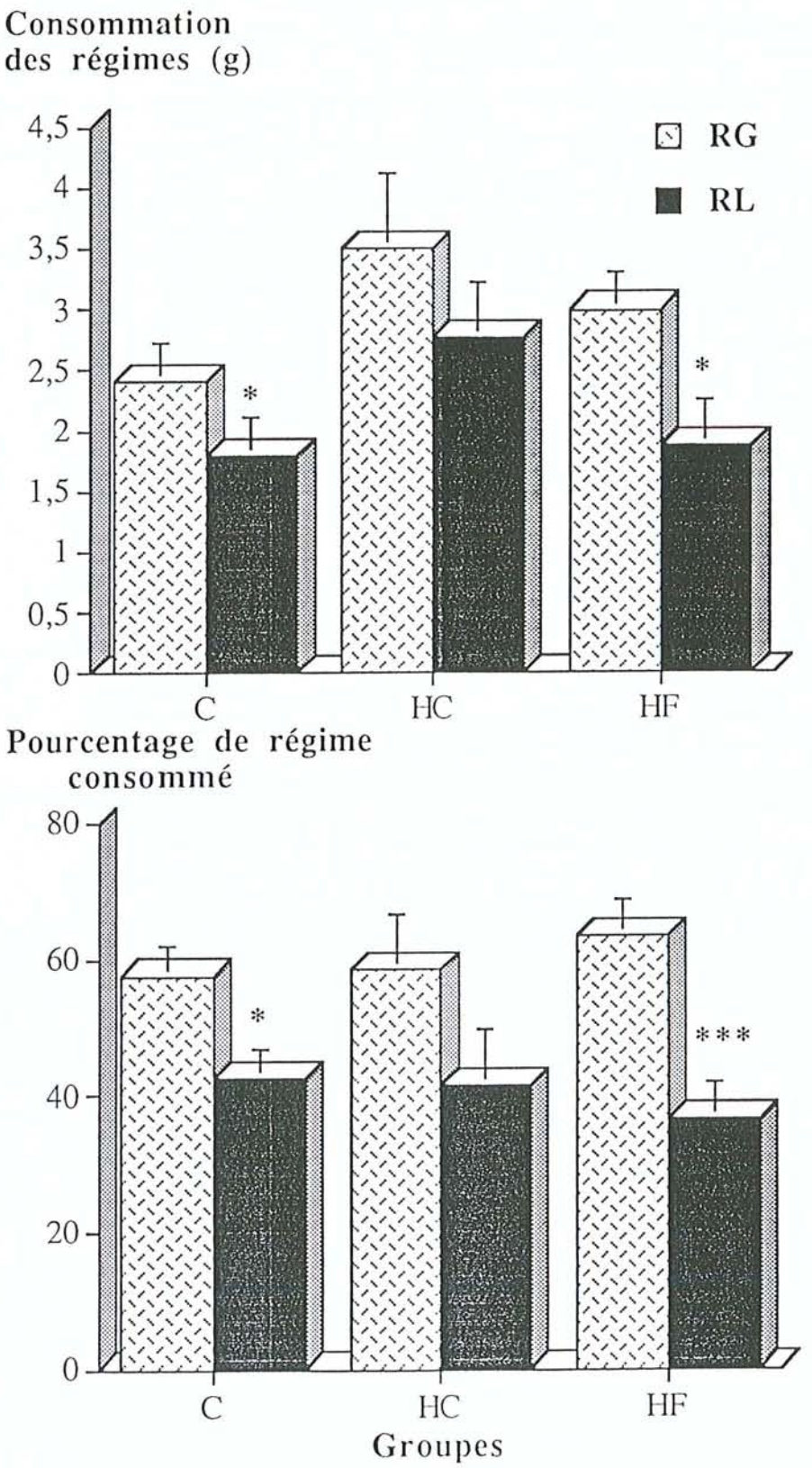
- le groupe HC ne montre plus de préférence pour le régime RG (54% (RG) vs 46% (RL)) ;
- le groupe HF montre une préférence envers le régime RG vs RL (63 % (RG) vs 37 % (RL); $p < 0,001$).



Graphique 7 : Test de consommation des régimes RG / RL (durée 1h) chez des rats de 1 mois issus de mères nourries avec un régime contrôle (C ; n = 27), hyperglucidique (HC ; n = 24) ou hyperlipidique (HF ; n = 20). Différences significatives, ** : RL vs RG; $p < 0,01$; ***: RL vs RG; $p < 0,001$; **a** : HF vs C; $p < 0,05$.



Graphique 8 : Test de consommation des régimes RG/RL (durée 1h) chez des rats de 3 mois issus de mères nourries avec un régime contrôle (C ; n = 12), hyperglucidique (HC; n = 12) ou hyperlipidique (HF; n = 11). Différences significatives *: RL vs RG , $p < 0,05$; ** : RL vs RG, $p<0,01$.



Graphique 9 : Test de consommation des régimes RG/RL (durée 1h) chez des rats de 4 mois issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 10), hyperglucidique (HC; n = 11) ou hyperlipidique (HF; n = 12). Différences significatives, *: RL vs RG, $p < 0,05$; *** : RL vs RG, $p < 0,001$.

V.2.2.1.a. Influence de la palatabilité sucrée sur le test de choix aigu :

La mesure du choix entre deux régimes liquides RG et RL+S chez les trois groupes de rats donne les résultats suivants :

- **Chez les jeunes rats** à 1 mois (32 jours), comme le montre le graphique 10, la prise alimentaire totale (RG et RL+S) ne diffère pas entre les trois groupes (2,6 ± 0,2 g (C) ; 2,5 ± 0,2 g (HC); 2,8 ± 0,3 g (HF)). Le groupe contrôle C et le groupe HC montrent une préférence pour le régime RG plutôt que le régime RL+S (1,5 ± 0,2g (RG) vs 1,1 ± 0,1g (RL+S) ; $p < 0.05$ (C), (1,5 ± 0,2 g (RG) vs 1,0 ± 0,1g (RL+S) ; $p < 0,02$ (HC)). Le groupe HF ne montre pas plus de préférence pour le régime RG que pour le régime RL + S (1,6 ± 0.1g (RG) vs 1,2 ± 0,1g (RL+S)).

En terme de pourcentage par rapport à la consommation totale, le groupe C consommer significativement plus de régime RG que de régime RL (61% (RG) vs 39% (RL+S), (c) $p < 0,05$, le groupe HC tend à consommer significativement plus de régime RG que de régime RL (58% (RG) vs 42% (RL+S); $p < 0,07$), tandis que le groupe HF ne montre pas de différence significative dans la consommation des deux régimes (56% (RG) vs 44% (RL+S), (HF)).

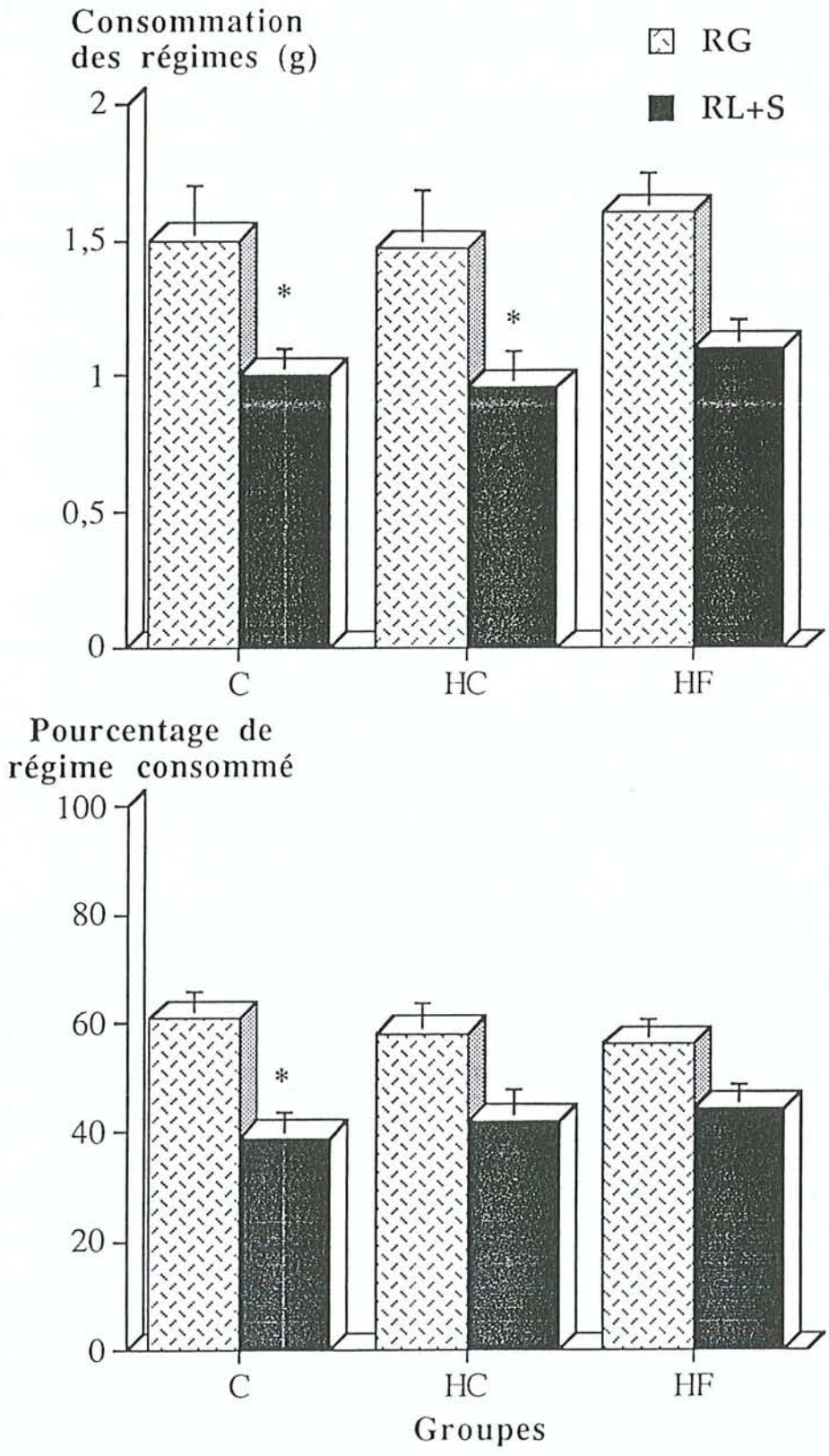
- **Chez les rats adultes** :

* A 3 mois (92 jours), le graphique 11 montre que la prise alimentaire totale (RG et RL+ S) ne diffère pas entre les groupes (5,9 ± 0,7g (C) ; 5,8 ± 0,6g (HC) ; 5,1 ± 0,6g (HF)). Le groupe contrôle C consomme significativement plus de régime RG que le régime RL+S (3,8 ± 0,5g (RG) vs 2,1 ± 0,3g (RL+S), $p < 0,01$). Les groupes HC et HF tendent à consommer plus de régime RG que de régime RL+S (3,6 ± 0,6 g (RG) vs 2,2 ± 0,3g (RL+S) ; $p < 0,07$) pour le groupe HC, (3,3 ± 0,6g (RG) vs 1,8 ± 0,3g (RL); $p < 0,09$) pour le groupe HF.

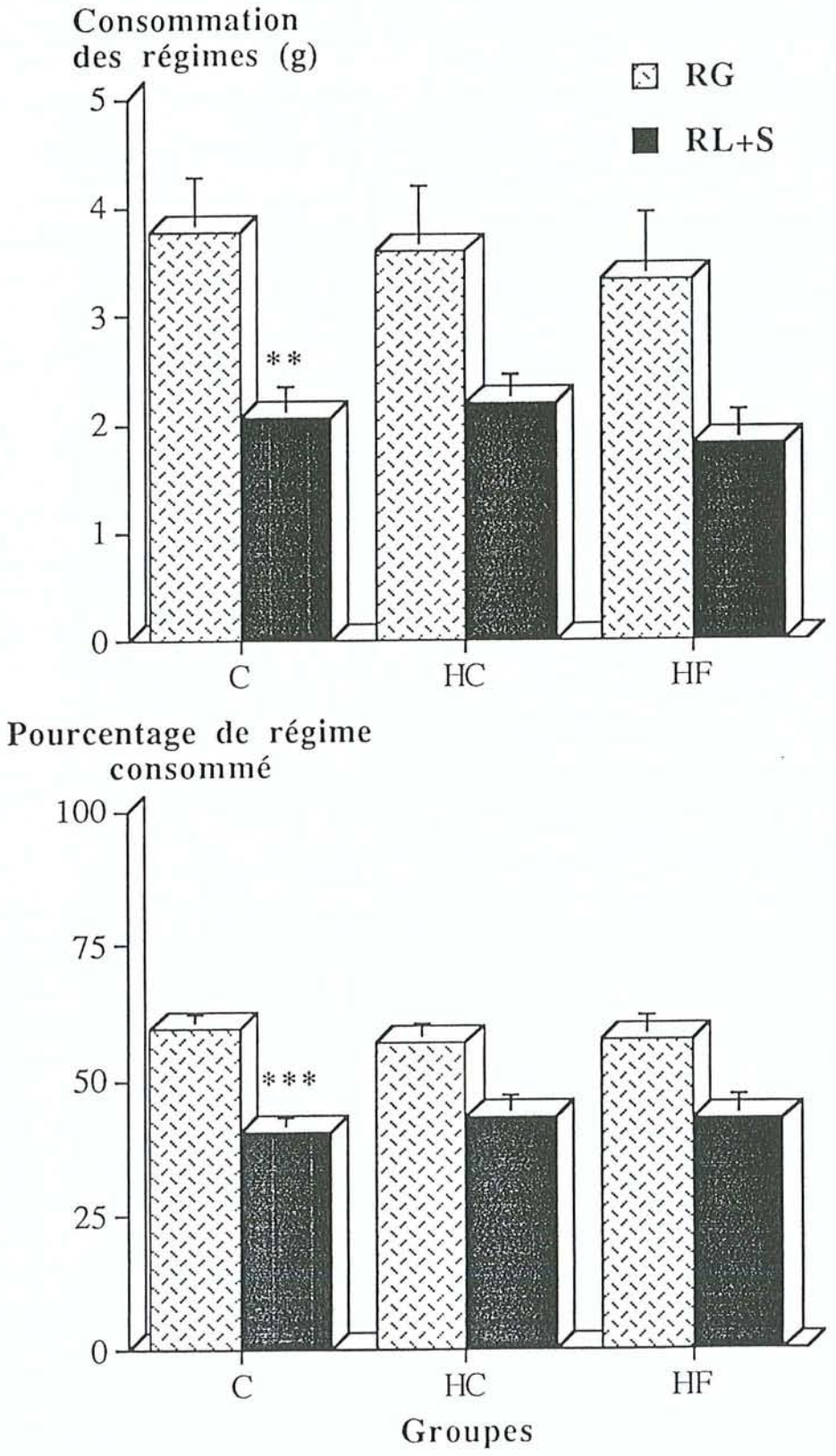
En terme de pourcentage par rapport à la consommation totale, le groupe contrôle consomme significativement plus de régime RG que de régime (RL+ S), (63% vs 37%, $p < 0.01$). Cette différence n'apparaît pas dans les deux autres groupes, (59% vs 41% (HC), $p < 0,2$) (60% vs 40% (HF), $p < 0,2$).

* A 4 mois (122 jours), le graphique 12 montre qu'il n'existe entre les trois groupes aucune différence significative au niveau de la consommation totale (RG et RL+S), (4,5 ± 0,6 (C), 4,4 ± 0,5 (HC); 4,1 ± 0,4 (HF)). La prise du régime RG ne diffère pas non plus de la consommation du régime RL+S dans chacun des groupes.

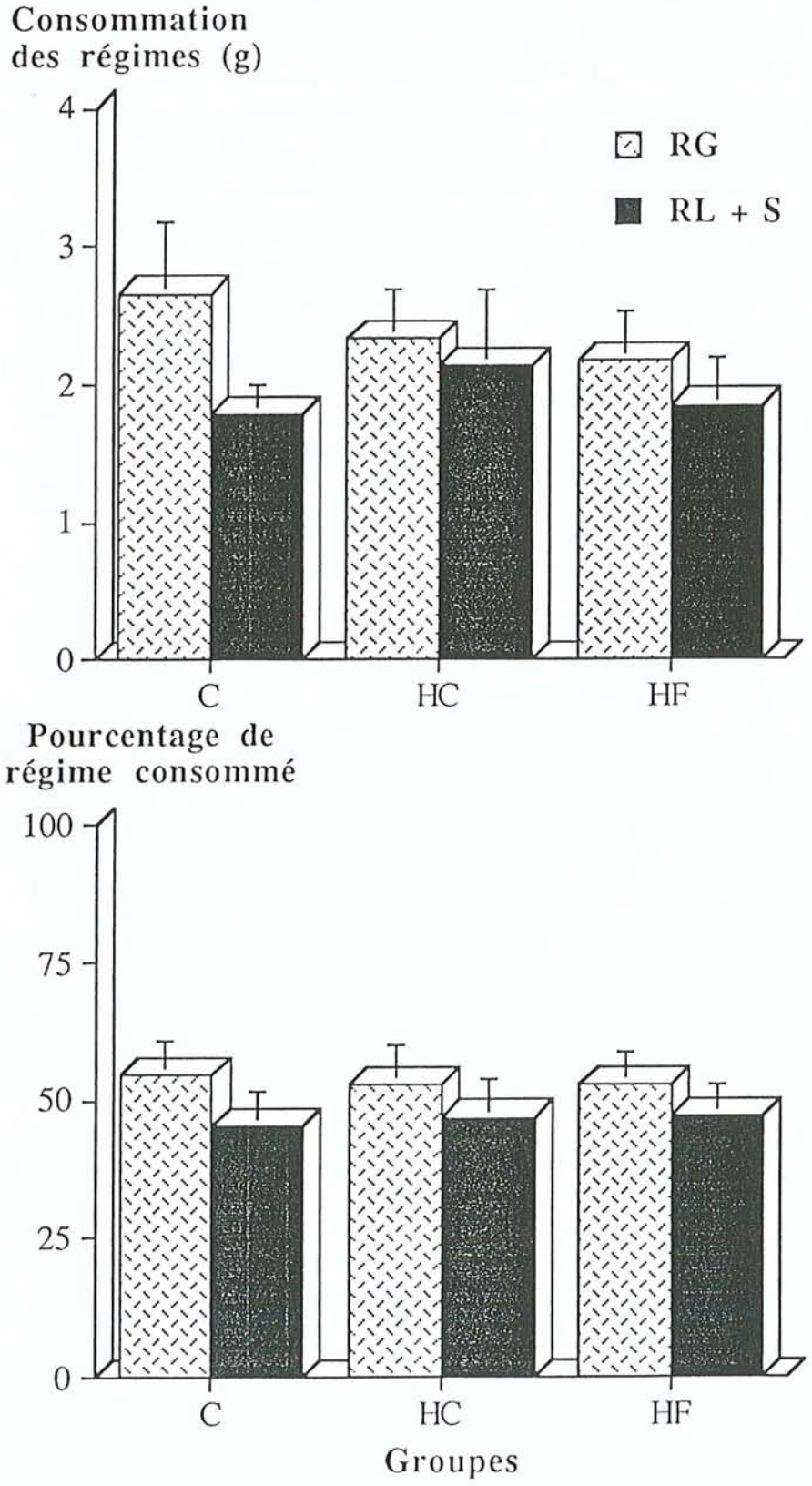
Ceci est confirmé également par les résultats exprimés en pourcentage par rapport à la consommation totale.



Graphique 10 : Test de consommation des régimes RG / RL+S (durée 1h) chez des rats de 1 mois issus de mères nourries avec un régime contrôle (C ; n = 27), hyperglucidique (HC ; n = 24) ou hyperlipidique (HF ; n = 20). Différences significatives * : RL+S vs RG, $p < 0,05$.



Graphique 11 : Test de consommation des régimes RG / RL+S (durée 1h) chez des rats de 3 mois issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 11), régime hyperglucidique (HC n = 10) ou hyperlipidique (HF; n = 12). Différences significatives **: RL+S vs RG, p< 0,01; ***: RL vs RG, p < 0,001.



Graphique 12 : Test de consommation des régimes RG / RL+S (durée 1h) chez des rats de 4 mois issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 11), hyperglucidique (HC; n = 10) ou hyperlipidique (HF; n = 12).

V.2.2.1.b. Influence de la palatabilité lipidique dans les tests de choix aigu :

La mesure du choix entre deux régimes liquides RG+P et RL chez les trois groupes de rats donne les résultats suivants :

- **Chez les rats jeunes** à un mois (33 jours), comme le montre le graphique 13, il n'existe entre les trois groupes aucune différence significative au niveau de la consommation totale (RG+P et RL), (2,5 ± 0,2g (C) ; 2,5 ± 0,3g (HC) ; 2,8 ± 0,2g (HF)). La prise du régime RG+P est significativement moins élevée que celle du régime RL chez les trois groupes expérimentaux ($p < 0,003$).

En terme de pourcentage par rapport à la consommation totale, la différence de consommation est significative entre le régime RG+P et RL chez les deux groupes C et HF ($p < 0,009$). Cette différence tend à être significative chez le groupe HC ($p < 0,08$).

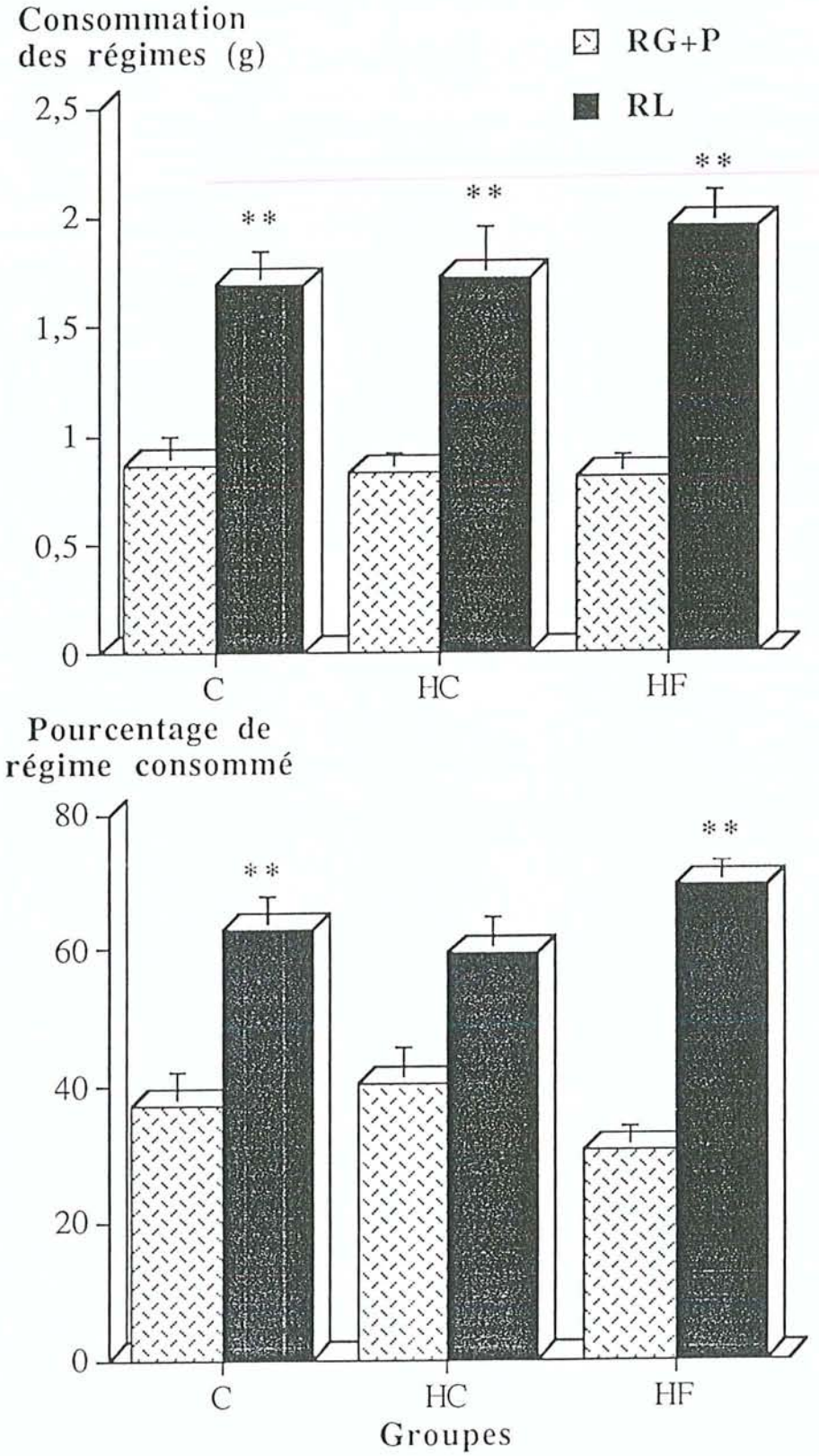
- **Chez le rat adulte**

* A 3 mois (93 jours), comme le montre le graphique 14, il n'existe entre les trois groupes aucune différence significative au niveau de la consommation totale. La prise du régime RG+P est significativement moins élevée que celle du régime RL chez les groupes C et HF ($p < 0,04$). Chez le groupe HC, cette différence tend à être significative ($p < 0,06$).

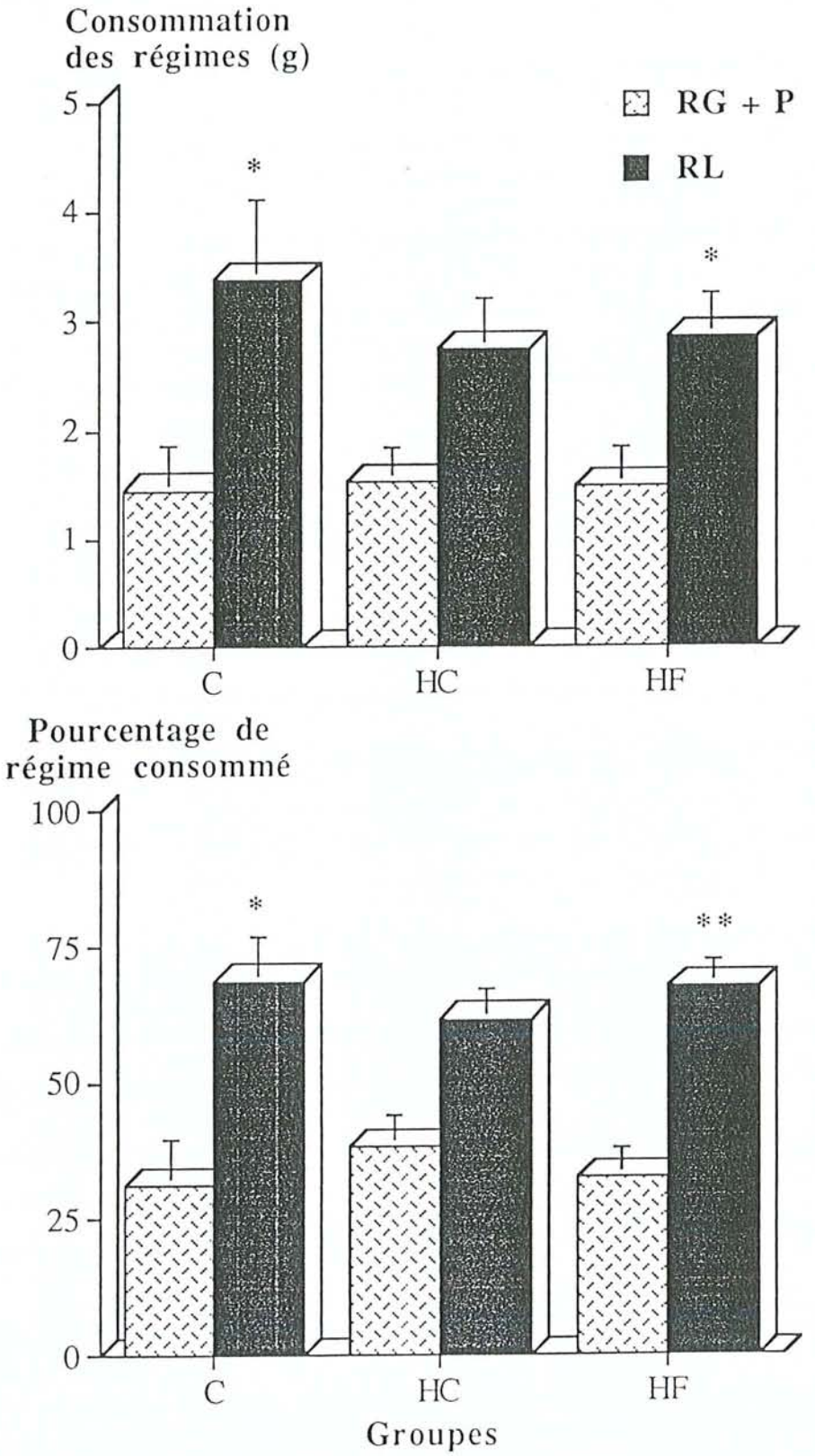
En terme de pourcentage par rapport à la consommation totale, la différence de consommation est significative entre le régime RG+P et RL chez le groupe C ($p < 0,05$) et le groupe HF ($p < 0,01$), la différence tend à être significative chez le groupe HC ($p < 0,06$).

* A 4 mois (123 jours), comme le montre le graphique 15, il n'existe entre les trois groupes aucune différence significative au niveau de la consommation totale. La prise du régime RG+P est significativement moins élevée que celle du régime RL chez les trois groupes expérimentaux ($p < 0,003$).

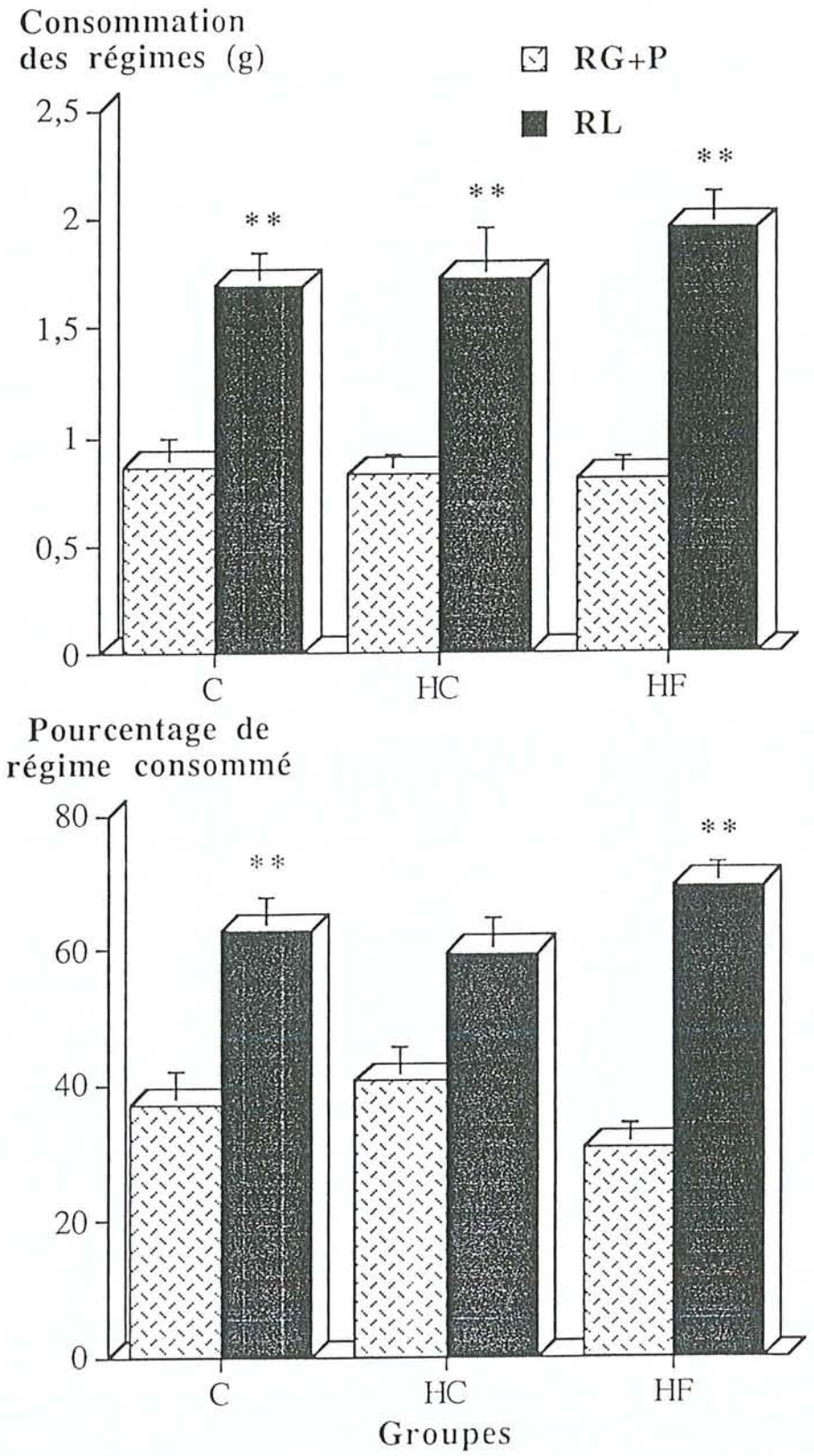
En terme de pourcentage par rapport à la consommation totale, la différence de consommation est significative entre le régime RG+P et RL chez les trois groupes ($p < 0,005$).



Graphique 13 : Test de consommation des régimes RG+P / RL (durée 1h) chez des rats de 1 mois issus de mères nourries avec un régime contrôle (C ; n = 27), hyperglucidique (HC ; n = 24) ou hyperlipidique (HF ; n = 20). Différence significative : **: RL vs RG+P, $p < 0,01$.



Graphique 14 : Test de consommation des régimes RG+P / RL (durée 1h) chez des rats de 3 mois issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 11), régime hyperglucidique (HC; n = 10) ou hyperlipidique (HF; n = 12). Différences signifivatives, * : RL vs RG+P, $p < 0,05$; ** : RL vs RG+P, $p < 0,01$.



Graphique 15 : Test de consommation des régimes RG+P / RL (durée 1h) chez des rats de 4 mois issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 11), hyperglucidique (HC; n = 10) ou hyperlipidique (HF; n = 12). Différence significative **: RL vs RG+P, $p < 0,01$.

V.2.2.2. Test de saveur sucrée :

Les résultats concernant la prise de solution sucrée à 20% en présence du régime équilibré et d'eau à volonté chez les trois groupes expérimentaux à différentes étapes du développement :

- **Chez les rats jeunes** à 1 mois (34 jours), comme le montre le graphique 16, la consommation du régime contrôle équilibré et la consommation de solution sucrée ne sont pas significativement différentes entre les trois groupes (13,3 ± 0,4g (C) ; 13,7 ± 0,4g (HC) ; 12,9 ± 0,4g (HF) pour le régime contrôle, et 25,7 ± 1,7g (C) ; 25,0 ± 2,5g (HC) ; 21,2 ± 1,2g (HF) pour la solution sucrée).

En revanche, la consommation totale de liquide chez le groupe HF est significativement moins importante que chez les deux autres groupes (33,9± 1,1g (HF) vs 38,0 ± 1,3g (C), $p < 0,04$ et 39,7 ± 2,2g (HC), $p < 0,01$).

La prise calorique totale chez les trois groupes expérimentaux ne diffère pas (81,1 ± 2,5Kcal (C) ; 83,4 ± 2,7Kcal (HC) ; 76,4 ± 2,2Kcal (HF)).

- **Chez les rats adultes**

* A 3 mois (94 jours) (graphique 17), la mesure de consommation du régime contrôle équilibré montre que le groupe HF consomme significativement moins que le groupe contrôle (16,6 ± 0,9g (HF) vs 22,1 ± 0,9g (C), $p < 0,007$). Cette différence tend à être significative avec le groupe HC (22,1 ± 0,9g (C) vs 19,3± 1,1g (HC), $p < 0,07$).

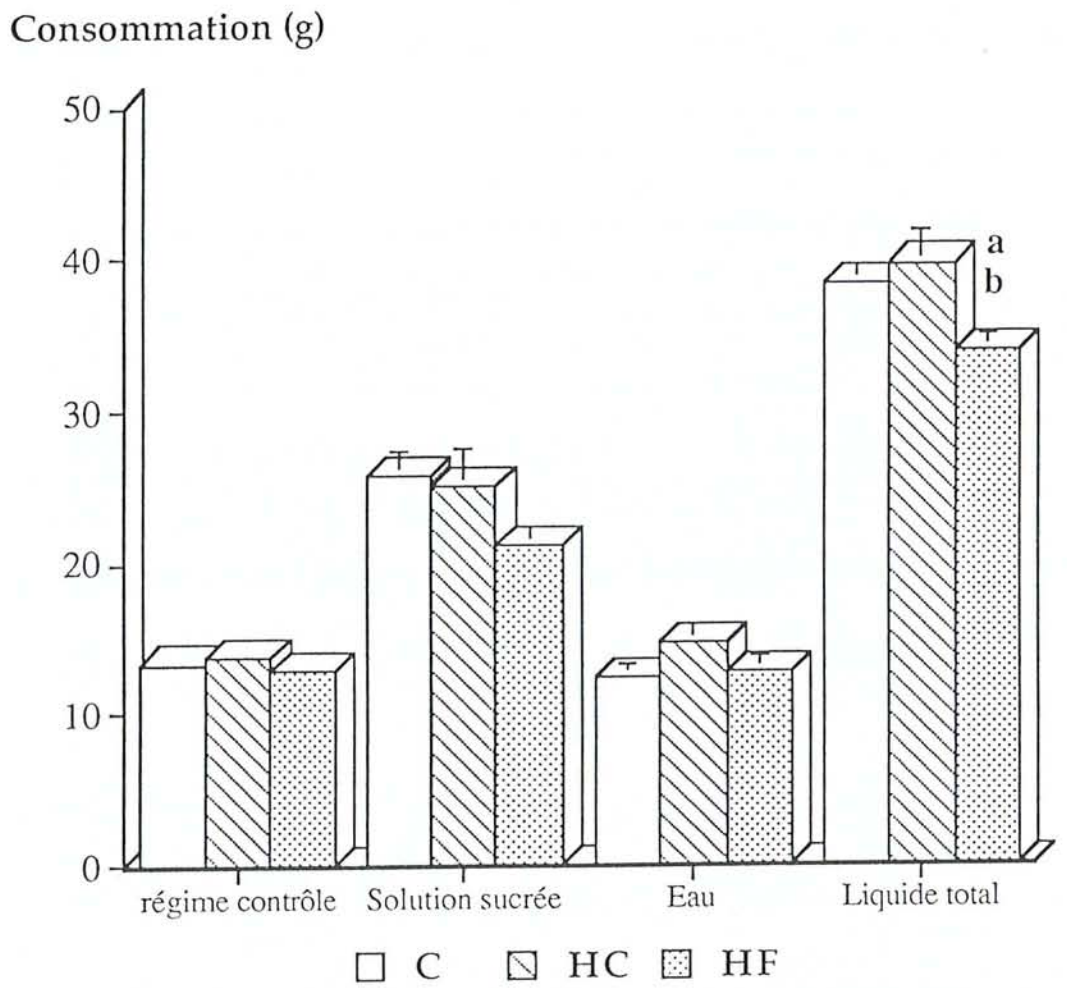
La consommation de solution sucrée est significativement plus importante chez le groupe HC que chez le groupe contrôle C (60,0 ± 3,6g (HC) vs 46,2 ± 3g (C), $p < 0,003$).

La consommation d'eau est différente entre les groupes HC et HF (9,2 ± 0,6g (HF) vs 15,5 ± 2,8g (HC) ; $p < 0,02$), mais il n'y a pas de différence significative entre le groupe contrôle et les deux autres groupes.

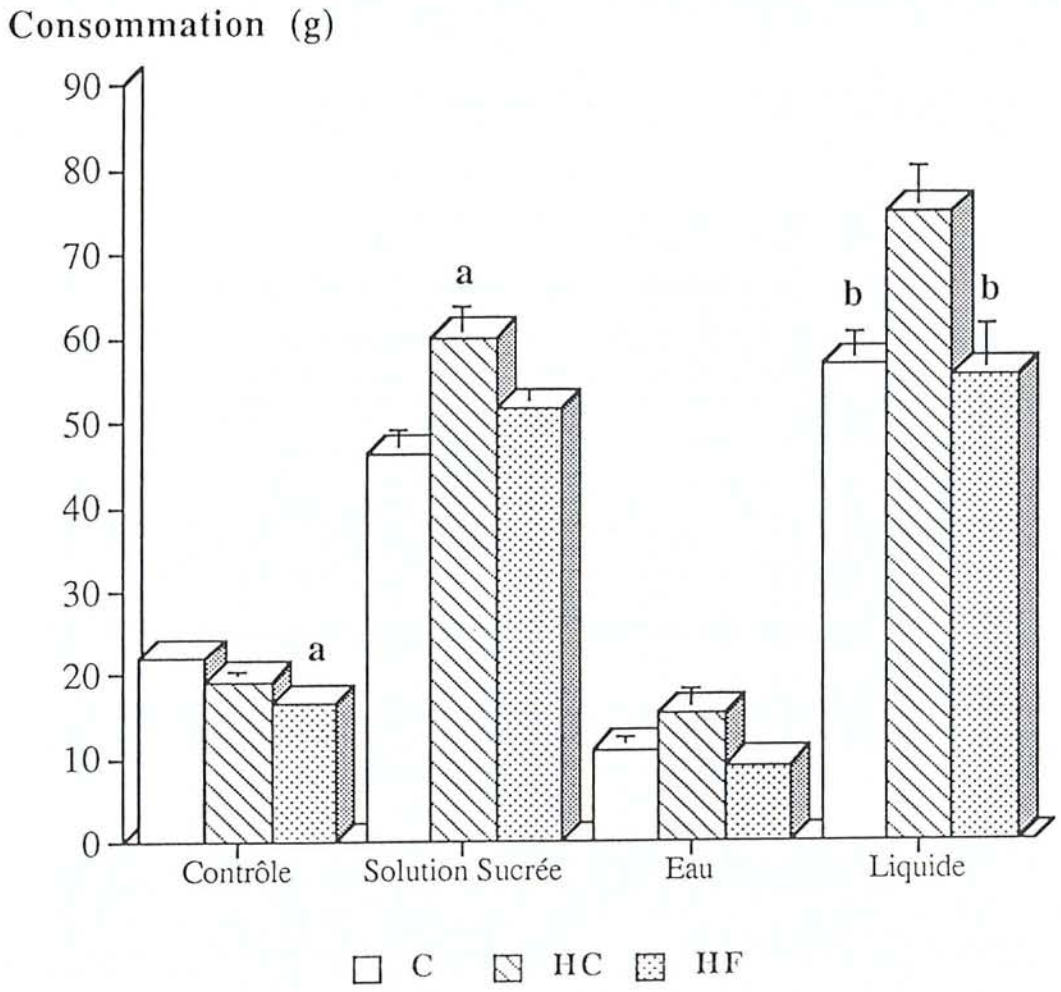
La consommation de liquide chez le groupe HC est significativement plus élevée que chez les deux autres groupes (75,5 ± 5,4g (HC) vs 60,8 ± 5,9g (HF), $p < 0,01$; 57,3 ± 3,8g (C), $p < 0,02$).

La prise calorique totale chez le groupe HC est significativement plus importante que chez les groupes HF et C (161,2 ± 8Kcal (HC) vs 140,2 ± 6,9Kcal (C), $p< 0,02$; 136 ± 3,9 Kcal (HF), $p < 0,03$).

A ce stade de développement, la préférence sucrée du groupe contrôle est moins marquée, alors que le groupe HC accentue sa préférence pour le régime sucré.



Graphique 16 : Consommation en situation de choix, du régime contrôle, de la solution sucrée et d'eau chez des jeunes rats (1 mois) (moyennes ± SEM) nés de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 32), hyperglucidique (HC; n = 24) ou hyperlipidique (HF; n = 26). Différences significatives, **a** : vs C, **b** : vs HC ; $p < 0,01$.



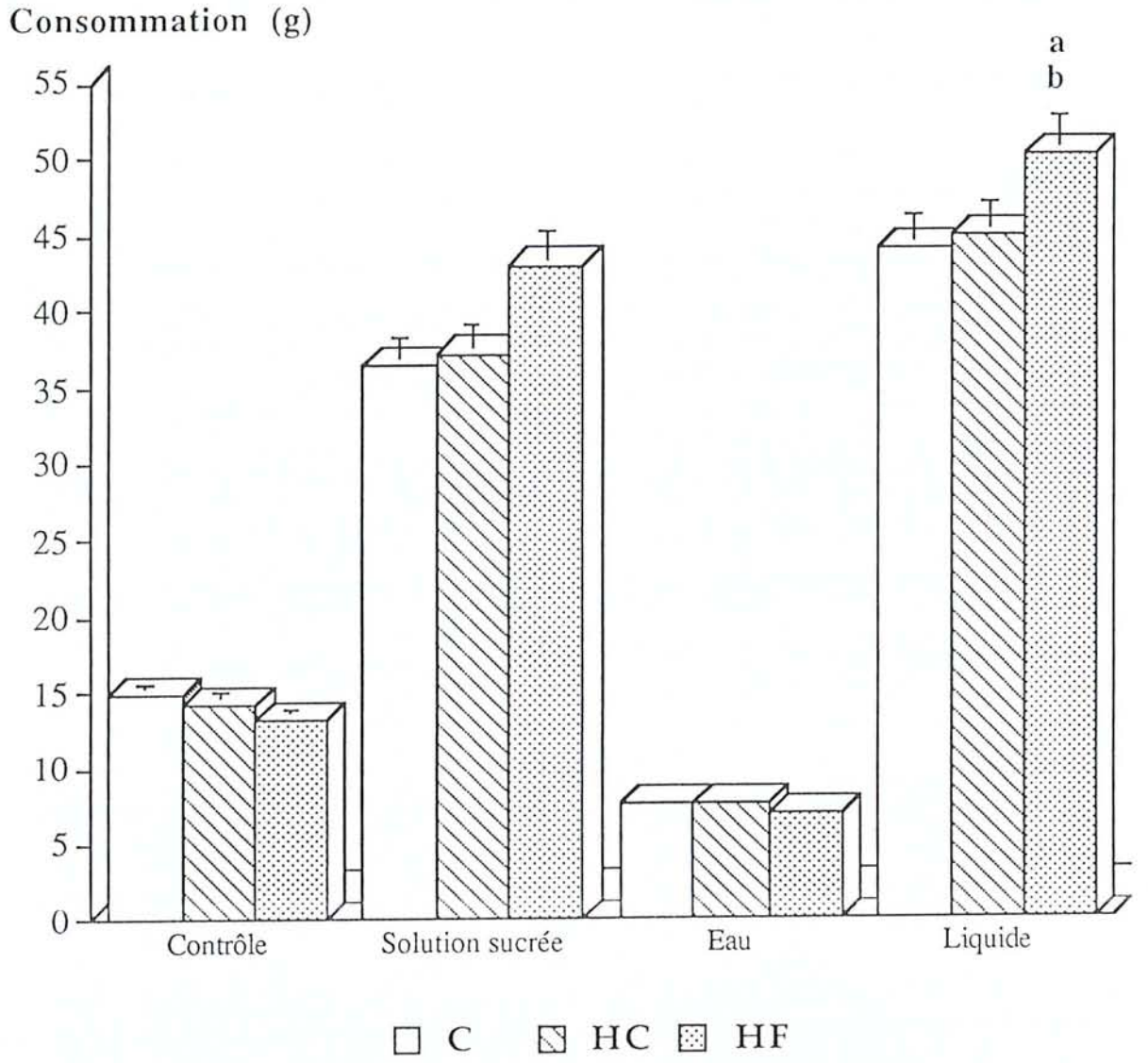
Graphique 17 : Consommation en situation de choix du régime contrôle, de la solution sucrée et d'eau chez les rats adultes (3 mois) nés de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 12), hyperglucidique (HC; n = 11) ou hyperlipidique (HF; n = 10) (moyennes ± SEM). Différences significatives, **a**: HC, HF vs C; **b**: C, HF vs HC, $p < 0,05$.

* A 4 mois (124 jours), comme le montre le graphique 18, il n'y a pas de différence significative de consommation entre les trois groupes expérimentaux, que l'on considère le régime équilibré (14,8 ± 0,5g (C) ; 14,3 ± 0,6g (HC) ; 13,2 ± 0,7g (HF)) ou la solution sucrée (36,5 ± 2,8g (C) ; 37,2 ± 2,8g (HC) ; 43,1 ± 3,1g (HF)).

On ne constate pas non plus de différence de consommation d'eau (7,6 ± 0,9g (C), 7,7 ± 1,0g (HC), 7,1 ± 0,(HF)).

Par contre, la consommation de liquide chez le groupe HF est significativement plus élevée que dans les deux autres groupes HC et C (50,2 ± 2,1 g (HF) vs 44,1 ± 2,5g (C), $p < 0,02$ et 44,9 ± 2,6g (HC), $p < 0,03$).

La prise calorique totale chez les trois groupes ne diffère pas significativement (98,1 ± 2,6 Kcal (C) ; 96,9 ± 1,5 Kcal (HC) ; 98,9 ± 2,8 Kcal (HF)).



Graphique 18 : Consommation en situation de choix du régime contrôle, de la solution sucrée et d'eau (durée 24h) chez les rats adultes (4 mois) nés de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 11), hyperglucidique (HC; n = 12) ou hyperlipidique (HF; n = 10) (moyennes ± SEM. Différences significatives : a : HF vs C ; b: HF vs HC, $p < 0,05$.

S.C.D. NANCY 1 SCIENCES BIBLIOTHÈQUE

V.2.2.3.Tests de choix de régimes contrastés :

Les tests de choix entre deux régimes solides hyperglucidique (RG) ou hyperlipidique (RL) ont été réalisés pendant 9 jours à trois périodes distinctes de la vie des rats : chez des animaux jeunes (1 mois), chez des rats adultes de trois mois (102 - 111jours) et de quatre mois (132 - 141 jours).

- Chez les rats jeunes :

* Mesure de la consommation totale pour une période de 9 jours (graphique 19) :

La prise calorique totale due à la consommation des deux régimes solides (RG et RL) n'est pas significativement différente entre les trois groupes de rats (553,3 ± 10,9 kcal (C) ; 571,0 ± 13,3 kcal (HC) ; 534,5 ± 18,3 kcal (HF)).

La prise calorique résultant de la consommation du régime RG est plus importante que celle due au régime RL chez les trois groupes ($p < 0,0001$) (429,2 ± 10,9 kcal vs 124,1 ± 3,8 kcal pour le groupe C; 440,6 ± 10,1 kcal vs 131,3 ± 2,6 kcal pour le groupe HC; 415 ± 10,9 kcal vs 119,7 ± 5,4 kcal pour le groupe HF).

Aucune différence n'a été notée entre les groupes concernant la consommation de chaque régime.

* Consommation journalière des régimes RG et RL (graphiques 20 et 21) :

La prise calorique a été mesurée à J_1, à J_5 et à la fin de l'expérience (J_9) :

A J_1, la prise calorique due à la consommation de régime RG n'est pas significativement différente entre les 3 groupes. Par contre, celle due à la consommation de régime RL chez le groupe C est plus importante que chez les deux autres groupes (27,5 ± 1,5 kcal (C) vs 20,8 ± 1,9 kcal (HC) et 22,8 ± 1,7 kcal (HF), $p < 0,02$).

A J_5, la prise calorique due à la consommation de régime RG chez les groupes C et HC est plus importante que chez le groupe HF (54,1 ± 1,7 kcal (C) et 53,5 ± 1,6 kcal (HC) vs 48,0 ± 2,1 kcal (HF); $p < 0,04$).

Aucune différence entre les groupes n'a été notée concernant la consommation du régime RL.

A J_9, Aucune différence entre les groupes n'a été notée concernant la consommation du régime RG ou RL.

La consommation de régime lipidique (RL) diminue avec le temps chez les trois groupes expérimentaux. Chez les trois groupes, la consommation lipidique est significativement différente entre J_1 et J_5, et entre J_1 et J_9 ($p < 0,001$).

* Consommation en fonction du rythme circadien :

• Comparaisons Nuit / Jour :

La consommation des régimes en fonction du rythme nycthéméral a été étudiée à J_1 et J_5 et à la fin de la période de test (J_9) (graphiques 20 et 21) :

A J_1, la prise calorique due à la consommation du régime RG en période nocturne est plus importante qu'en période diurne chez les trois groupes de rats ($p < 0,001$). Le rapport de consommation Nuit / Jour est de $2,4 \pm 0,4$ pour le groupe contrôle, de $2,5 \pm 0,3$ pour le groupe HC, et de $2,8 \pm 0,4$ pour le groupe HF. Ce rapport n'est pas différent entre les groupes (graphique 20).

Concernant le régime RL, la prise calorique due à sa consommation est moins importante en période nocturne qu'en période diurne chez les groupes C et HF. Le rapport de consommation Nuit / Jour est de $0,7 \pm 0,1$ ($p < 0,01$) pour le groupe contrôle et de $0,6 \pm 0,1$ ($p < 0,01$) pour le groupe HF. Cette différence n'est pas apparente chez le groupe HC où le rapport est de $0,8 \pm 0,3$, (graphique 21).

A J_5, la prise calorique due à la consommation du régime RG en période nocturne est plus importante qu'en période diurne chez les trois groupes de rats ($p < 0,001$). Le rapport de consommation Nuit / Jour est de $2,0 \pm 0,2$ pour le groupe C, $2,2 \pm 0,2$ pour le groupe HC, et $2,2 \pm 0,1$ pour le groupe HF. Ce rapport n'est pas différent entre ces trois groupes (graphique 20).

La prise calorique due à la consommation de régime RL en période nocturne est plus importante qu'en période diurne chez le groupe HC. Le rapport de consommation Nuit / Jour est de $5,0 \pm 0,6$ ($p < 0,05$). Cette différence n'est pas apparente chez les groupes C et HF (graphique 21).

A J_9, la prise calorique due à la consommation du régime RG en période nocturne est plus importante qu'en période diurne chez les trois groupes de rats ($p < 0,001$). Le rapport de consommation Nuit / Jour est de $1,9 \pm 0,4$ pour le groupe C, de $1,8 \pm 0,2$ pour le groupe HC et de $2,1 \pm 0,5$ pour le groupe HF (graphique 20).

La prise calorique due à la consommation du régime RL est plus importante en période nocturne qu'en période diurne pour les trois groupes. Le rapport de consommation Nuit / Jour est de l'ordre de $2,1 \pm 0,8$ ($p < 0,001$) pour le groupe C, de $4,1 \pm 0,4$ ($p < 0,001$) pour le

groupe HC et de 2,0 ± 0,7 ($p < 0,001$) pour le groupe HF. Ce rapport n'est pas différent entre les groupes (graphique 21).

• Comparaison intergroupes :

Des différences de prise calorique entre les trois groupes apparaissent en distinguant les périodes diurne et nocturne comme le montrent les graphiques 20 et 21 :

- En période diurne :

A J_1, la prise calorique due à la consommation de régime RG ne diffère pas entre les groupes (graphique 20).

La prise calorique due à la consommation de régime RL est plus importante chez le groupe C que chez le groupe HC (16,2 ± 0,9 kcal vs 11,3 ± 1,1 kcal; $p < 0,0007$). Cette différence tend à être significative entre les groupes HC et HF ($p < 0,07$) (graphique 21).

A J_5, la prise calorique due à la consommation du régime RG ne diffère pas entre les groupes (graphique 20).

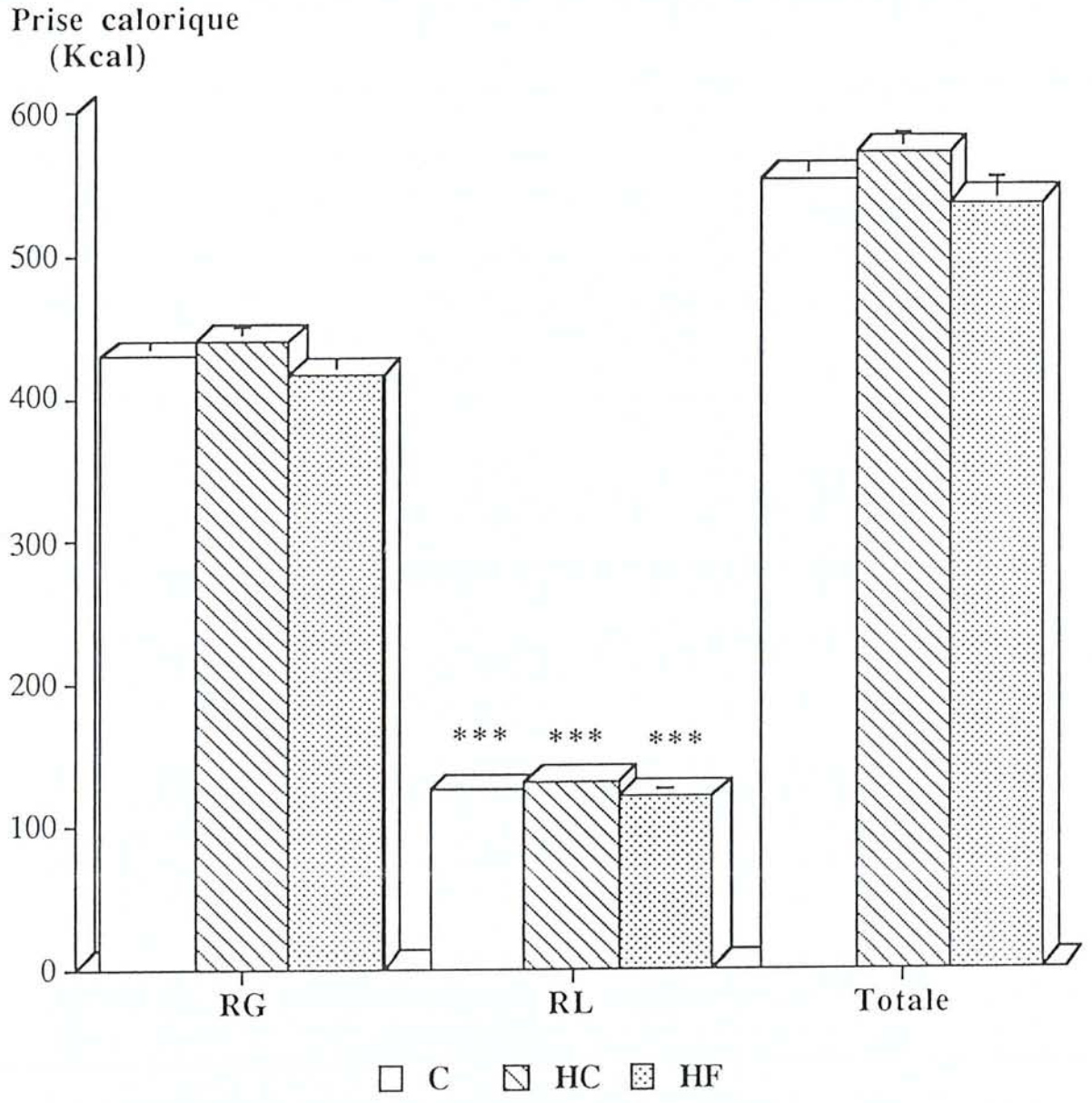
La consommation du régime RL est plus importante chez les groupes C et HF que chez le groupe HC (5,0 ± 1,1 kcal (C), 5,8 ± 1,2 kcal (HF) vs 1,1 ± 0,3 kcal (HC), $p < 0,001$) (graphique 21).

A J_9, la prise calorique due à la consommation du régime RG chez le groupe HC tend à être plus importante que chez le groupe HF (20,7 ± 1,1 kcal vs 16,6 ± 0,8 kcal, $p < 0,07$). aucun différence a été noté entre les groupes C et HF. (graphique 20).

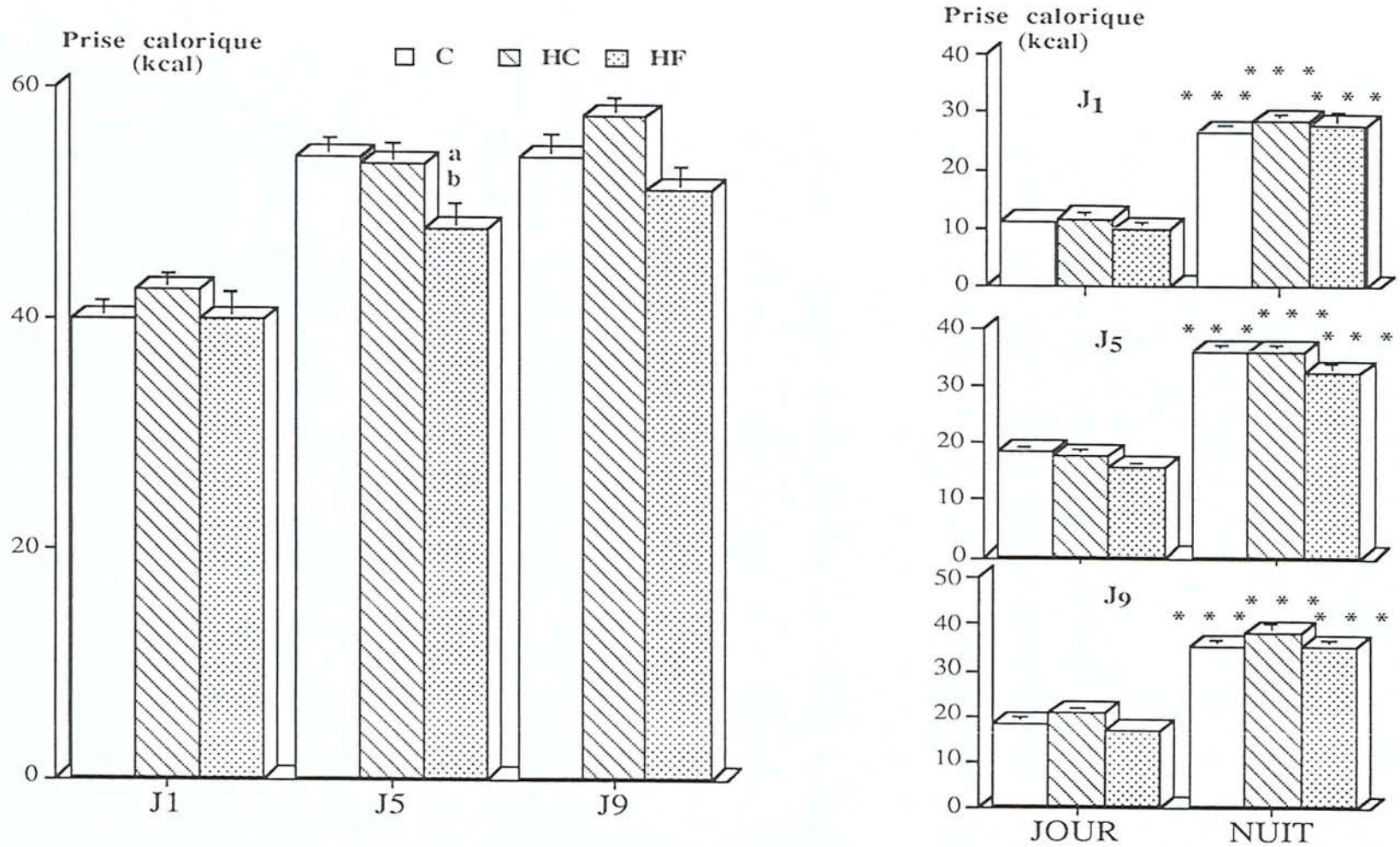
La prise calorique due à la consommation du régime RL chez le groupe HC est moins importante que chez le groupe C (2,0 ± 0,5 Kcal vs 4,8 ± 0,8 Kcal, $p < 0,001$) (graphique 21).

- En période nocturne :

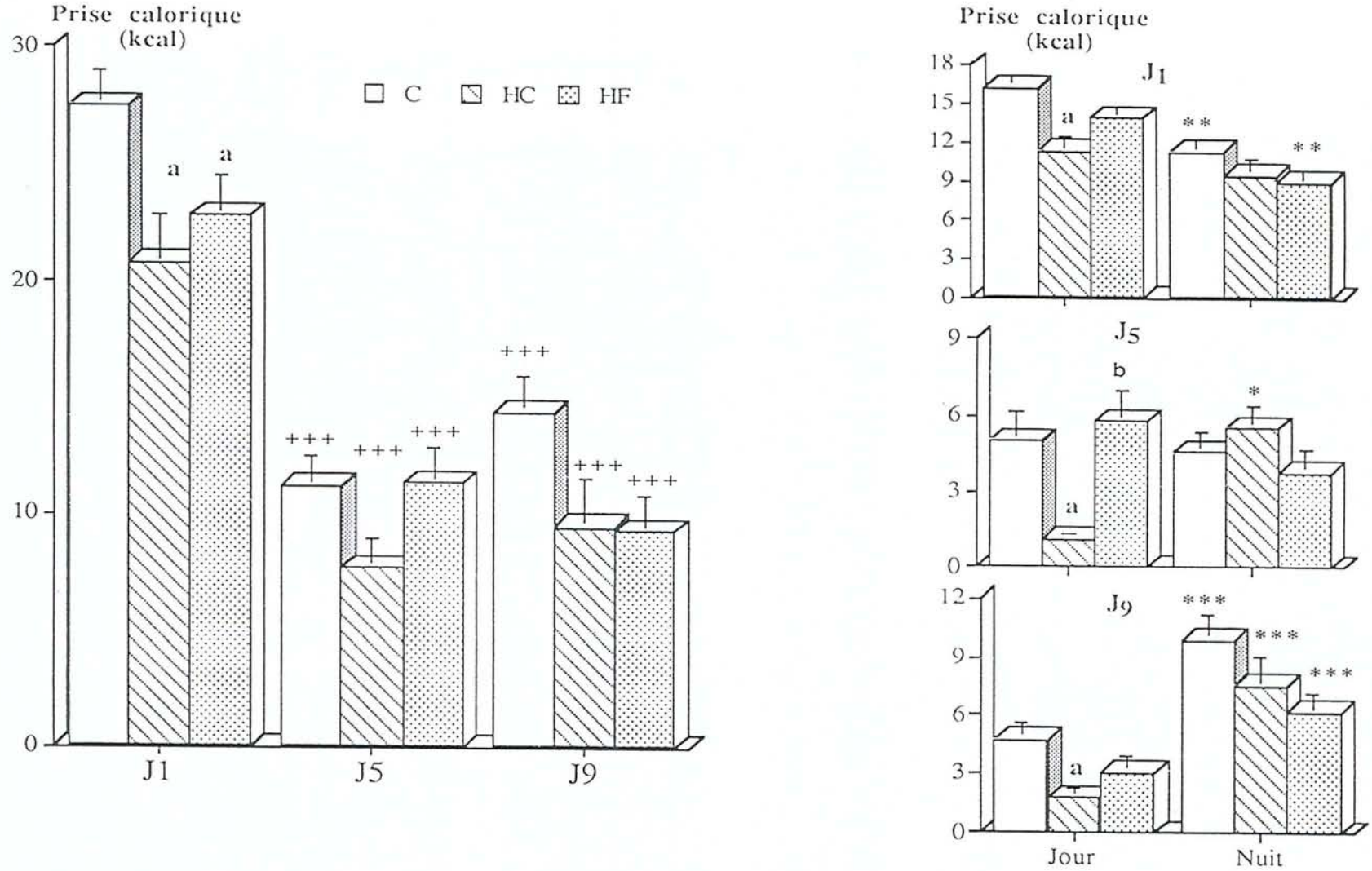
Aucune différence significative n'a été notée entre les trois groupes dans la consommation des régimes RG et RL à J_1, J_5 et J_9 (graphiques 20 et 21).



Graphique 19 : Test de consommation des régimes RG/RL solides durant 9 jours, chez des rats jeunes (1 mois) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 33), hyperglucidique (HC; n = 24) ou hyperlipidique (HF; n = 26). Différence significative, ***: RG vs RL; $p < 0,0001$.



Graphique 20 : Consommation du régime RG aux 1er, 5ème et 9ème jours du test de choix chez des rats jeunes (1 mois) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 33), hyperglucidique (HC; n = 24),ou hyperlipidique (HF; n = 26). Différences significatives : **a** : HF vs C, $p < 0,04$; **b**: HF vs HC, $p < 0,05$; *** : Nuit vs Jour, $p < 0,001$.



Graphique 21: Consommation du régime RL aux 1er, 5ème et 9ème jours du test de choix chez des rats jeunes (1 mois) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 33), hyperglucidique (HC; n = 26),ou hyperlipidique (HF; n = 24). Différences significatives : **a** : HC et/ou HF vs C, $p < 0,02$; **b**: HF vs HC, $p < 0,001$; * : Nuit vs Jour, $p < 0,05$; +++ : J_5, J_9 vs J_1, $p < 0,001$.

- Chez les rats adultes de 3 mois :

* Mesure de la consommation totale (graphique 22) :

La prise calorique totale est plus importante chez le groupe C que chez les deux autres groupes expérimentaux (740,3 ± 24,7 kcal (C), 644,0 ± 23,3 kcal (HC), 655,6 ±27,7 kcal (HF), $p < 0,007$). La prise calorique due à la consommation du régime RG est plus importante que la prise calorique due à la consommation du régime RL, ($p < 0,001$; 551,6 ± 14,1kcal vs 188,7 ± 16,7 kcal pour le groupe contrôle; 515,6 ± 15,6 kcal vs 128,1 ± 9,5 kcal pour le groupe HC ; 507,2 ± 17,8 kcal vs 148,6 ± 18,8 kcal pour le groupe HF).
La prise calorique due à la consommation du régime RG n'est pas significativement différente chez les trois groupes.
La prise calorique due à la consommation du régime RL chez le groupe C tend à être plus importante que chez les deux autres groupes ($p < 0,053$).

* Consommation journalière des régimes RG et RL (graphiques 23 et 24) :

La prise calorique a été mesurée à J_1, J_5 et à la fin de l'expérience (J_9).

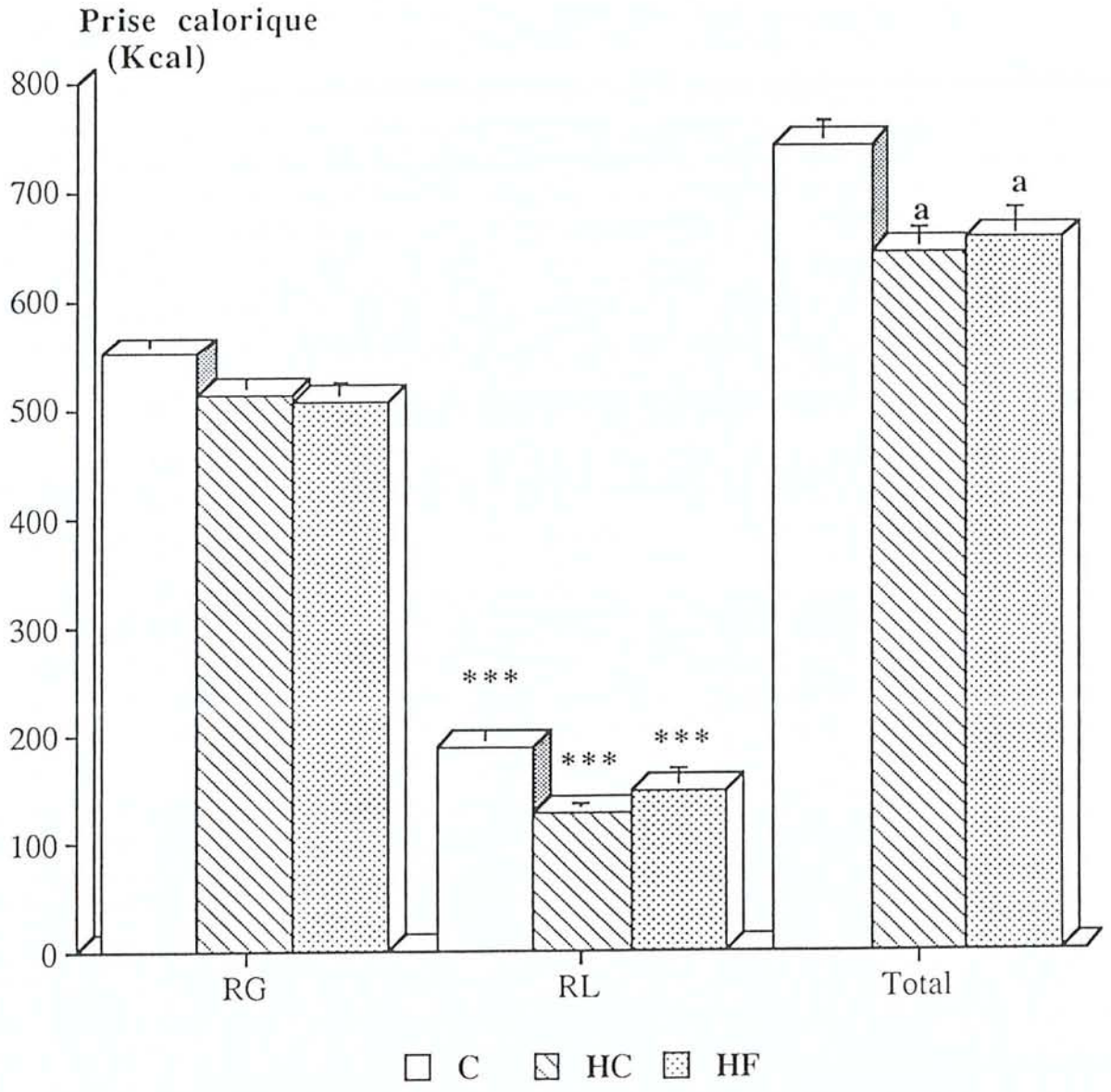
A J_1, la prise calorique due à la consommation du régime RG n'est pas différente entre les trois groupes.

La prise calorique due à la consommation du régime RL est plus importante chez le groupe C que chez le groupe HF (41,7 ± 2,4 Kcal vs 29,8 ± 3,7 kcal, $p < 0,02$).

A J_5, la prise calorique due à la consommation du régime RG et du régime RL n'est pas différente entre les trois groupes.

A J_9, la prise calorique due à la consommation du régime RG chez le groupe C est significativement plus importante que chez le groupe HF (57,5± 2,0 vs 42,8 ± 2,9; $p < 0,01$) et tend à l'être chez le groupe HC ($p < 0,056$). Aucune différence n'a été notée entre les groupes concernant la consommation de régime RL.

La consommation du régime lipidique diminue avec le temps chez les trois groupes expérimentaux. Ainsi, il existe une différence significative entre les consommations lipidiques à J_1 et J_5 et J_9 ($p < 0,001$) et ce, pour les trois groupes.



Graphique 22 : Test de consommation des régimes RG/RL solides durant 9 jours, chez des rats adultes (3 mois) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 12), hyperglucidique (HC; n = 10) ou hyperlipidique (HF; n = 12). Différences significatives : ***: RL vs RG, $p < 0,001$; a : HC, HF vs C ; $p < 0,05$.

* Consommation en fonction du rythme circadien, (graphiques 23 et 24)

• Comparaison Nuit / Jour.

La prise des régimes en fonction du rythme nycthéméral a été étudiée à J_1, J_5 et à la fin de la période de test (J_9).

A J_1, la prise calorique due à la consommation de régime RG en période nocturne est plus importante qu'en période diurne chez les trois groupes ($p < 0,001$). Le rapport de consommation Nuit / Jour est de l'ordre de 2,9 ± 0,6 pour le groupe C, de 2,8 ± 0,3 pour le groupe HC et de 2,1 ± 0,8 pour le groupe HF. Ce rapport n'est pas différent entre les groupes (graphique 23).

Chez les trois groupes, les prises caloriques dues à la consommation de régime RL en période nocturne ou en période diurne ne sont pas différentes (graphique 24).

A J_5, la prise calorique due à la consommation du régime RG en période nocturne est plus importante qu'en période diurne chez les trois groupes ($p < 0,001$). Le rapport de consommation Nuit / Jour est de l'ordre de 1,8 ± 0,6 pour le groupe contrôle, de 1,5 ± 0,2 pour le groupe HC et de 1,9 ± 0,3 pour le groupe HF. Ce rapport n'est pas différent entre les groupes (graphique 23).

La prise calorique due à la consommation du régime RL en période nocturne est plus importante qu'en période diurne chez les trois groupes ($p < 0,001$). Le rapport de consommation Nuit / Jour est de 3,7 ± 0,7 pour le groupe C, de 5,0 ± 1 pour le groupe HC et de 4,7 ± 0,4 pour le groupe HF (graphique 24).

A J_9, la prise calorique due à la consommation du régime RG en période nocturne est plus importante qu'en période diurne chez le groupe C ($p <0,01$) : le rapport de consommation Nuit / Jour est de l'ordre de 1,6 ± 0,5. Cette différence entre la période diurne et la période nocturne n'est pas apparente chez les deux autres groupes experimenteaux HC et HF (graphique 23).

La prise calorique due à la consommation du régime RL en période diurne est moins importante qu'en période nocturne chez le groupe HF : le rapport de consommation Nuit / Jour est de l'ordre de 1,7 ± 0,6 ($p < 0,001$). Cette différence n'est pas apparente chez les deux autres groupes, (graphique 24).

• Comparaisons intergroupes

Les différences de prise calorique entre les trois groupes apparaissent en distinguant les périodes diurne et nocturne comme le montrent les graphiques 23 et 24 :

- En période diurne :

A J_1, aucune différence n'a été notée entre les groupes concernant la prise calorique due au régime RG (graphique 23).

La prise calorique due à la consommation du régime RL chez le groupe C est plus importante que chez les deux autres groupes (19,2 ± 1,9 kcal (C) vs 14,8 ± 1,2 kcal (HC), 14,0 ± 2,2 kcal (HF), $p < 0,01$) (graphique 24).

A J_5, la prise calorique due à la consommation du régime RG en période diurne chez le groupe HC est plus importante que chez le groupe HF (24,6 ± 1,6 kcal vs 18,9 ± 1,5 kcal; $p < 0,03$) (graphique 23).

Aucune difference n'a été notée entre les groupes concernant la prise calorique due au régime RL (graphique 24).

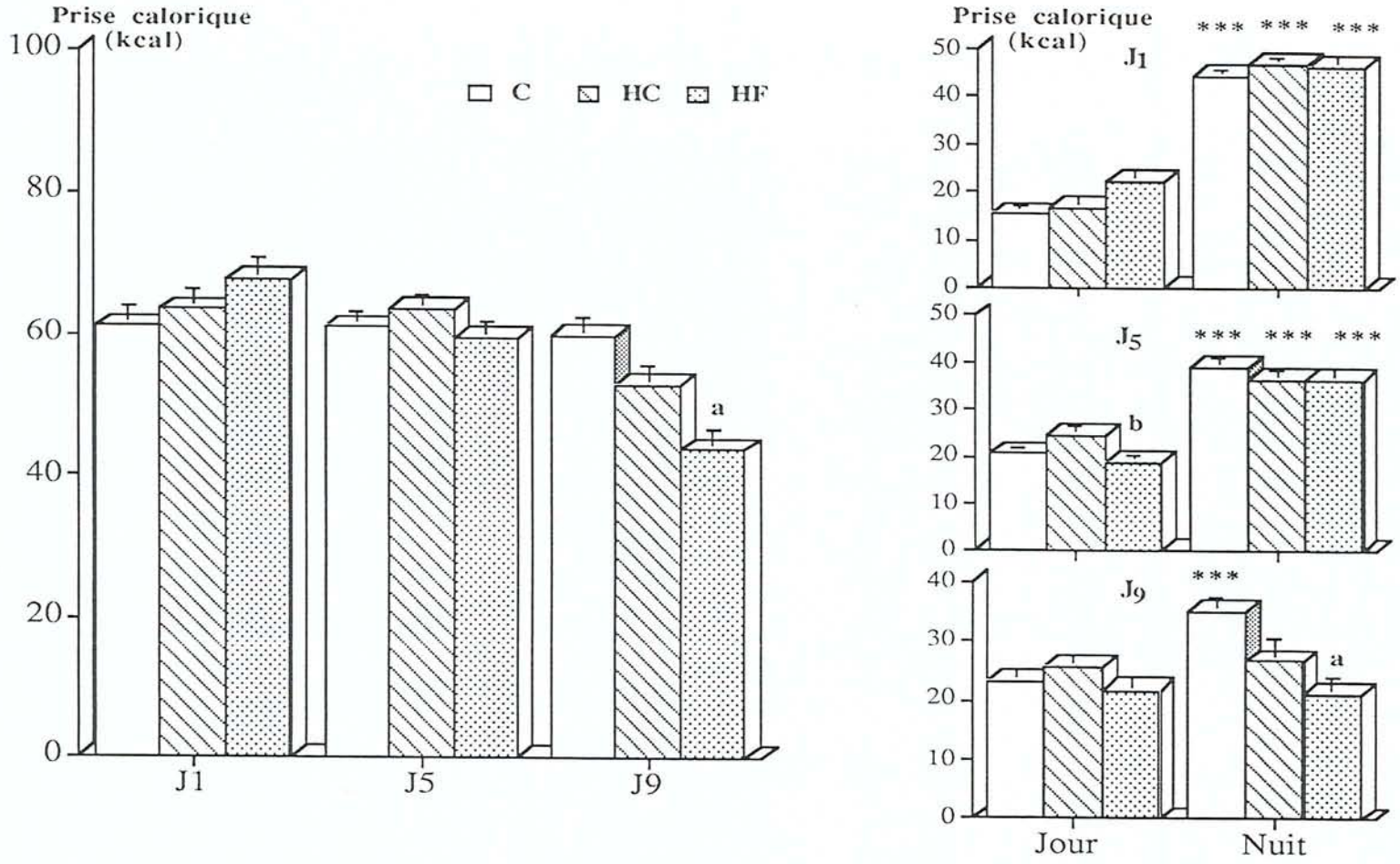
A J_9, aucune différence n'a été notée entre les groupes concernant la prise calorique due au régime RG ou au régime RL (graphiques 23 et 24).

- En période nocturne :

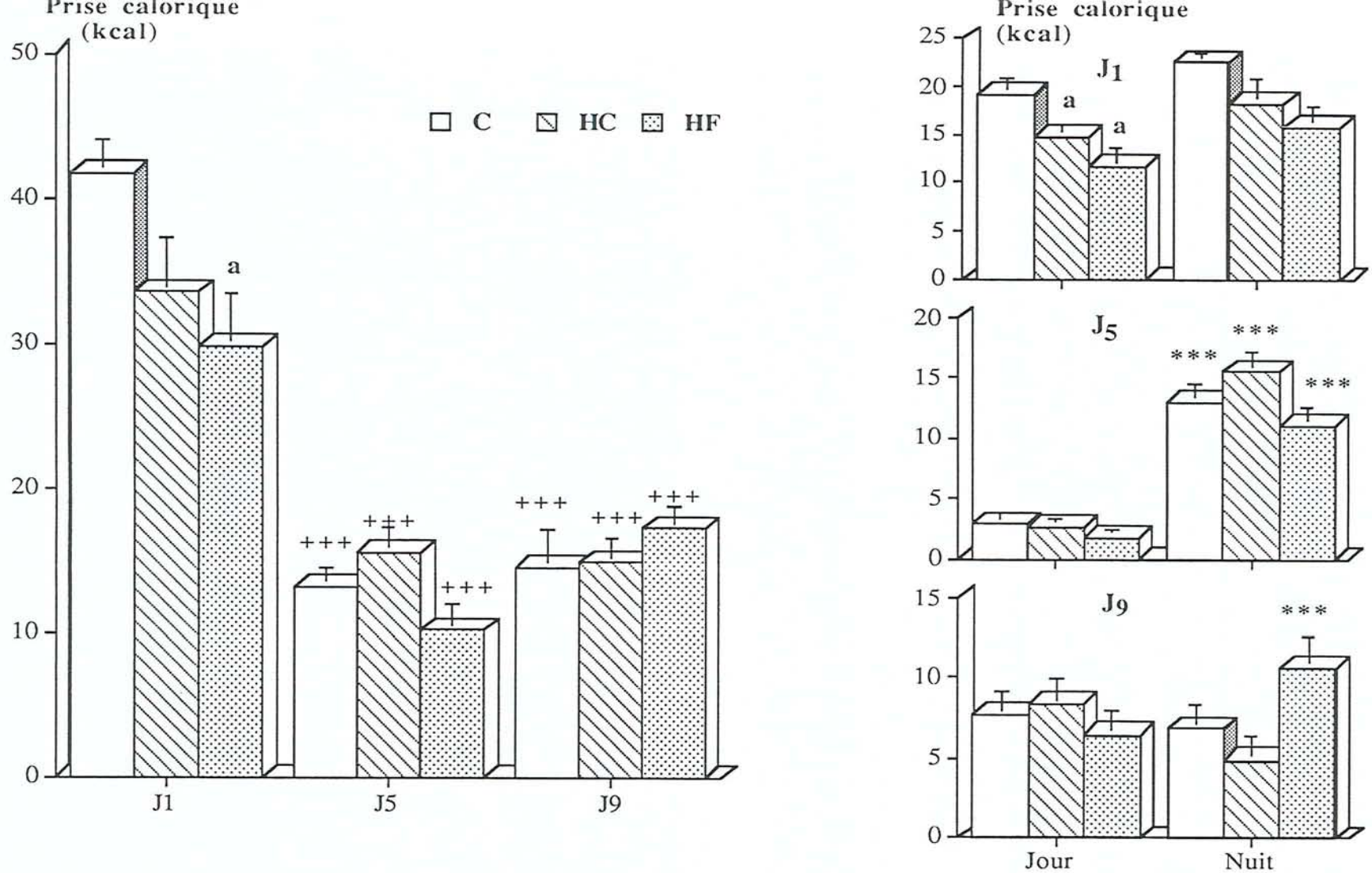
A J_1 et J_5, aucune différence n'a été notée entre les groupes concernant la prise calorique due au régime RG ou au régime RL (graphiques 23 et 24).

A J_9, la prise calorique due à la consommation de régime RG chez le groupe C est significativement plus importante que dans le groupe HF (35,3 ± 2,3 vs 21,0 ± 2,9, $p < 0,01$) et tend à l'être chez les groupes HC et HF ($p < 0,06$) (graphique 23).

Aucune différence n'a été notée entre les groupes concernant la prise calorique due au régime RL (graphique 24).



Graphique 23 : Consommation du régime RG aux 1er, 5ème et 9ème jours du test de choix chez des rats adultes (3 mois) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 12), hyperglucidique (HC; n = 10) ou hyperlipidique (HF; n = 12). Différences significatives : **a** : HF vs C, P < 0,01 ; **b** : HF vs HC, p < 0,05 ; **a** : HF vs HC, p < 0,01; *** : Nuit vs Jour, p < 0,001.



Graphique 24 : Consommation du régime RL aux 1er, 5ème et 9ème jours du test de choix chez des rats adultes (3 mois) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 12), hyperglucidique (HC; n = 10) ou hyperlipidique (HF; n = 12). Différences signifivcatives : **a** : HF, HC vs C, $p<0,05$; ***: Nuit vs Jour ; $p< 0,001$.

- Chez les rats adultes de 4 mois :

* Mesure de la consommation totale (graphique 25) :

Aucune différence significative n'a été notée entre les trois groupes au niveau de la consommation totale (681,3 ± 17,0 kcal (C), 701,6 ± 12,8 kcal (HC), 726,5 ± 26,0 kcal (HF)).

La prise calorique due à la consommation de régime RG est significativement plus importante que la prise calorique due à la consommation de régime RL ($p < 0,001$) (571,3 ± 23,5 kcal vs 110,0 ± 17,1 kcal pour le groupe C ; 617,7 ± 12,3 kcal vs 83,9 ± 8,0 kcal pour le groupe HC ; 621,7 ± 14,5 kcal vs 104,8 ± 13,7 kcal pour le groupe HF).

La prise calorique due à la consommation des régimes RG ou RL n'est pas significativement différente chez les trois groupes.

* Consommation journalière des régimes RG et RL (graphiques 26 et 27) :

La prise calorique après 24h mesurée à J_1, J_5 et J_9 n'est pas différente entre les groupes.

* Consommation en fonction du rythme circadien, graphiques (26) et (27) :

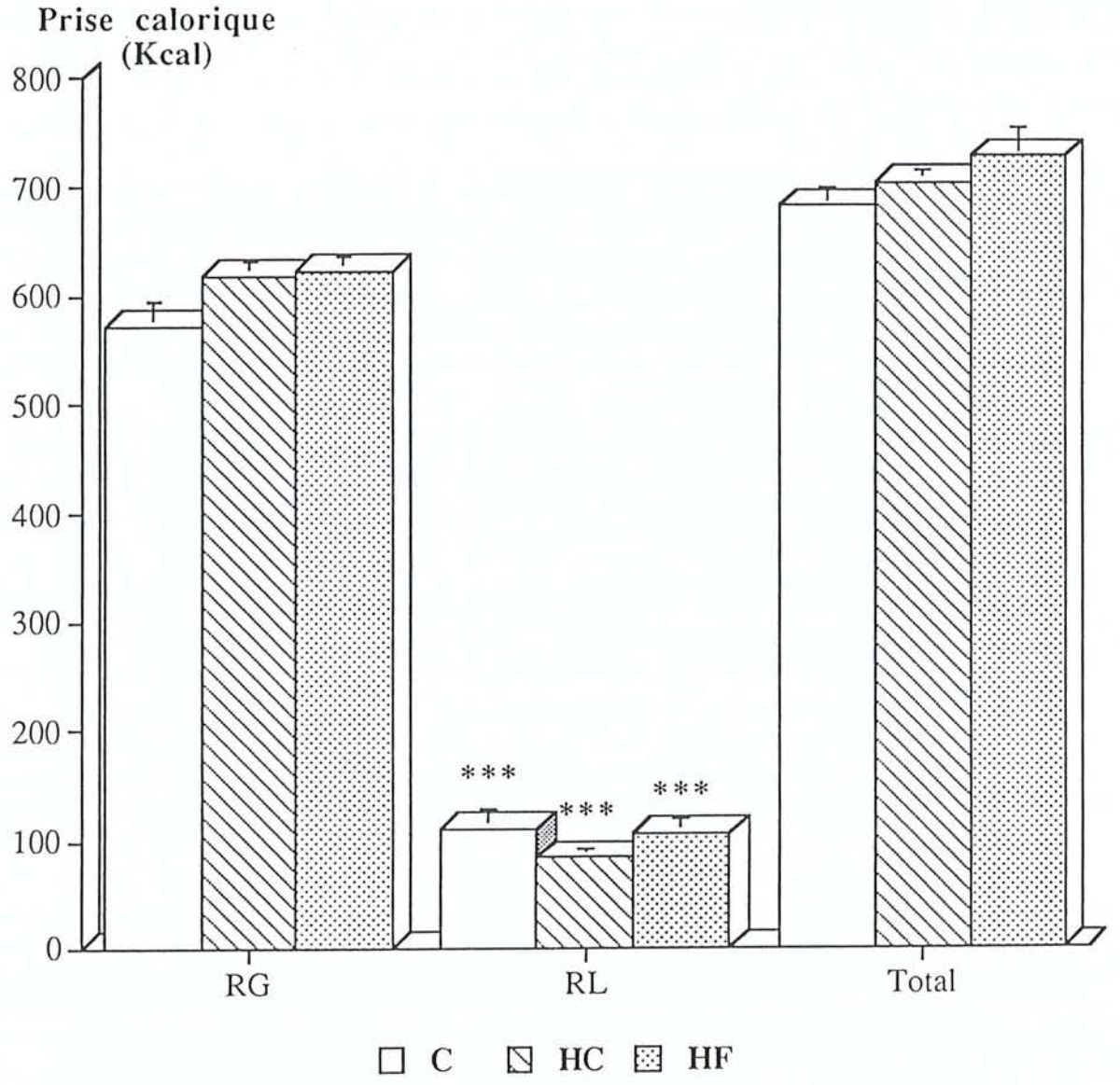
La prise des régimes en fonction du rythme nycthéméral a été étudiée à J_1, J_5 et à la fin de la période de test (J_9).

• comparaisons Nuit / Jour :

La consommation des régimes en fonction du rythme nycthéméral a été étudiée à J_1 et J_5, et à la fin de la période de test (J_9) (graphiques 26 et 27) :

A J_1, la prise calorique due à la consommation de régime RG est plus importante en période nocturne qu'en période diurne chez les groupes HC et HF ($p < 0,001$). Le rapport de consommation Nuit / Jour est alors de 1,6 ± 0,4 (HC) et 1,9 ± 0,07 (HF) ($p < 0,01$). Cette différence de rythme de consommation n'apparaît pas chez le groupe contrôle (C) (graphique 26).

La prise calorique due à la consommation de régime RL est plus importante en période diurne qu'en période nocturne chez les groupes HC et HF. Ainsi, le rapport de consommation Nuit / Jour est de 0,7 ± 0,2 (HC) et 0,5 ± 0,8 (HF) ($p < 0,01$). Cette différence n'apparaît pas chez le groupe C (graphique 27).



Graphique 25 : Test de consommation des régimes RG / RL solides durant 9 jours, chez des rats adultes (4 mois) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 10) hyperglucidique (HC; n = 10) ou hyperlipidique (HF; n = 12). Différence significative : *** : RL vs RG, $p < 0,001$.

A J_5, la prise calorique due à la consommation de régime RG est plus importante en période nocturne qu'en période diurne chez les trois groupes ($p < 0,001$). Le rapport de consommation Nuit/ Jour est alors de $1,6 \pm 0,2$ (C), $1,9 \pm 0,2$ (HC) et $1,8 \pm 0,8$ (HF) ($p < 0,001$) (graphique 26).

La prise calorique due à la consommation de régime RL ne diffère pas entre les périodes diurne et nocturne chez les trois groupes (graphique 27).

A J_9, la prise calorique due à la consommation de régime RG est plus importante en période nocturne qu'en période diurne chez les deux groupes HC et HF ($1,5 \pm 0,2$ (HC); $1,6 \pm 0,8$ (HF), $p < 0,01$) et le rapport Nuit / Jour tend à être significatif chez le groupe C ($1,3 \pm 0,2$, $p < 0,07$) (graphique 26).

La prise calorique due à la consommation de régime RL n'est toujours pas différente entre la période diurne et la période nocturne chez le groupe C, tandis que chez les groupes HC et HF, elle est plus importante en période nocturne qu'en période diurne ($2,8 \pm 1,6$ (HC), $3,7 \pm 2,2$ (HF), $p < 0,01$) (graphique 27).

Comme précédemment, nous observons une diminution de la consommation générale du régime lipidique avec le temps et des différences significatives dans la consommation lipidique entre J_1, J_5 et J_9 chez les trois groupes ($p < 0,001$).

• comparaisons intergroupes

Les différences de prise calorique entre les trois groupes apparaissent en distinguant les périodes diurne et nocturne comme le montrent les graphiques 26 et 27 :

- En période diurne :

A J_1, J_5 et J_9, aucune différence n'a été notée concernant la consommation du régime RG.

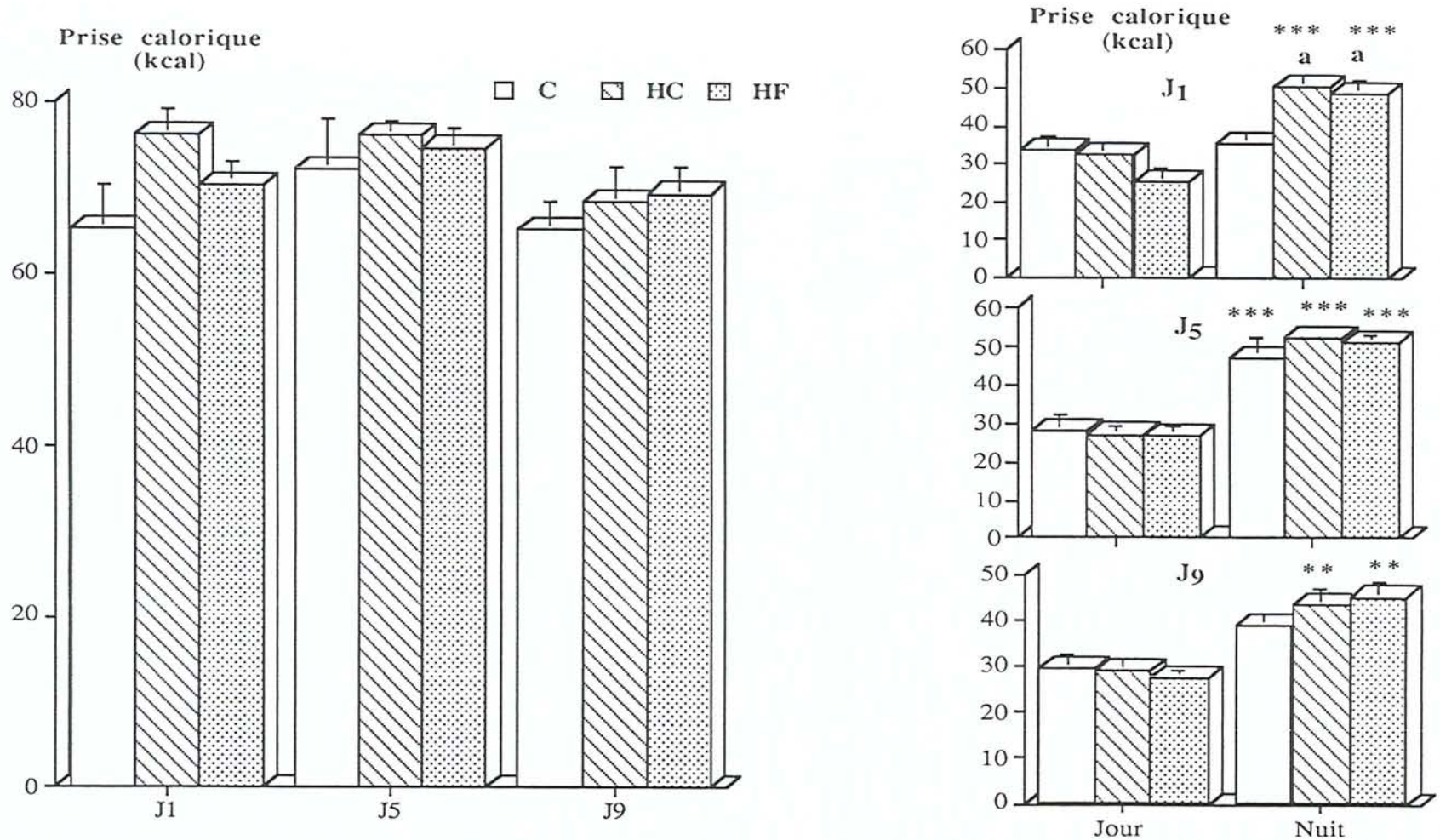
A J_1 et J_9, aucune différence n'a été notée concernant la consommation du régime RL. Par contre, à J_5, la prise calorique due à la consommation de régime RL est plus importante chez le groupe C que chez les deux autres groupes HC et HF ($p < 0,02$).

- En période nocturne :

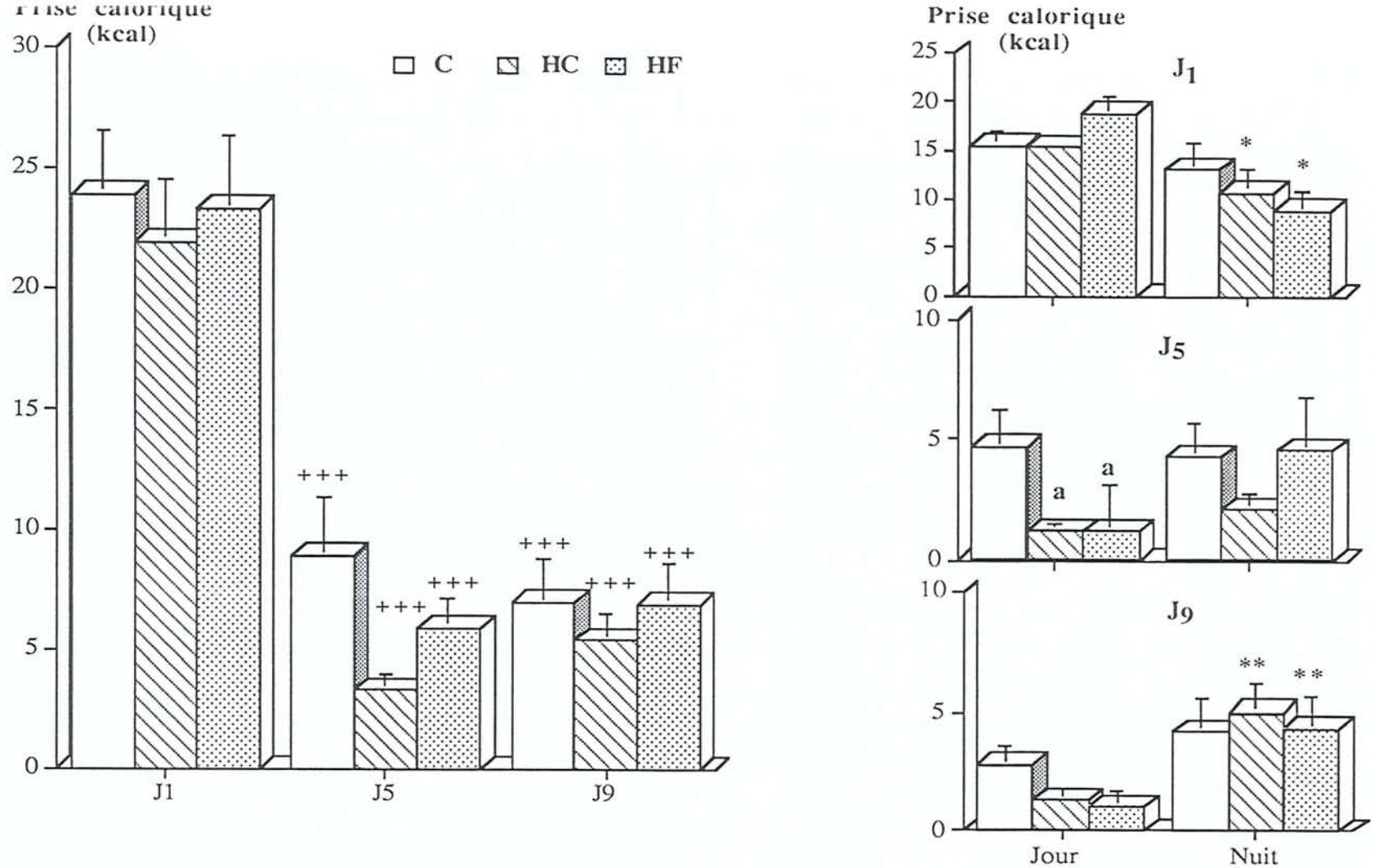
A J_1, la prise calorique due à la consommation de régime RG est moins importante chez le groupe C que chez les deux autres groupes HC et HF ($p < 0,01$) (graphique 26).

Aucune différence n'a été notée concernant la consommation de régime RL (graphique 27).

A J_5 et J_9, aucune différence n'a été notée concernant la consommation des régimes RG ou RL (graphiques 26 et 27).



Graphique 26 : Consommation du régime RG aux 1er, 5ème et 9ème jours du test de choix chez des rats adultes (4 mois) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 10), hyperglucidique (HC; n = 10) ou hyperlipidique (HF; n = 12). Différences significatives: **a** : vs C, $p < 0,05$; ** : Nuit vs Jour, $p < 0,01$; *** : Nuit vs Jour, $p < 0,001$.



Graphique 27 : Consommation des régimes RL aux 1er, 5ème et 9ème jours du test de choix chez des rats adultes (4 mois) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 10), hyperglucidique (HC; n = 10) ou hyperlipidique (HF; n = 12). Différences significatives : **a** : HC, HF vs C, $p < 0,001$; * : Nuit vs Jour, $p < 0,05$; ** : Nuit vs Jour, $p < 0,01$ +++ : J_5, J_9 vs J_1 ; $p < 0,05$.

V.2.3. Etudes au niveau du système NPYergique

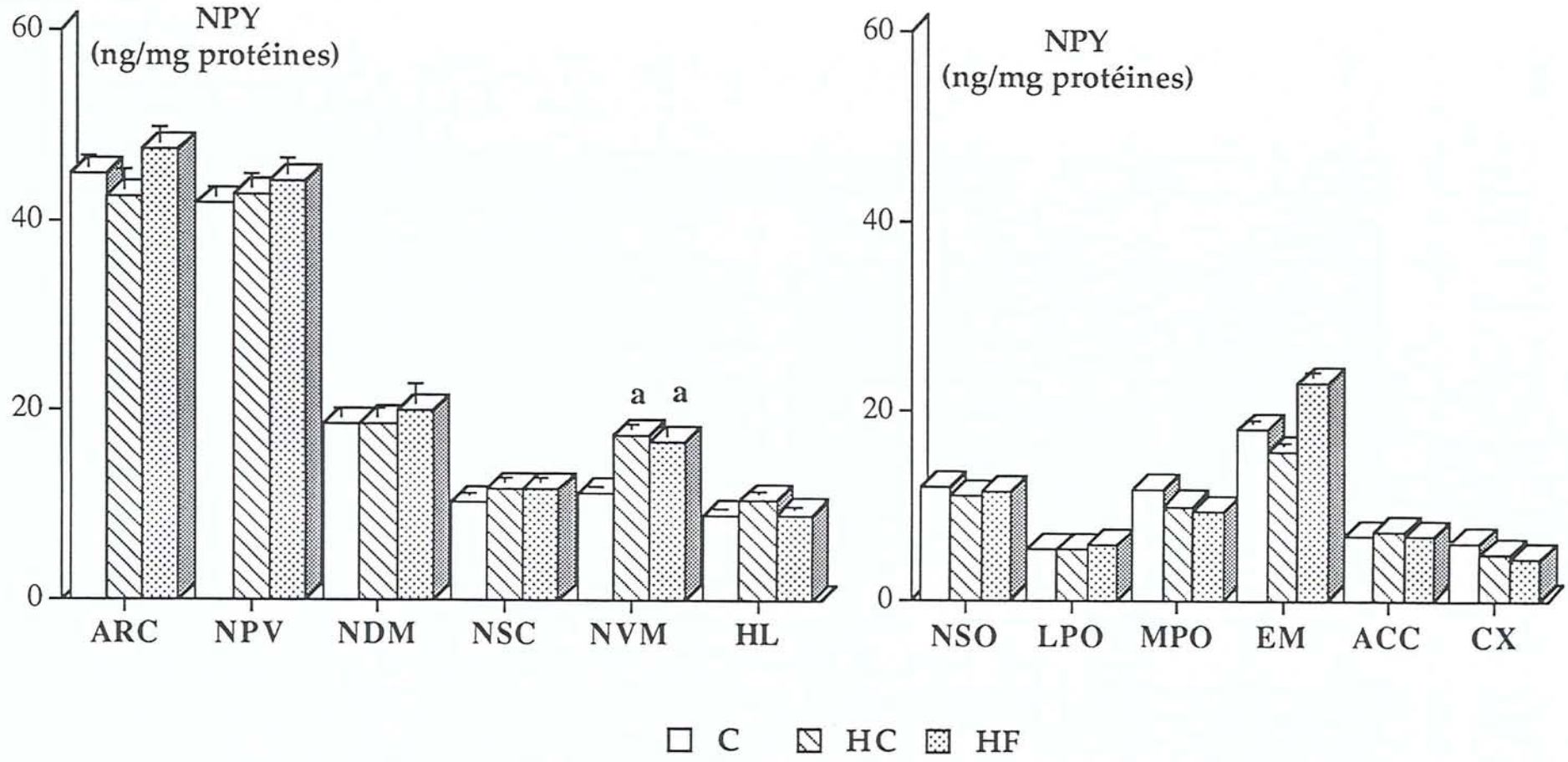
V.2.3.1. Mesure de la concentration de NPY au niveau de l'hypothalamus :

Les taux de NPY ont été mesurés chez les descendants au sevrage et à l'âge adulte (5 - 6 mois) dans les différentes aires cérébrales microdisséquées. Les résultats sont représentés sur les graphiques 28 et 29.

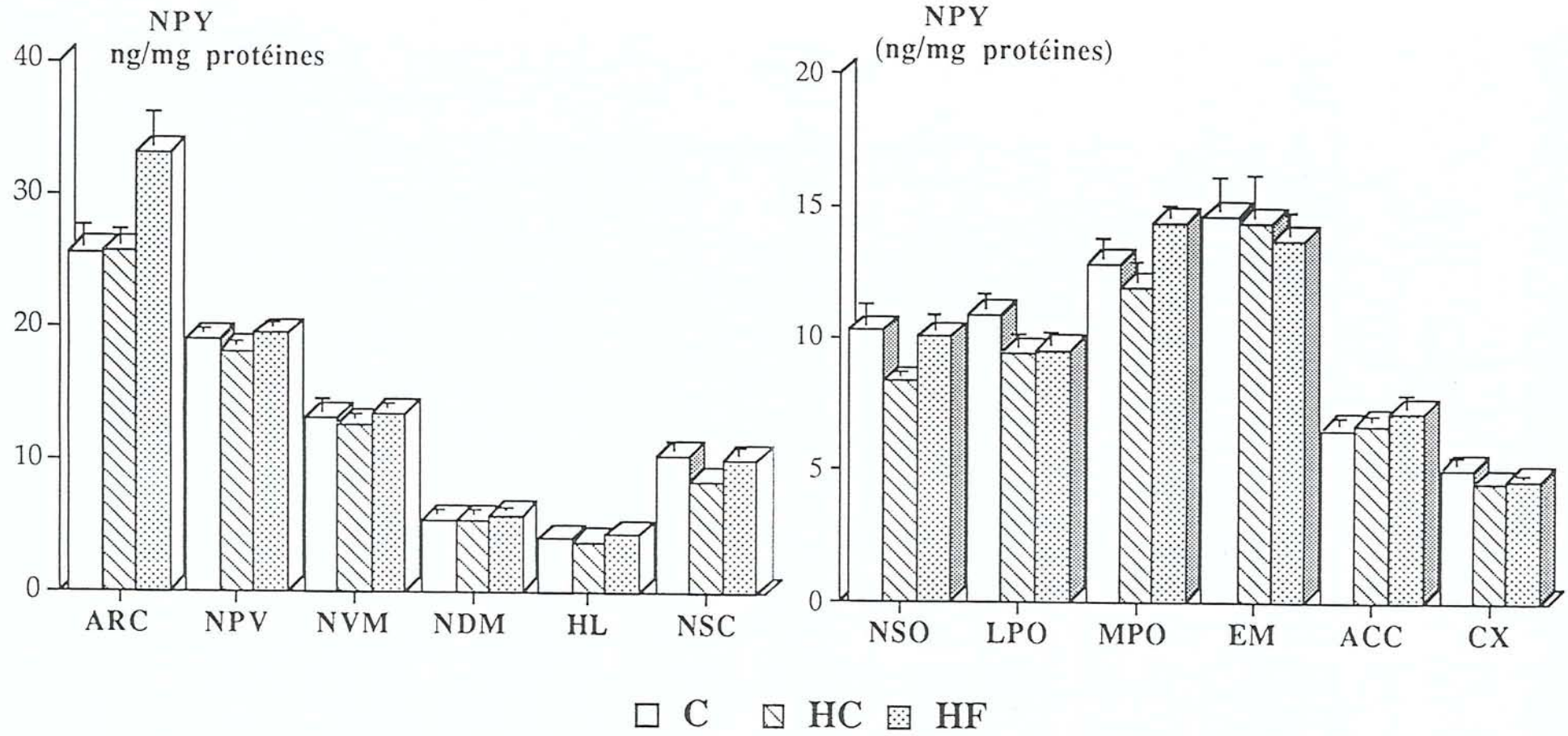
Au sevrage, dans les noyaux arqués et paraventriculaires, les concentrations de NPY ne sont pas modifiées chez les groupes expérimentaux HC et HF quand ils sont comparés au groupe C.

La concentration de NPY n'est pas modifiée dans d'autres noyaux impliqués ou non dans la régulation de la prise alimentaire (NDM, LH, NSO, POL, POM, EM, ACC, CX) à l'exception des noyaux ventromédians. La concentration de NPY dans ce noyau est significativement plus basse chez le groupe contrôle que chez le groupe HC (-35%, $p < 0,01$), et chez le groupe HF (-32%, $p < 0,002$).

A l'âge adulte, les différences de concentrations de NPY observées entre les trois groupes au sevrage au niveau des noyaux ventromédians ne sont plus apparentes. Aucune différence n'est observée, ni dans les noyaux impliqués dans la régulation de la prise alimentaire, ni dans aucun autre noyau cérébral. Cependant, au niveau du noyau arqué, la concentration de NPY chez le groupe HF tend à être significativement plus élevée en comparaison avec le groupe contrôle ou le groupe HC (33,1 ± 3,2 (HF) vs 25,7 ± 2,0 C, 25,8 ± 1,6 (HC) ng/mg protéines, $p < 0,06$).



Graphique 28 : Concentrations en neuropeptide Y (Moyennes ± SEM) dans certains noyaux hypothalamiques et d'autres aires cérébrales chez des ratons (21jours) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n : 10), hyperglucidique (HC; n : 13) ou hyperlipidique (HF; n :11), durant les périodes de gestation et d'allaitement. Différence significative, **a** : HC, HF vs C, $p<0,01$.



Graphique 29 : Concentrations en neuropeptide Y (Moyennes ± SEM) dans certains noyaux hypothalamiques et d'autres aires cérébrales chez des rats à l'âge adulte (210Jours) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 7), hyperglucidique (HC; n = 10) ou hyperlipidique (HF; n = 10), durant les périodes de gestation et d'allaitement.

V.2.3.2. - Mesure de la prise alimentaire après une injection de différentes doses de NPY chez les trois groupes de rats à l'âge adulte :

Les résultats exposés dans le graphique 30 montrent que la prise alimentaire mesurée 1h, 3h, 6h et 24h après une injection de liquide céphalorachidien (LCR) n'est pas significativement différente entre les groupes de rats HF et de rats HC quand elle est comparée à celle des rats contrôle (C).

L'injection intracérébroventriculaire de NPY stimule la prise alimentaire chez les trois groupes de rats mais la réponse à chaque dose est variable selon le groupe de rats.

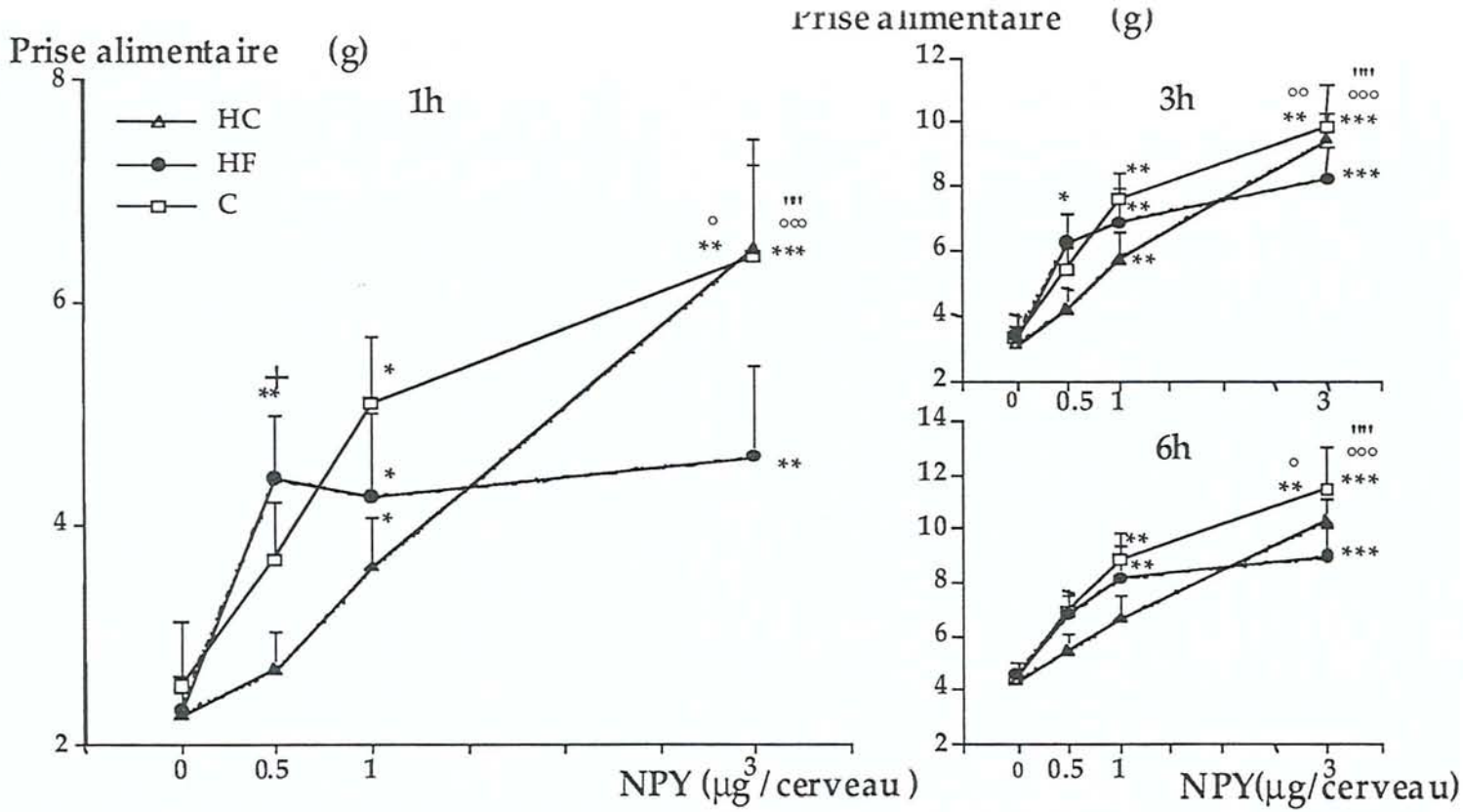
Chez le groupe de rats contrôle, le NPY augmente significativement la prise alimentaire après une injection de 1 µg et de 3 µg de NPY, une heure après l'injection ($p < 0,05$ entre LCR et la dose de 1 µg ; $p < 0,05$ entre LCR et la dose de 3 µg ; $p < 0,05$ entre la dose de 0,5 µg et la dose de 3 µg). Cette augmentation de la prise alimentaire persiste après 3h et 6h (graphique 30) ($p < 0,05$ entre LCR et la dose de 1µg ; $p < 0,01$ entre LCR et la dose de 3 µg ; $p < 0,01$ entre 0,5 µg et la dose de 3 µg).

Chez le groupe HC (graphique 30), l'augmentation de la prise alimentaire ne devient significative qu'après l'injection de la dose intermédiaire de 1 µg, une heure après l'injection ($p< 0,05$ entre LCR et la dose de 1µg ; $p < 0,001$ entre LCR et la dose de 3 µg). Cette augmentation persiste après 3h ($p < 0,01$ entre LCR et la dose de 1 µg ; $p < 0,001$ entre LCR et la dose de 3 µg) et après 6h ($p< 0,001$ entre LCR et la dose de 3 µg). La prise alimentaire augmente significativement entre la dose de 1 µg et la dose de 3 µg, 1h, 3h, et 6h après l'injection ($p < 0,001$).

La prise alimentaire chez le groupe HF atteint la réponse maximale immédiatement après l'injection de la plus petite dose de NPY (0,5 µg) une heure après l'injection ($p < 0,01$ entre le LCR et la dose de 0,5 µg ; $p < 0,05$ entre LCR et la dose de 1 µg ; $p < 0,01$ entre LCR et la dose de 3 µg).

Après 3 et 6h, cette différence persiste ($p < 0,05$ entre LCR et 0,5 ; $p < 0,01$ entre LCR et la dose de 1 µg ; $p < 0,01$ entre LCR et la dose de 3 µg). Une heure après l'injection, la réponse à la dose de 0,5 µg est deux fois plus prononcée que la réponse du groupe HC (4,41 ± 0,55 g (HF) vs 2,67 ± 0,43g (HC), $p<0,05$).

Vingt-quatre heures après l'injection, aucune différence n'a été observée entre les trois groupes (après une injection de LCR : 13,5 ±1,4g (C) ; 17,0 ± 0,9g (HC) ; 15,8 ± 0,7g (HF) ; après une dose de 0,5 µg : 15,0 ± 1,3g © ; 16,7 ± 1,0g (HC) ; 15,2 ± 1,2g (HF) ; après une dose de 1µg : 19,5 ± 0,8g (C) ; 17,9 ± 0,9g (HC) ; 18,3 ± 1,6g (HF) ; après une dose de 3µg : 19,4 ± 0,9g (C) ; 19,2 ± 0,9g (HC) ; 18,3 ± 1,6g (HF)).



Graphique 30 : Prise alimentaire à 1, 3, et 6 h après injection ICV de différentes doses de neuropeptide Y (Moyennes ± SEM) chez des rats adultes issus de mères nourries avec un régime contrôle (C), hyperglucidique (HC) ou hyperlipidique (HF), durant les périodes de gestation et d'allaitement. Différences significatives : + : vs HC, $p < 0,03$; * : vs LCR, $p < 0,05$; ** : vs LCR, $p < 0,01$; *** : vs LCR, $p < 0,001$; ° : vs 0,5 µg NPY, $p < 0,05$; °° : vs 0,5 µg, $p < 0,01$; °°° : vs 0,5 µg, $p < 0,001$; "" : vs 1 µg, $p < 0,004$.

Les adultes nés de mères nourries avec un régime hyperglucidique, hyperlipidique ou contrôle équilibré montrent une réactivité différente à l'injection ICV de NPY. Le groupe contrôle montre une réponse classique ; le groupe HF atteint la réponse maximale à une faible dose (0,5 µg) ; le groupe HC montre une réponse progressive à partir d'un dose intermédiaire (1 µg). Par rapport au groupe contrôle, le groupe HF montre une sensibilité au NPY significativement plus élevée tandis que le groupe HC montre une diminution de sensibilité.

V.2.3.3. Etude par canulation push-pull des libérations de NPY au niveau des noyaux paraventriculaires :

Les résultats exposés dans les graphiques 31, 32, 33 et 34 indiquent que du neuropeptide Y immunoréactif est présent dans tous les échantillons au-dessus de la limite de détection (au moins deux fois au-dessus de cette limite).

- Stimulations pharmacologiques :

• Avec du 2-Déoxy-Glucose :

La quantité totale de NPY libéré au niveau du noyau paraventriculaire tout au long de la période de perfusion est plus importante chez le groupe HC que chez les deux autres groupes (269 ± 31 vs 142 ± 15 (C), 174 ± 28 (HF) pg/tube, $p < 0,01$) (graphique 31).

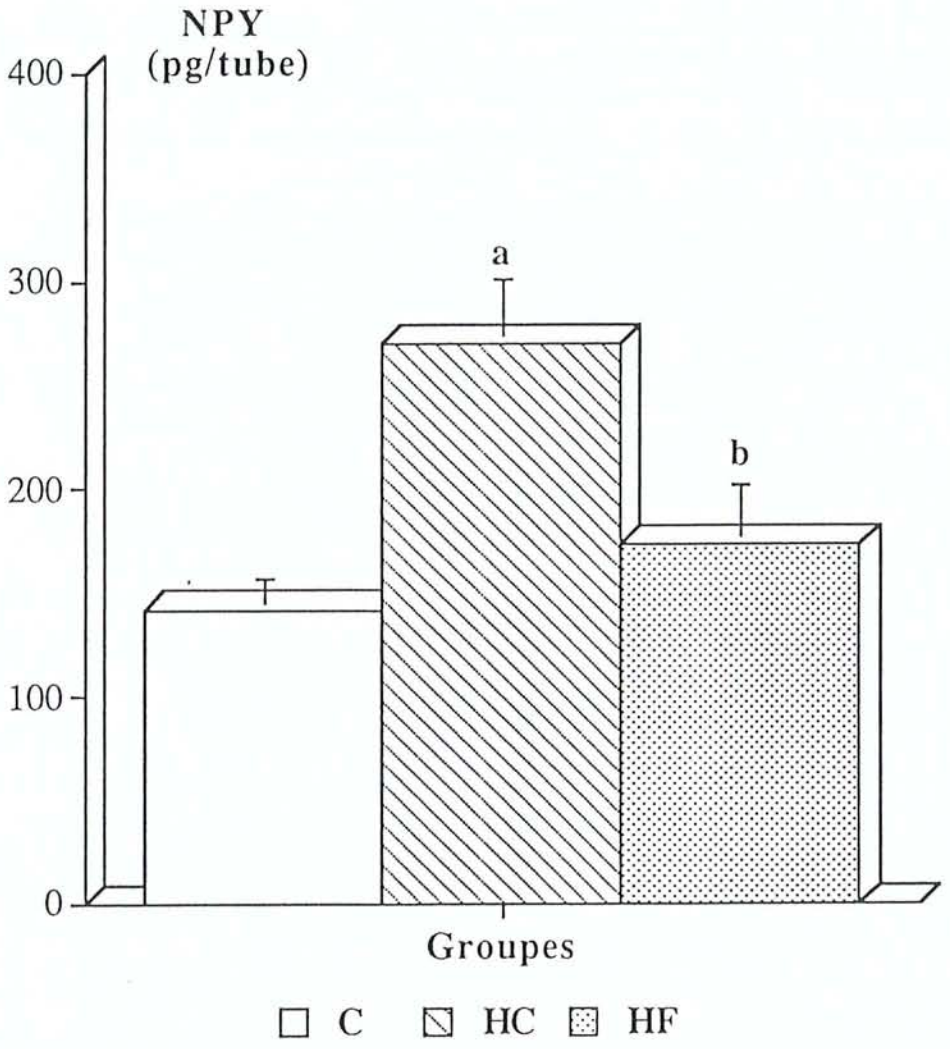
Les résultats obtenus par la perfusion push-pull chez les trois groupes durant 3h30 (1h30 avant et 2h après l'injection intrapéritonéale de 2DG), sont exposés dans le graphique 32.

Ainsi, ces données montrent que :
- La libération de NPY se stabilise chez les trois groupes expérimentaux après 60 min. de perfusion.
- La libération basale de neuropeptide Y mesurée à 60 min. et à 30 min. avant l'injection n'est pas significativement différente entre les trois groupes.
- Par contre, une différence dans la libération de NPY a été notée entre les trois groupes de rats à 60, 90 et 120 min. après l'injection. Chez les groupes C et HF le niveau de libération après l'injection n'augmente pas par rapport à la libération basale. Par contre, chez le groupe HC, l'injection intrapéritonéale de 2DG augmente la libération de NPY après 1 heure et ce phénomène devient significativement plus important à la fin de la période de perfusion. Ainsi, 120 min. après cette injection, la libération de NPY est plus élevée que la libération basale et la libération 30 min. après l'injection ($p < 0,05$). De plus, 60 et 90 min. après injection, la quantité de NPY libérée est plus importante que chez le groupe contrôle aux mêmes moments ($p < 0,01$) et tend à être significativement différente 120 min. après l'injection ($p < 0,07$).

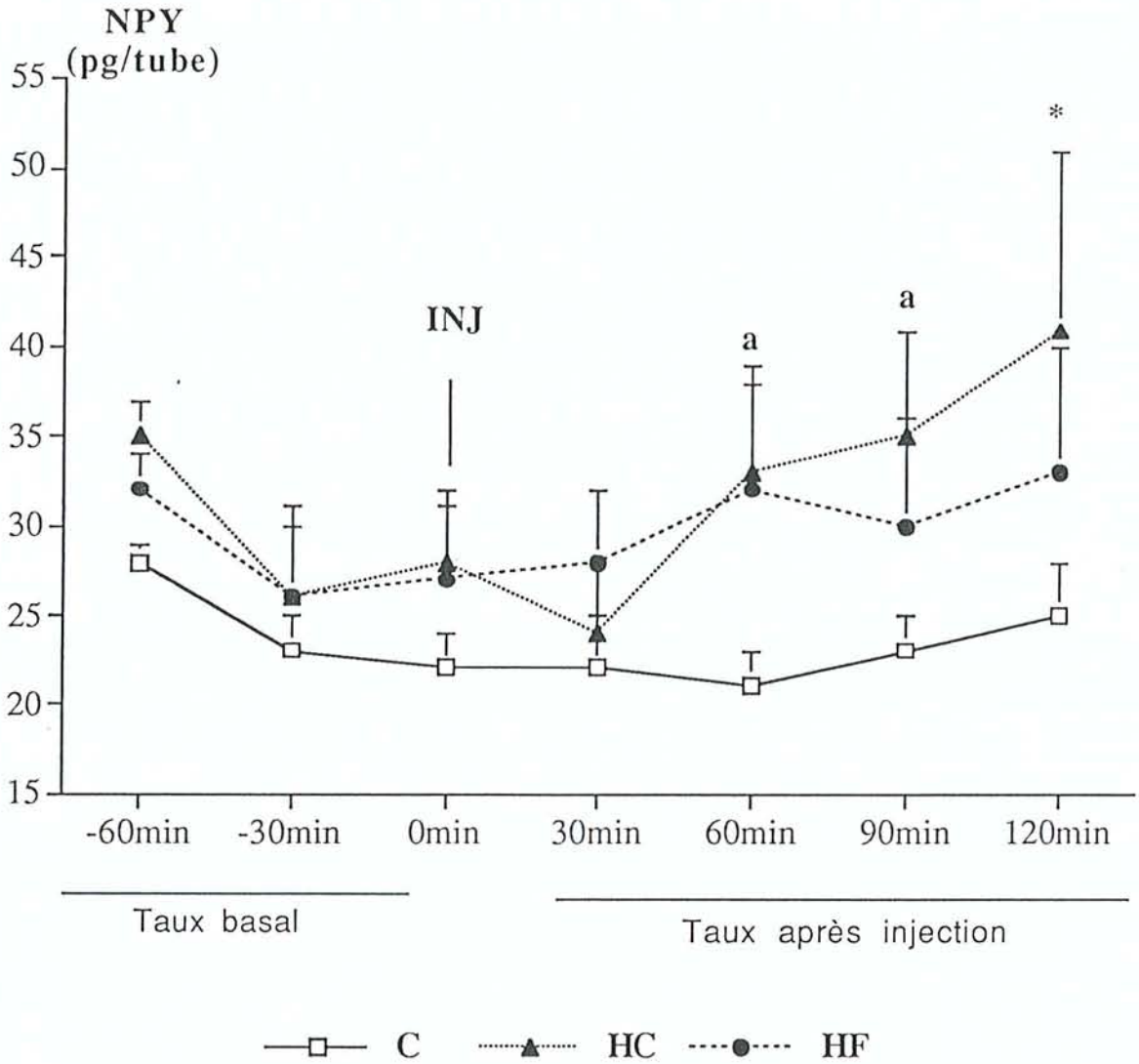
• Avec du Mercaptoacétate :

Les résultats obtenus après injection de mercaptoacétate montrent que :

- Durant toute la période de perfusion, la quantité de NPY libéré est significativement plus importante chez le groupe HF que chez les deux autres groupes (279 ± 13 vs 170 ± 30 (C) ; $p<0,01$; 175 ± 18 HC, pg/tube ; $p < 0,04$) (graphique 33).
- La libération basale mesurée à 30 et 0 min n'est pas significativement différente entre les trois groupes.
- Après une injection intrapéritonéale de mercaptoacétate, une différence dans la quantité de NPY libéré a été notée entre les trois groupes (graphique 34).
- Chez les groupes C et HC, la libération de NPY après injection n'augmente pas par rapport à la valeur de base.
- Chez le groupe HF, la quantité de NPY libéré augmente significativement après 1h30 par rapport à la valeur mesurée au moment de l'injection (50 ± 3 vs 41 ± 2 pg/tube ; $p < 0,05$), et cette différence tend à demeurer significative 120 min. après l'injection ($p < 0,08$). De plus, les quantités libérées 60 et 90 min. après injection sont significativement plus importantes dans ce groupe que celles des groupes C et HC ($p < 0,02$).



Graphique 31 : Quantité de neuropeptide Y libéré au niveau du noyau paraventriculaire durant une séance de perfusion push-pull comprenant une injection de 2DG chez des rats adultes (3 - 4 mois) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n : 10), hyperglucidique (HC; n : 13) ou hyperlipidique (HF; n : 11) (Moyennes ± SEM). Différences significatives : **a** : HC vs C, $p < 0,01$; **b** : HF vs HC ; $p < 0,01$.



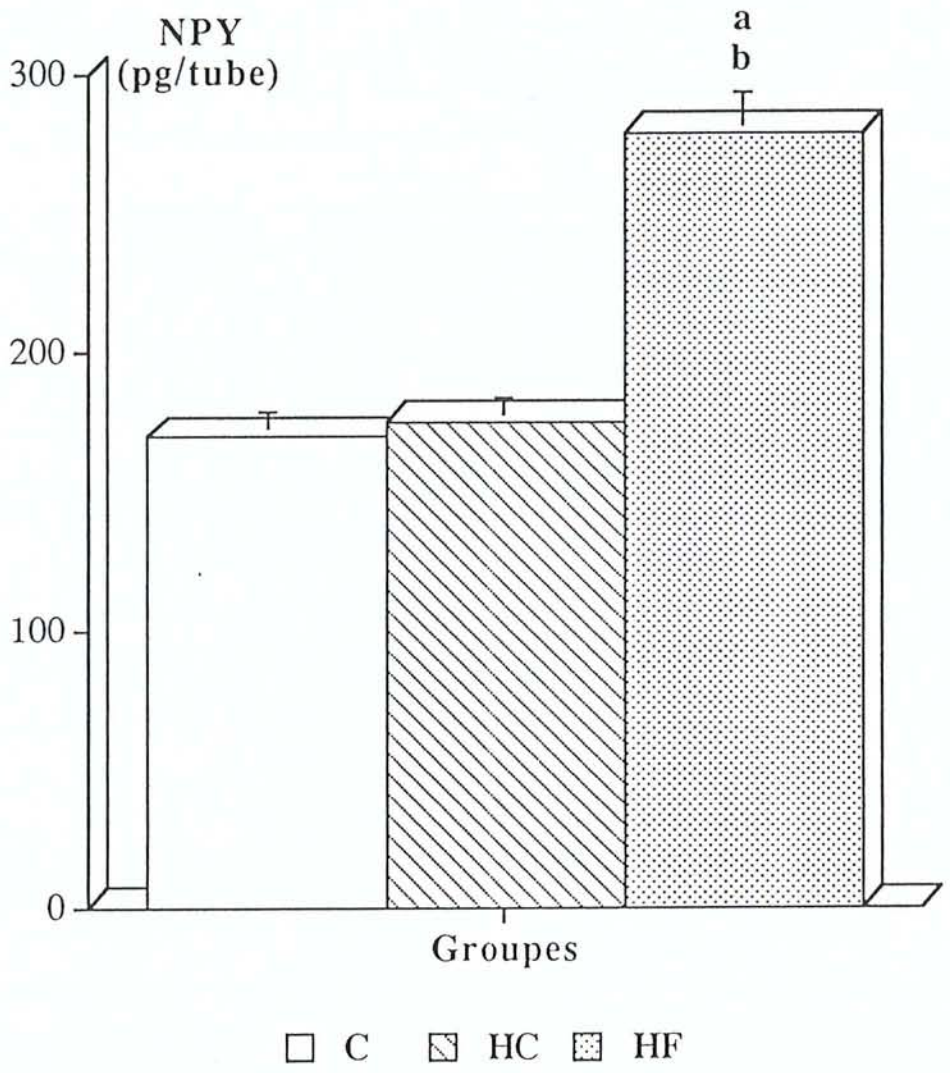
Graphique 32 : Evolution de la libération de neuropeptide Y au niveau du noyau paraventriculaire durant une séance de perfusion push-pull comprenant une injection de 2DG chez des rats adultes (3 - 4 mois) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n : 10), hyperglucidique (HC; n : 13) ou hyperlipidique (HF; n :11) (Moyennes ± SEM). Différences significatives : **a** : HC vs C, $p < 0,01$; * : 120 min vs 0 et +30min; $p < 0,05$.

• Remarques :

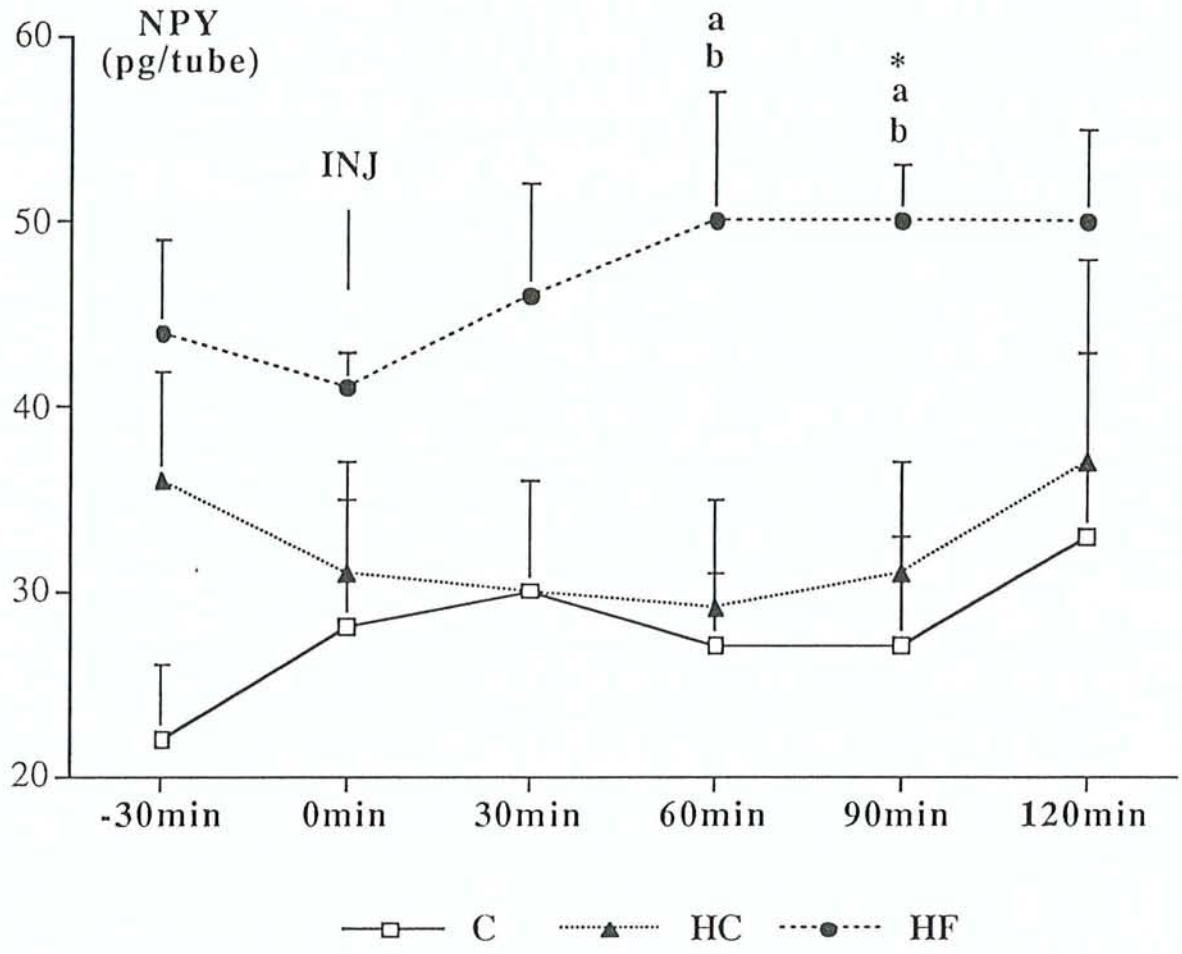
- Après injection de 2DG, le groupe contrôle montre un niveau de libération de NPY comparable à celui observé après injection de mercaptoacétate. Ce taux n'est pas différent de celui du groupe HF après injection de 2DG ni de celui du groupe HC après injection de mercaptoacétate.
- Après injection de 2DG, le taux de libération de NPY du groupe HC est comparable à celui du groupe HF après injection de mercaptoacétate. Ce taux est significativement plus élevé par rapport au groupe contrôle après injection de 2DG ($p < 0,002$) ou de mercaptoacétate ($p < 0,004$), mais aussi par rapport au groupe HC après injection de mercaptoacétate ($p < 0,03$) et par rapport au groupe HF après injection de 2DG ($p < 0,02$).
Il faut souligner que la libération basale de NPY, constante chez les 3 groupes lors de chaque séance de perfusion, montre que la qualité de la technique push-pull n'est pas affectée par des perfusions répétées.

- Etude de la prise alimentaire durant la séance de perfusion push-pull:

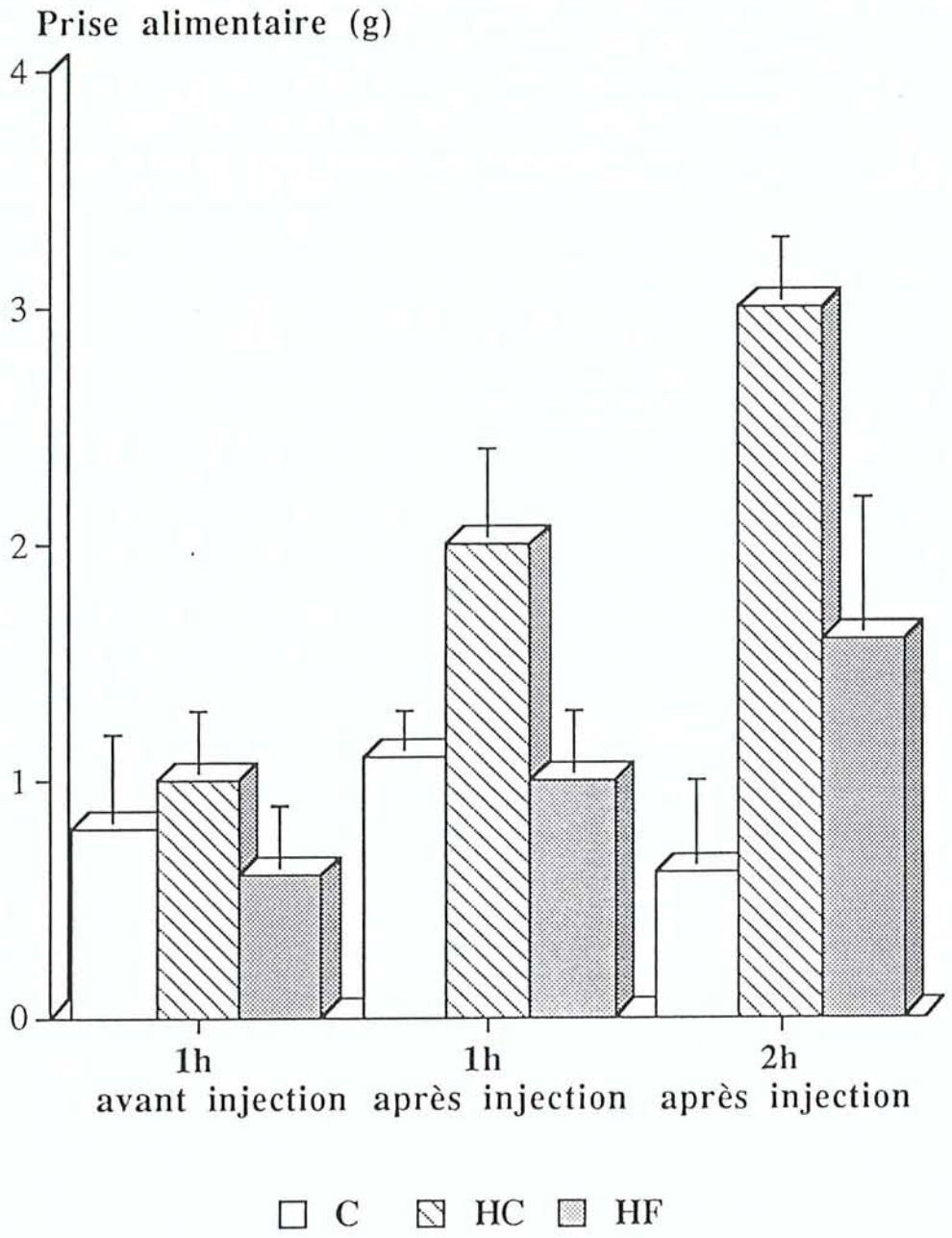
D'après les données obtenues, ni l'injection intrapéritonéale de 2DG, ni celle de mercaptoacétate n'affecte la prise alimentaire des trois groupes (graphiques 35 et 36), en raison d'une certaine variabilité individuelle. On note cependant une tendance à l'augmentation après 2DG chez le groupe HC et après mercaptoacétate chez le groupe HF, les deux seules situations où l'on a observé une augmentation de la libération de NPY.



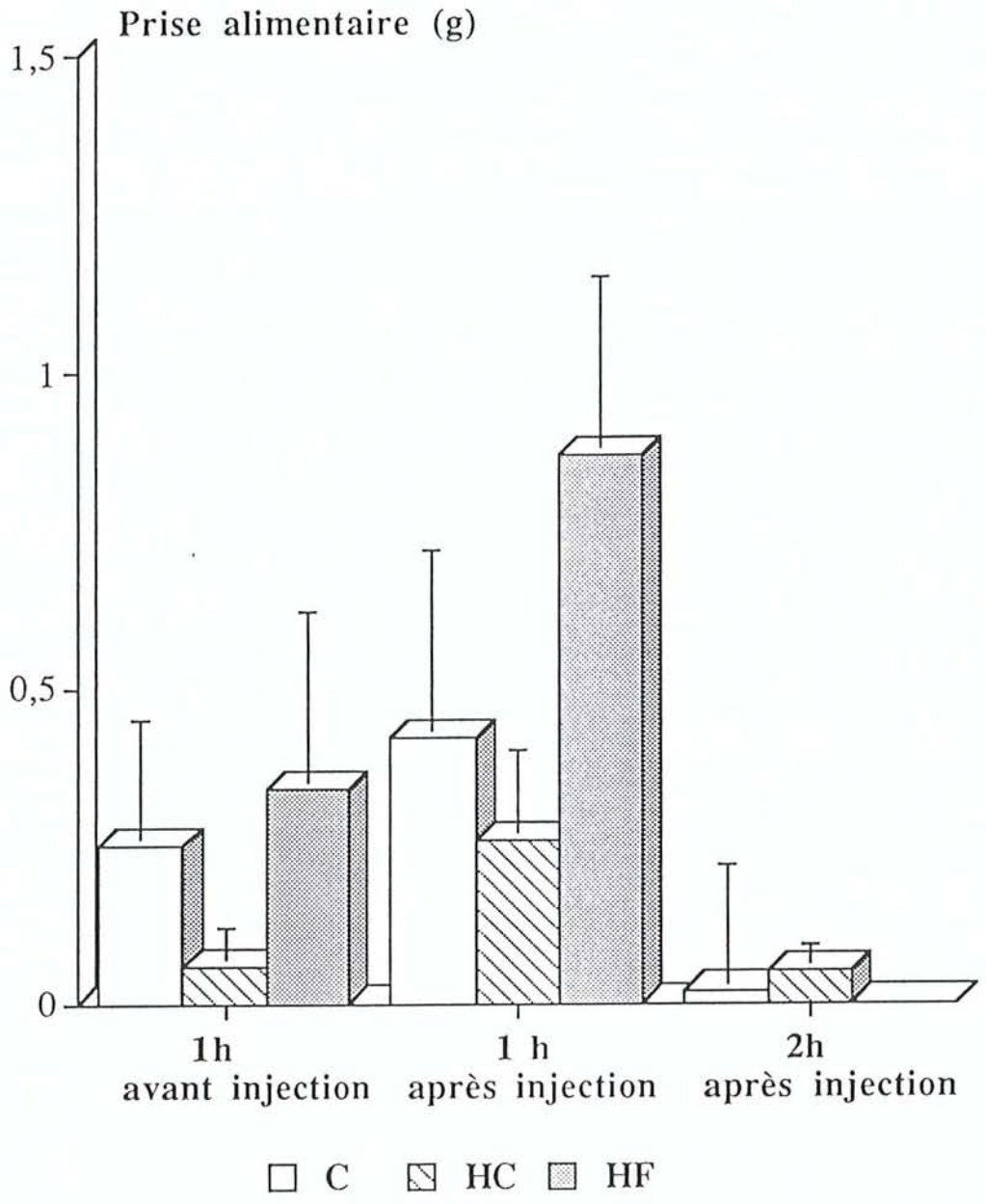
Graphique 33 : Quantité de Neuropeptide Y libéré au niveau du noyau paraventriculaire durant une séance de perfusion push-pull comprenant une injection de mercaptoacétate chez des rats adultes (3 - 4 mois) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n : 10), hyperglucidique (HC; n : 13) ou hyperlipidique (HF; n :11) (Moyennes ± SEM). Différences significatives : **a** : HF vs C $p < 0,05$; **b** : HF vs HC, $p < 0,05$.



Graphique 34 : Evolution de la libération de Neuropeptide Y au niveau du noyau paraventriculaire durant une séance de perfusion push-pull comprenant une injection de mercaptoacétate chez des rats adultes (3 - 4 mois) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n : 10), hyperglucidique (HC; n : 13) ou hyperlipidique (HF; n :11) (Moyennes ± SEM). Différences significative : **a** : HF vs C, $p < 0,05$; **b**: HF vs HC, $p < 0,05$; * : 90min vs 0min, $p < 0,05$.



Graphique 35 : Prise alimentaire durant une séance de perfusion push-pull comprenant une injection de 2DG chez des rats adultes (3 - 4 mois) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 10), hyperglucidique (HC; n = 13) ou hyperlipidique (HF; n = 11) (Moyennes ± SEM).



Graphique 36 : Prise alimentaire durant une séance de perfusion push-pull comprenant une injection de mercaptoacétate chez des rats adultes (3 - 4 mois) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 10), hyperglucidique (HC; n = 13) ou hyperlipidique (HF; n = 11) (Moyennes ± SEM).

VI. Discussion

Les mécanismes biologiques de régulation des déséquilibres énergétiques ne sont pas complètement connus, ce qui en rend difficile la prévention. L'état de santé de l'adulte fait intervenir son potentiel génétique, des facteurs hormonaux, la taille et la composition corporelles. Tous ces facteurs interagissent à chaque étape du développement. L'ampleur des phénomènes est fonction de la maturité et de la période de développement et dépend de plusieurs éléments environnementaux (Jackson et Wootton, 1990). Parmi ceux-ci, le facteur nutritionnel est prépondérant.

A l'âge adulte, l'influence de la composition des régimes sur le gain pondéral a été étudiée in extenso dans la littérature (Kanarek et al., 1981 ; Oscai et al., 1987 ; Sclafani, 1987, Lucas et al, 1989 ; Warwick et al. 1990). Ces travaux mettent en évidence que des régimes riches en hydrates de carbone ou en graisses produisent une obésité durable chez les animaux de laboratoire. Les animaux nourris avec des régimes riches en hydrates de carbone augmentent leur prise calorique en association ou non avec une augmentation de poids corporel et de masse grasse (Hill et al., 1980 ; Sclafani , 1987 ; Oscai et al. 1987). La même situation apparaît avec les régimes riches en graisses qui peuvent induire une obésité associée (Lucas et al., 1989) ou non (Oscai, 1984, 1987 ; Jen et al., 1988) à une prise calorique élevée.

L'influence de la composition des régimes alimentaires maternels sur la croissance et le développement des descendances a été largement documentée mais la majorité des études s'est axée sur les déficits en protéines et la malnutrition (Leprohon, 1979 ; Jones et al. 1984, Longley-Evans, 1994 ; Wilson, 1997). Ainsi, dès 1976, Ravelli a étudié les conséquences de la famine de 1944 et 1945 en Hollande sur les développements d'obésité de la population exposée. Il a remarqué que les descendants mâles des femmes exposées à la famine durant les deux premiers trimestres de gestation avaient, à l'âge adulte, une très haute fréquence d'obésité en comparaison avec la fréquence normale. De même, en laboratoire, on remarque que les mâles nés de mères mal nourries durant les deux premières semaines, développent une hyperphagie, une obésité, et des préférences vers des régimes riches en graisses (Jones et al., 1986).

Nos études ont tenté de déterminer l'impact d'un déséquilibre nutritionnel lors de la période critique de développement sur les systèmes centraux impliqués dans la régulation du comportement alimentaire.

Des mères non génétiquement obèses ont été soumises à deux régimes déséquilibrés riches ou pauvres en glucides. Leurs descendants ont été comparés aux descendants de mères ayant reçu un régimes équilibré. Sachant que les protéines ne contribuent que faiblement à l'apport énergétique total, nous avons conservé un pourcentage protéique de 20 % dans les trois régimes expérimentaux, ce qui constitue un taux suffisant pour assurer une gestation normale. Ceci nous éloigne forcement de la situation décrite par Ravelli sur la famine en Hollande. Par contre, la disparité des contenus en lipides et glucides a un aspect très contemporain observable dans nos sociétés développées ou il n'existe pas de problème d'approvisionnement.

Dans des conditions normales, la mère, en période de gestation est insulino-résistante (Frienkel, 1980). Les régimes riches en lipides produisent la même résistance chez des rates non gestantes (Maegawa et al., 1986). Chez des rates soumises simultanément à ces deux conditions, les possibilités d'altérations métaboliques sont plus élevées. French et al. (1952) et Buison et al. (1997) ont montré que la quantité et la qualité des régimes lipidiques affectent le métabolisme de la mère et du nouveau-né. Dans notre étude, le pourcentage de lipides durant la période de gestation (au moins 13% chez le groupe HC) est plus que suffisant pour que les trois groupes de mères arrivent à terme (Koski et al. 1986 ; Lanoue et al. 1992 ; Longley-Evans et al. 1994). La composition en glucides est d'au moins 14% chez le groupe HF, alors qu'un taux minimal de 4% suffit pour que les mères arrivent à terme (Koski et al., 1986). En conséquence, nous n'avons constaté, chez les mères soumises à nos régimes déséquilibrés, aucune différence par rapport au groupe contrôle, pour ce qui concerne le nombre de gestations arrivées à terme et la taille des portées.

La composition du régime maternel joue également un rôle important dans la qualité du lait durant la période de lactation, et même pendant la période de gestation, car l'acide gras utilisé dans la production de lait est stocké dès la gestation. Il influence aussi le développement du nouveau-né (Babicky et al., 1970 ; Roberts et Coward, 1985). Chez les humains comme chez les rats, le lait est synthétisé par les cellules sécrétrices des tissus mammaires (Williamson et al, 1983 ; Jensen et al., 1984). Sa composition varie au cours des périodes de gestation et de lactation mais dépend aussi de la quantité de lait sécrété et des caractéristiques individuelles des mères (Rolls et al., 1980 ; Jensen et al.,1984 ; Del-Prado et al., 1997). Dans notre étude, nous avons effectivement constaté que les poids corporels (-12 à - 14%), les performances (gain pondéral des nourrissons) et la prise alimentaire des mères nourries avec le régime hyperlipidique durant la période d'allaitement ont été altérés par rapport aux deux autres groupes, même si leurs paramètres plasmatiques (glucose, cholestérol, tryglycérides) sont normaux à la fin de la période d'allaitement .

Mais l'essentiel de notre travail a consisté à étudier les répercussions des différents régimes maternels sur leur descendance.

Dans un premier temps, nous avons suivi la croissance des descendants mâles, depuis la naissance jusqu'à l'âge adulte. Nous avons ainsi observé deux effets :

- le premier est lié à la période de gestation : à la naissance, les nouveau-nés de mères nourries avec le régime hyperglucidique (HC) sont plus lourds que ceux des autres groupes. Cet effet peut être dû au pourcentage de glucides dans le régime. Koski et al. (1986) ont montré qu'un pourcentage élevé de glucides (62%) améliore la croissance pré-natale et que des variations substantielles du taux de glucides ingérés par la mère induisent des altérations de cette croissance. Dans notre étude, le taux de glucides est de 70,0% pour le groupe HC alors qu'il n'est que de 14,5% pour le groupe HF et 53,6% pour le groupe C. On sait qu'un taux de 12% est le taux minimum permettant d'assurer la survie des petits (Koski et al. (1986).

- le second est lié à toute la période de traitement depuis la conception jusqu'au sevrage. Les descendants de mères nourries avec un régime équilibré ont des courbes de développement normales, de même que ceux nés de mères nourries avec le régime hyperglucidique. En revanche, les nouveau-nés de mères nourries avec le régime hyperlipidique (HF) montrent un déficit pondéral par rapport aux autres groupes persistant tout au long de la vie, bien que la différence de prise alimentaire observée chez les jeunes (1 mois) disparaisse à l'âge adulte (4 mois).

Les variations dues à la taille des portées entre les groupes peuvent être écartées dans cette étude car un ajustement dès le 3ème jour après la naissance a été effectué. L'accès à la nourriture est donc comparable d'un groupe à l'autre. La taille de la glande mammaire et la composition du lait qui dépendent de l'énergie ingérée en quantité et en qualité durant la période de gestation et d'allaitement (Lanoue et Koski, 1994 ; Del Prado et al., 1997) sont donc sans doute des facteurs importants dans le développement de ce phénomène.

Après la naissance et jusqu'à l'âge adulte, comme on pouvait le prévoir, nous n'avons pas constaté de différences pondérales entre les groupes C et HC car les niveaux des glucides de ces deux groupes sont suffisants. Ils n'entraînent pas d'anomalies de croissance contrairement au groupe HF dont le niveau de glucides est plus faible. Ceci témoigne de l'importance de l'apport glucidique dans les périodes pré et post-natales.

Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à l'évolution des préférences alimentaires de nos différents groupes, sachant que les préférences acquises durant la période précoce de développement résistent plus au changement que celles acquises à l'âge adulte (Warwick et al., 1990). L'exposition à une stimulation sucrée après sevrage induit des changements irréversibles concernant la préférence vers le goût sucré (Sato et al., 1991). Les préférences alimentaires se développent en règle générale en fonction de deux critères : d'une part, les besoins physiologiques et d'autre part, les sensations objectives ou subjectives attribuées à l'aliment.

Les macro-nutriments (lipides, glucides et protéines) ne sont pas équivalents en terme d'apport énergétique et de pouvoir satiétogène (Rolls et Hammer ; 1995, Rolls, 1995). Aussi convient-il de présenter le profil de préférence pour chacun (Leibowitz,1990).

Chez les deux sexes, la prise de protéines est relativement stable durant la vie mais augmente après le sevrage et se stabilise autour de la puberté (40 jours pour les femelles et 49 jours pour les mâles). L'animal sevré a une très haute demande en acides aminés et en azote (Maggio, 1984). Nos trois groupes de rats, à cette période, sont nourris avec le régime contrôle équilibré.

Le profil de prise de glucides est indépendant de l'âge : il se stabilise très tôt, peut-être avant le sevrage, et reste relativement stable le reste de la vie. La différence de glucides ingérés est principalement liée au niveau de l'activité, à la température environnementale et au besoin énergétique ; il est aussi dépendant du sexe.

La préférence pour les lipides dépend de l'âge, du sexe et du poids de l'animal. La deuxième semaine après le sevrage, la consommation lipidique atteint 30% de la consommation totale. Elle

chute entre 10 et 15 % durant la période de prépuberté mais représente près de 25% de la consommation à partir de la période de postpuberté (54 jours) selon Maggio et al. (1984).

Notre hypothèse de travail était la suivante : le régime imposé durant la période précoce influence le profil de préférence alimentaire des rats et cette influence est irréversible.

Nous avons tout d'abord neutralisé les effets de la forme physique des aliments. En effet, les différentes études ont montré que les formes physiques de la nourriture jouent un rôle important dans la consommation (Sclafani et al., 1987). Ainsi, chez les rats, la consommation de glucides sous forme liquide ou de gel est plus importante que sous forme de poudre (Sclafani et al, 1987).

Pour cette raison, dans le premier test (test de choix aigu), nous avons donné aux rats des régimes liquides riches en glucides (RG) ou en lipides (RL), de même texture et de même densité calorique. L'unique différence résidait dans la composition du régime et son goût.

Le groupe C a une préférence pour le régime RG, préférence très marquée chez les rats jeunes, mais qui diminue à l'âge adulte. Le groupe HC ne montre pas de préférence pour un régime particulier, malgré une tendance à la consommation de régime RG. A l'âge adulte, dans le premier test, la consommation est plus importante pour le régime RG que RL, mais cette différence est moins évidente un mois après. Chez le groupe HF, aucune préférence n'a été notée chez le rat jeune. A l'âge adulte, la préférence pour les glucides ne devient significative que lors du deuxième test, soit un mois après le groupe HC.

En conclusion, chez le groupe contrôle, on a constaté que la préférence est plutôt glucidique. Elle se forme à partir de 30 jours et se stabilise normalement jusqu'à l'âge adulte. En revanche, les deux autres groupes ne montrent encore aucune préférence à trente jours ; celle-ci s'installe plus tardivement, à trois mois pour le groupe HC, à 4 mois pour le groupe HF. Elle reste cependant moins marquée que chez le groupe contrôle.

Ces phénomènes se retrouvent dans le test de mesure des saveurs sucrées. Le groupe contrôle montre une préférence pour les goûts sucrés qui persiste avec le temps. Cette préférence sucrée, moins marquée initialement dans le groupe HF, y apparaît plus tard (4 mois). Dans le groupe HC, elle augmente sensiblement à 3 mois, conformément aux résultats observés dans le test de choix aigu.

Dans un deuxième temps, nous avons essayé de neutraliser les effets du goût ou la palatabilité en ajoutant de la saccharine au régime hyperlipidique et de la paraffine au régime hyperglucidique.

Dans le premier cas, nous observons dans le groupe contrôle une préférence pour la consommation glucidique. Elle est nette chez le rat jeune, dont les besoins énergétiques doivent plutôt être couverts par un apport en glucides, puis ce phénomène diminue à l'âge adulte (4 mois) où l'on ne constate plus aucune préférence. Le groupes HC manifeste la même préférence, mais de façon moins marquée que le groupe contrôle. A aucun moment, on ne

retrouvera cette préférence dans le groupe HF. Les réponses des groupes expérimentaux à ce test de palatabilité rejoignent celles du groupe contrôle à l'âge adulte (4 mois).
Dans le deuxième cas, la paraffine a un effet aversif général à la dose laquelle elle a été rajoutée. Ceci a empêché de vérifier une éventuelle différence entre les groupes.

Une particularité a été mise en évidence lors du troisième test qui consistait à choisir entre des régimes glucidique et lipidique identiques à ceux imposés aux mères durant la période de traitement. En effet, aucune différence globale n'a été notée entre les trois groupes, chacun consommant de préférence le régime glucidique.

Certes, la palatabilité des régimes glucidiques par rapport aux régimes lipidiques pouvait être la cause de ce comportement, mais une étude complémentaire permet de nuancer cette hypothèse. En distinguant la consommation nocturne et la consommation diurne, nous avons observé que le rythme de consommation de chaque régime varie selon le groupe. Or, la palatabilité n'est pas dépendante du moment (jour ou nuit) où l'aliment est ingéré. Chez les rats jeunes, négligeant la différence de consommation le premier jour (période d'adaptation), nous ne constatons pas de différence entre les deux groupes expérimentaux et le groupe contrôle pour la consommation de régime hyperglucidique.

Par contre, durant la période diurne où l'alimentation est normalement lipidique, une diminution plus importante chez le groupe HC par rapport au groupe contrôle a été observée pour la consommation du régime hyperlipidique. Aucune différence de consommation lipidique diurne ou nocturne n'a été observée entre le groupe HF et le groupe contrôle.

A l'âge adulte, le test dans la première période (à 3 mois) montre que la consommation du régime hyperglucidique n'est altérée dans aucun des groupes par rapport aux contrôles. La consommation du régime hyperlipidique, et par conséquent la consommation totale, sont plus importantes chez le groupe contrôle que chez les groupes traités, mais cette différence doit être nuancée. Ainsi, le groupe HC montre des différences avec le groupe contrôle dans le cumul des consommations nocturnes et diurnes. Cependant, en observant séparément ces périodes, on s'aperçoit qu' il n'y a pas de différence dans la consommation du régime hyperglucidique En fait, c'est le rythme de cette consommation est différent par rapport au groupe contrôle. Une telle différence du rythme de la prise du régime hyperlipidique n'a pas été observée. Chez le groupe HF, nous observons une différence dans la consommation des deux régimes nocturne ou diurne, aussi bien que dans le rythme de consommation par rapport au groupe contrôle.

Dans la deuxième période (4 mois), nous n'observons pas de différence de la quantité de régime glucidique ou lipidique ingéré entre les groupes. Pourtant, les deux groupes traités ne se comportent pas de la même façon que le groupe contrôle. En effet, ils diminuent leur consommation lipidique diurne et consomment ainsi plus la nuit que le jour, durant laquelle l'alimentation est normalement glucidique. Le groupe contrôle, quant à lui, ne montre pas de différence de consommation entre jour et nuit à ce stade de développement.

On peut en tout état de cause conclure que le rythme de préférence n'est pas le même : le rythme de préférence alimentaire de nos groupes traités est perturbé.

Nos résultats soulignent l'importance de la nature (liquide ou solide) des régimes utilisés pour déterminer les préférences alimentaires. Des différences sont plus facilement observables avec des régimes liquides. Elles sont plus subtiles avec les régimes poudre.

Nous pouvons aussi conclure que la qualité des régimes ingérés par les mères sont à l'origine de changements de préférence alimentaire des petits pendant une longue période de leur développement, et ceci de façon différente selon la nature du régime maternel. Cependant, les préférences alimentaires ne sont pas fixées définitivement au sevrage et leur altération n'est pas irréversible. Lorsqu'un régime équilibré est fourni aux petits après le sevrage, on n'observe qu'un retard dans leur évolution. Ce retard pourrait cependant avoir des effets néfastes sur leur prise pondérale dans une situation de diversification du choix alimentaire. La perturbation du rythme de la prise alimentaire, et plus particulièrement de la consommation lipidique, persiste avec le temps.

Afin d'interpréter ces perturbations, nous nous sommes ensuite intéressés aux éventuelles modifications survenues dans les systèmes centraux de régulation de l'équilibre énergétique.

Au niveau du système nerveux central, les régulations du comportement alimentaire se font par une interaction étroite entre des neurotransmetteurs classiques (noradrénaline, dopamine, sérotonine ...) et toute une série de neuropeptides découverts au cours des vingt dernières années (Morley, 1987).

Ces neuropeptides, dont l'action est intégrée au niveau de l'hypothalamus, stimulent ou inhibent la prise de nourriture par l'intermédiaire de plusieurs circuits neuronaux dans lesquels les noyaux arqué, ventromédian et paraventriculaire et l'hypothalamus latéral jouent un rôle plus ou moins important selon le neuropeptide considéré (Morley et al., 1987).

Un aspect important du comportement alimentaire vient de ce qu'il est un système intégré où chaque facteur peut avoir des conséquences sur les autres, des facteurs périphériques métaboliques et hormonaux interagissant avec les mécanismes de contrôle au niveau du système nerveux central.

La base neuroanatomique de la préférence alimentaire montre l'importance de l'hypothalamus et tout particulièrement de deux sites : le noyau paraventriculaire et le noyau ventromédian (Kanarek et Marks-Kaufman, 1981 ; Sclafani et Kramer, 1983). Ces sites ne sont pas complètement matures à la naissance, et leur mise en place peut donc être aussi affectée. Les investigations sur l'ontogenèse du neuropeptide Y ont montré qu'il est présent chez le foetus du rat avant l'établissement de la fonction biologique dans laquelle il jouera un rôle de régulation, et avant même que le cycle alimentaire ne soit établi (Woodhams et al, 1985 ; Kagotani et al, 1989).

Woodhams et al., 1985). Durant la période critique de différenciation, des taux anormaux d'hormones peuvent influencer de façon définitive le développement des structures hypothalamiques, tant sur le plan morphologique que fonctionnel (Plagemann, 1997). Chez le rat, la période critique de différenciation des noyaux hypothalamiques se poursuit jusqu'au 20ème jour de la vie (Pozzo-Miller et Aoki, 1992). Comme elle correspond à notre période de traitement, les modifications du régime maternel peuvent avoir des conséquences aussi bien sur le métabolisme périphérique qu'au niveau du SNC des descendants (Wainwright et al, 1998).

Dans notre étude, le sevrage s'accompagne dans le groupe HF d'une hypoinsulinémie et d'une hypoglycémie. Le glucose est la principale source d'énergie cérébrale et influence sélectivement l'activité neuronale de plusieurs aires glucosensibles (Sokoloff et al, 1977), parmi lesquelles les noyaux paraventriculaires et noyaux vendromédians (Levin et al., 1987). Le cerveau se protège lui-même des écarts glycémiques par une altération des afférences neuronales et hormonales qui agissent sur le métabolisme du glucose : libération, oxydation et stockage (Campfield et Smith, 1986 ; Levin et Routh, 1996).

Quant à l'insuline, il est admis qu'elle joue un rôle de signal physiologique dans la régulation centrale de l'équilibre énergétique (Woods et al., 1979 ; Schwartz et al., 1992,1993 ; Chavez et al., 1995 ; Storlien et al., 1996):

- le niveau d'insuline est directement lié à l'équilibre énergétique et à l'adiposité (Figlewicz et al, 1993) ;
- il existe un système de transport spécifique permettant l'entrée de l'insuline à travers la barrière hématoencéphalique (Schwartz et al., 1991) ;
- les régions cérébrales qui participent à la régulation de la prise alimentaire présentent une forte expression des récepteurs à insuline (Ikeda et al., 1986 ; Chavez et al., 1995).

Les noyaux arqués sont des sites riches en récepteurs à insuline (Woods et al., 1979), et différentes situations associées à des modifications d'insulinémie et de glycémie mettent en évidence une altération des concentrations en neuropeptide Y dans ces noyaux : le rat obèse Zucker fa/fa (Beck et al.,1990), le rat diabétique insulino-déficient (Williams et aL.,1989 ; Mc Kibbin et al., 1992) et le rat Sprague-Dawley en situation de jeûne (Sahu et al., 1988 ; Beck et al., 1990). Plus récemment nous avons montré l'altération du rythme de sécrétion du NPY chez le rat Zucker (Stricker-Krongrad et al., 1997).

- l'administration centrale ou périphérique d'insuline diminue la prise alimentaire (Woods, 1979).

Le rôle modulateur de l'insuline dans le développement du système nerveux central a été démontré (Brenan, 1988) et tout spécialement dans la différenciation du système catécholaminergique (Nataf et Monier, 1992).

L'importance de l'influence hormonale dans notre système intégré est illustrée par le fait qu'au cours du développement, les récepteurs à insuline dans le système nerveux central sont fonction du taux d'insuline périphérique (Devaskar et al. 1986). Durant cette période, une perturbation alimentaire peut provoquer une malprogrammation neuronale et des changements

L'importance de l'influence hormonale dans notre système intégré est illustrée par le fait qu'au cours du développement, les récepteurs à insuline dans le système nerveux central sont fonction du taux d'insuline périphérique (Devaskar et al. 1986). Durant cette période, une perturbation alimentaire peut provoquer une malprogrammation neuronale et des changements morphométriques des noyaux hypothalamiques, à l'origine de modifications des neuromodulateurs.

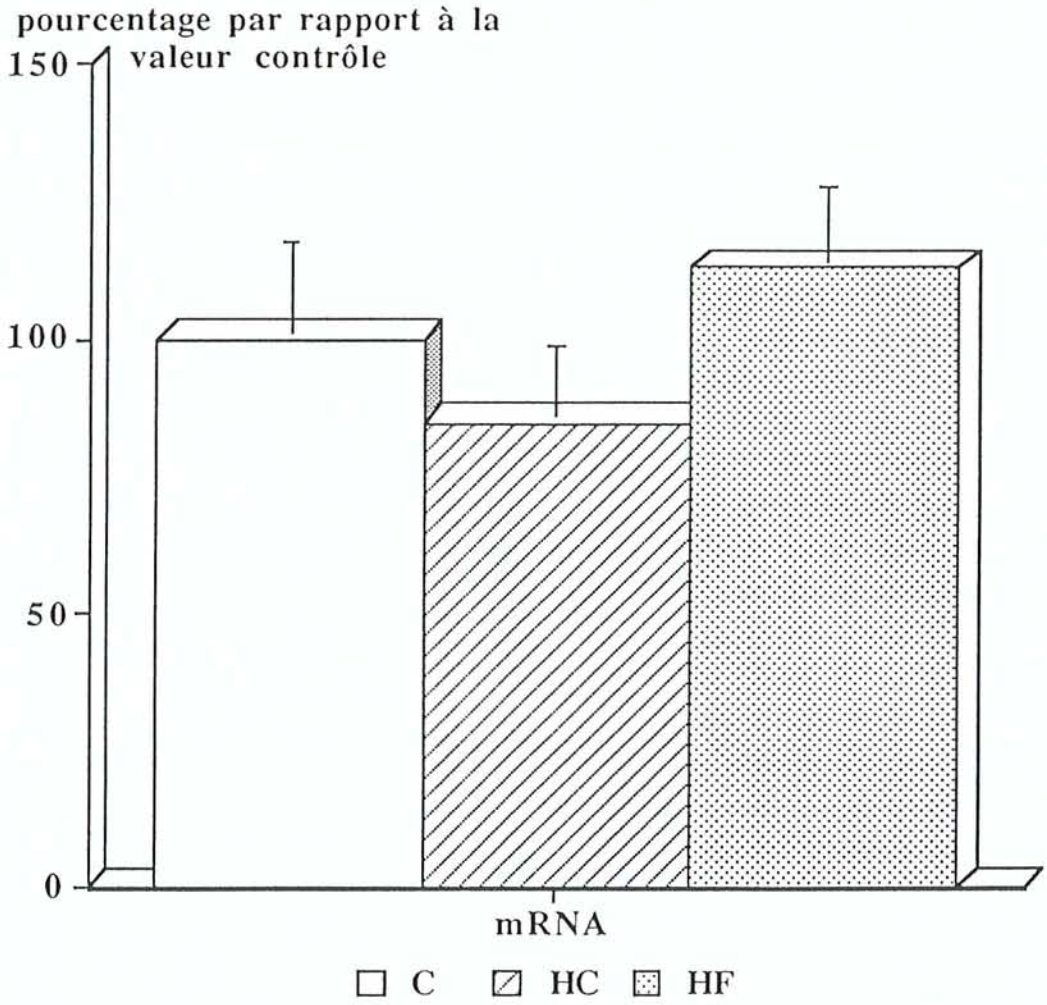


Figure 13 : L'expression de ARNm du neuropeptide Y (Moyennes ± SEM) dans le noyau arqué de ratons (21jours) issus de mères nourries avec un régime contrôle (C; n = 6), hyperglucidique (HC; n = 8) ou hyperlipidique (HF; n = 8), durant les périodes de gestation et d'allaitement.

De plus, le déficit en glucose et en insuline chez le groupe HF s'accompagne dans notre étude d'un déficit en tissu adipeux épididymaire, d'une élévation des triglycérides à l'âge adulte.
Nous savons, par des études précédentes, que la concentration de NPY dans l'axe intrahypothalamique (ARC-PVN) est sensible aux macronutriments ingérés aussi bien à long terme qu'à court terme (Beck et al, 1990 et 1992) et au changement hormonal tel que l'insuline

(Schwartz et al., 1992). Dans nos travaux, compte tenu des modifications physiologiques constatées au sevrage (poids corporel et paramètres plasmatiques), on pouvait s'attendre à des changements de concentration du NPY dans cet axe.

En fait, aucune différence de concentration n'a été constatée, que ce soit au sevrage ou à l'âge adulte que ce soit dans le noyau arqué ou dans le noyau paraventriculaire. Seules les concentrations de NPY dans les noyaux arqués tendent à être plus élevées chez le groupe HF à l'âge adulte.

En coopération avec le Dr J.G. Mercer (Molecular Neuroendocrinology Unit, Rowett Research Institute, Aberdeen, Scotland), des mesures d'hybridation in situ nous ont montré que l'expression de l'ARNm du NPY dans les noyaux arqués reste inchangée au sevrage chez les groupes traités par rapport au groupe contrôle comme le montre la figure 13. Ceci confirme nos résultats sur les concentrations en peptides mesurées au sevrage. L'absence de différence de concentration et d'ARNm entre nos trois groupes permet d'exclure une incidence sur le mécanisme de biosynthèse du NPY.

L'absence de variation au niveau des NPV découle en partie du statu quo observé dans le noyau arqué. Ces noyaux reçoivent d'autres afférences NPYergiques provenant du tronc cérébral qui pourraient aussi jouer un rôle (Sawchenko et al., 1985), mais les techniques utilisées dans notre étude ne permettent pas de distinguer les deux composantes.

Cependant, nous avons quand même enregistré des perturbations du système à NPY puisqu'au sevrage, le taux de NPY au niveau du noyau ventromédian est plus élevé chez les deux groupes expérimentaux HC et HF que dans le groupe contrôle.

Le noyau ventromédian est une composante importante de l'aire hypophysiotropique de l'hypothalamus (Pozzo-Miller et Aoki, 1992). Les études sur son ontogenèse ont montré que ce noyau n'est pas mature à la naissance ; le processus de développement se poursuivant dans la période qui suit la naissance. Le 5^{éme} jour post natal, la majorité des neurones ne s'est pas encore différenciée. Chez le rat, l'étape principale de différenciation au niveau de ces noyaux est détectée entre le 10ème et le 20ème jour de la vie (Pozzo-Miller et Aoki, 1992), période couverte par le traitement. A 10 jours, des organelles cytoplasmiques prolifèrent, installant ainsi le mécanisme de biosynthèse des cellules. C'est seulement à partir du 20ème jour que les neurones du noyau ventromédian prennent leur apparence de neurones adultes en augmentant la densité synaptique et la différenciation des structures subsynaptiques. Les augmentations de NPY observées dans le noyau ventromédian des rats HC et HF pourraient donc être aussi liées au régime des mères pendant la période d'allaitement.

Ce noyau joue un rôle dans le contrôle de la fonction comportementale autonomique et neuroendocrinienne (Colpaert et Wiepkema, 1976 ; Carrer et al., 1982).

Son rôle dans la prise alimentaire a été décrit pour la première fois par Hetherington et Ranson (1940). Leur destruction électrolytique produit une hyperphagie et un syndrome d'obésité associé à une hyperinsulinémie et une hypertriglycéridémie (Berthoud et al., 1979). L'augmentation de la prise alimentaire est surtout due à une augmentation de la consommation

glucidique (Kanarek et al., 1981). De plus, il contient des neurones glucosensibles (Oomura et al., 1988 et al.). Enfin, l'injection de NPY dans ces noyaux produit une augmentation de la prise alimentaire (Stanley et Leibowitz, 1984,1985 ; Morley et al., 1987). L'augmentation commune de NPY dans le noyau ventromédian pour les groupes HC et HF, indiquent que l'insulinémie et la glycémie ne semblent pas jouer un rôle prépondérant sur la biosynthèse de NPY à cet âge car les deux groupes ont des taux d'insuline et de glucose trés défférents au sevrage. Leur influence pourrait être plus importante pour la réactivité du système à NPY vis à vis de changements métaboliques. Les niveaux plus élevés trouvés dans le noyau ventromédian pourraient être à l'origine du retard observé pour l'établissement des préférences alimentaires. Les variation de NPY dans le noyau ventromédian disparaissent à l'âge adulte. Les taux dans l'axe noyau arqué-noyau paraventriculaire restent comparables entre les trois groupes. Cette absence de variations des taux n'exclut cependant pas un défaut de fonctionnement du système. Ceci a été effectivement montré par l'étude de la réactivité à l'injection centrale de NPY d'un côté, et par les changements au niveau de libération stimulée de NPY d'un autre côté.

Les deux groupes de rats traités à l'âge adulte réagissent différemment à l'injection intracérébro-ventriculaire du NPY par rapport au groupe contrôle. Le groupe contrôle montre un effet dose-dépendant classique, correspondant à celui obtenu chez les rats Sprague-Dawley (Stanley et Leibowitz, 1984) et chez d'autres mammifères (Morley et al., 1987 ; Pau et al., 1988). Par ailleurs, chez le groupe HF, la réponse maximale a été obtenue dès la dose la plus faible qui est de 0,5 µg dans notre cas. Chez le groupe HC, nous observons une réponse progressive apparaissant seulement à partir d'une dose intermédiaire de 1 µg.

Par rapport au groupe contrôle, le groupe HF montre donc une sensibilité plus élevée à l'injection de NPY, tandis que celle de groupe HC est plus faible. L'altération de la sensibilité pourrait être due à différents facteurs. D'une part, elle pourrait être liée à une différence de concentration endogène du NPY dans l'hypothalamus. En effet, une augmentation de la sensibilité a été notée lorsque la concentration dans les noyaux paraventriculaires est basse, par exemple après un traitement néonatal avec le glutamate monosodique (Stricker-Krongrad et al., 1995) responsable d'une destruction de neurones dans les noyaux arquées (Pelletier et al., 1984 ; Abe et al., 1990), ou après une trans-section des connexions neuronales à NPY du tronc cérébral (Sahu et al., 1989). Au contraire, cette sensibilité est réduite chez le rat Zucker génétiquement obèse (Stricker-Krongrad et al., 1994a) chez qui la concentration en NPY est naturellement élevée. Une telle hypothèse sera écartée dans notre cas, puisqu'aucune différence n'a été détectée au niveau du noyau paraventriculaire.

Le changement de sensibilité à l'injection centrale de NPY peut aussi être causé par des changements de facteurs périphériques qui pourraient modifier l'action du NPY cérébral. L'insuline joue un rôle prédominant durant la période critique de développement (Dörner et Plagemann, 1994) : une altération du NPY hypothalamique a été notée chez les fœtus de mères diabétiques (Singh et al, 1997). Chez le groupe HF au sevrage, la concentration plasmatique d'insuline est plus basse que celle des deux autres groupes. Néanmoins, cette altération ne se

retrouve pas chez le rat adulte. A l'âge adulte, l'insuline n'est donc pas directement responsable des changements de sensibilité à l'injection de NPY des groupes traités. Cependant, son influence n'est sans doute pas nulle car au niveau de l'hypothalamus, l'expression des récepteurs à insuline montre un pic au cours du troisième tiers de la gestation et une affinité plus élevée que chez le rat adulte (Kappy et Raizada, 1982 ; Sperling et Gongul, 1983). Son rôle organisateur supposé durant le développement précoce a pu altérer le processus de maturation du système NPYergique de façon irréversible et être responsable des modifications observées dans la réactivité au NPY.

Enfin, le NPY modulant la prise alimentaire par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques Y1 et Y5, les changements du nombre de ces récepteurs (Mc Carthy et al, 1991), de leur affinité ou de leur signal de transduction, durant la période de maturation, pourraient être la cause de cette variation de sensibilité. Cette hypothèse est renforcée par le fait que c'est lors de la période de traitement que l'expression des récepteurs Y1 est la plus élevée au cours de la maturation du système central du rat (Tong et al., 1997).

Différentes études ont montré que l'exposition durant la période précoce de développement (pré et postnatale) à un excès de ligand donné altère, chez l'adulte, le mécanisme de régulation par un phénomène de "down régulation" au niveau du récepteur. Ainsi, chez les descendants adultes de chattes injectées avec du diazepam (Valium ®) durant la période de gestation, on note une diminution du nombre de récepteurs à benzodiazepines (Marezynski et Urbancic, 1988). Chez le lapin adulte, l'exposition prénatale à la cocaïne désensibilise sélectivement les récepteurs D1 à la dopamine à une stimulation (Keller et al., 1996). De tels travaux n'ayant pas été menés dans notre étude, d'éventuelles investigations dans ce sens s'avèrent nécessaires.

Parallèlement, cette variation de la sensibilité observée en étudiant la réactivité du système NPYergique des groupes expérimentaux a été retrouvée dans l'étude dynamique de la libération de NPY par la technique de push-pull intracérébrale qui permet de recueillir les molécules présentes dans les espaces extra-cellulaires grâce à une perfusion très lente (13 µl/min) de liquide céphalo-rachidien (LCR) artificiel .

Nous avons constaté que la libération basale de NPY au niveau du noyau paraventriculaire ne diffère pas dans nos trois groupes expérimentaux. Le groupe contrôle ne montre pas de variations au niveau de la libération de NPY après 2DG ou mercaptoacetate. Ceci est peut-être lié à la durée de la période de recueil qui ne dépasse pas 2h après l'injection. Cette durée est probablement insuffisante pour observer des effets chez ces rats normaux.

En revanche, nous avons observé une différence au niveau de la libération lorsqu'elle est stimulée pharmacologiquement chez les groupes HC et HF. En effet, des perturbations apparaissent chez les deux groupes traités par rapport au groupe contrôle, ces perturbations étant différentes selon le groupe examiné. ceci indique bien qu'il existe des effest spécifiques de chaque macronutriment et que le déséquilibre nutritionnel global modifie la réactivité du système.

L'administration périphérique de 2-DG bloque l'utilisation intracellulaire de glucose dans le cerveau et augmente normalement la prise alimentaire dans la majorité des espèces (Smith et Epstein, 1969 ; Houpt et Hance, 1971 ; Tsujii et Bray, 1990). Comme nous l'avons dit auparavant, la modification d'utilisation de glucose peut constituer un important signal modulant le niveau de production de NPY. Dans ces travaux, seul le groupe HC réagit par une augmentation de libération de NPY 2 heures après l'injection. Par contre, l'injection de mercaptoacétate, bloquant l'oxydation des acides gras au niveau des mitochondries (Bauche et al., 1983), n'affecte pas ce groupe, alors que le groupe HF montre une augmentation de la libération de NPY une heure après l'injection et cela par rapport aux deux autres groupes.

On connaît l'existence de relations fonctionnelles entre l'hypothalamus, centre de régulation du comportement alimentaire, et la périphérie qui l'informe sur l'état des réserves énergétiques par l'intermédiaire de signaux tels que l'insuline et la leptine.

L'altération de ces relations empêche un contrôle adéquat du poids corporel et de la prise alimentaire. C'est bien ce qui semble être en cause dans les groupes HC et HF, ou l'on observe des différences de libération de NPY stimulé. Ces différences peuvent être attribuées à une modification de l'efficacité métabolique ou de la sensibilité aux signaux périphériques, en particulier l'insuline et de la leptine. Cependant la modification est différente suivant le groupe considéré, et ne peut pas s'expliquer de la même manière : si on peut l'attribuer au déficit pondéral ou en tissu adipeux dans le groupe HF, il n'en est pas de même dans le groupe HC, où poids et tissu restent inchangés.

Il est donc vraisemblable que les variations pondérales observées dans le groupe HF ne sont pas dues à la simple variation de prise alimentaire mais à des modifications hormono-métaboliques favorisant ou non le stockage de nutriments.

Ceci dit, dans les deux groupes, les modifications de libération provoquée de NPY, et de réactivité à l'injection centrale de NPY confirment que la dynamique fonctionnelle du système NPY ergique est définitivement altérée.

VII. Conclusion Générale

Les éléments principaux des travaux se trouvent résumés dans la figure 14. Après un régime précoce déséquilibré, nos deux groupes expérimentaux ont été soumis à un régime équilibré. Les perturbations glycémiques et insulinémiques constatées à ce stade dans le groupe HF vont se normaliser à l'âge adulte ; par contre le déficit pondéral persistera, mais dans une moindre mesure. Bien que le groupe HC ne présente aucune de ces perturbations, il connaîtra, comme le groupe HF, une élévation de la triglycéridémie à l'âge adulte. Celle-ci ne s'accompagnera pas d'un changement de la masse adipeuse comme chez le groupe HF. Les deux groupes semblent donc plus exposés aux maladies cardio-vasculaires.

Au niveau des mécanismes de régulation centrale, on constate dans les deux groupes des perturbations du système dynamique NPYergique, dont le rôle est essentiel dans la régulation pondérale. Ces perturbations, nous l'avons vu plus haut, ne sont pas de même nature selon les groupes considérés et ne trouvent pas la même explication : si, dans le groupe HF, elles peuvent provenir des différents désordres physiologiques, ce n'est pas le cas dans le groupe HC.

Il apparaît très vraisemblable qu'un mécanisme de contre-régulation s'est mis en place en vue d'une adaptation à l'environnement nutritionnel anormal au cours du développement. Ce mécanisme se montre particulièrement efficace dans le groupe HC, où aucune modification physiologique n'est notée.

Conformément à ce que laissent prévoir les perturbations du système NPYergique, les préférences alimentaires sont aussi modifiées dans les deux groupes, et de façon différente selon le groupe. L'absence d'obésité à l'âge adulte pourrait être liée au fait qu'après la période de traitement, l'ensemble des rats a bénéficié d'un régime équilibré. En extrapolant ces résultats à l'homme, nous pouvons supposer qu'une prédisposition à l'obésité provoquée par le déséquilibre alimentaire maternel peut être inhibée grâce à un régime alimentaire équilibré, même si cette "correction" reste sans doute fragile.

Il est établi que le comportement alimentaire est lié, non pas à la seule concentration, mais plutôt à l'amplitude des variations de sa concentration à chaque instant et à chaque étape de vie du peptide. Or les études de Agnati et al (1988), Zoli et al (1988), Kowaski et al (1992), Huguet et al (1993), Pavia et Morris (1994) et Hastings et al (1998) ont montré que la concentration de NPY diminue normalement avec l'âge dans plusieurs aires cérébrales et spécialement dans l'axe ARC-NPV (Hastings et al ; 1998). Ainsi, une diminution de la réponse à l'injection de NPY au niveau du noyau paraventriculaire a été démontrée chez le sujet âgé (Merlo Pich et al., 1992). Ce phénomène a été observé également avec d'autres neurotransmetteurs et neuropeptides, comme la galanine (Ferraguti et al, 1991) et des neurotransmetteurs monoaminergiques et dopaminergiques chez le rat et l'homme (Simpkins et al, 1984 ; Reymond et al, 1989 ; Karki et al, 1962 ; Arranz et al, 1996). Une telle diminution avec l'âge risque d'être d'autant plus déstabilisante que le système de régulation est déjà fragilisé.

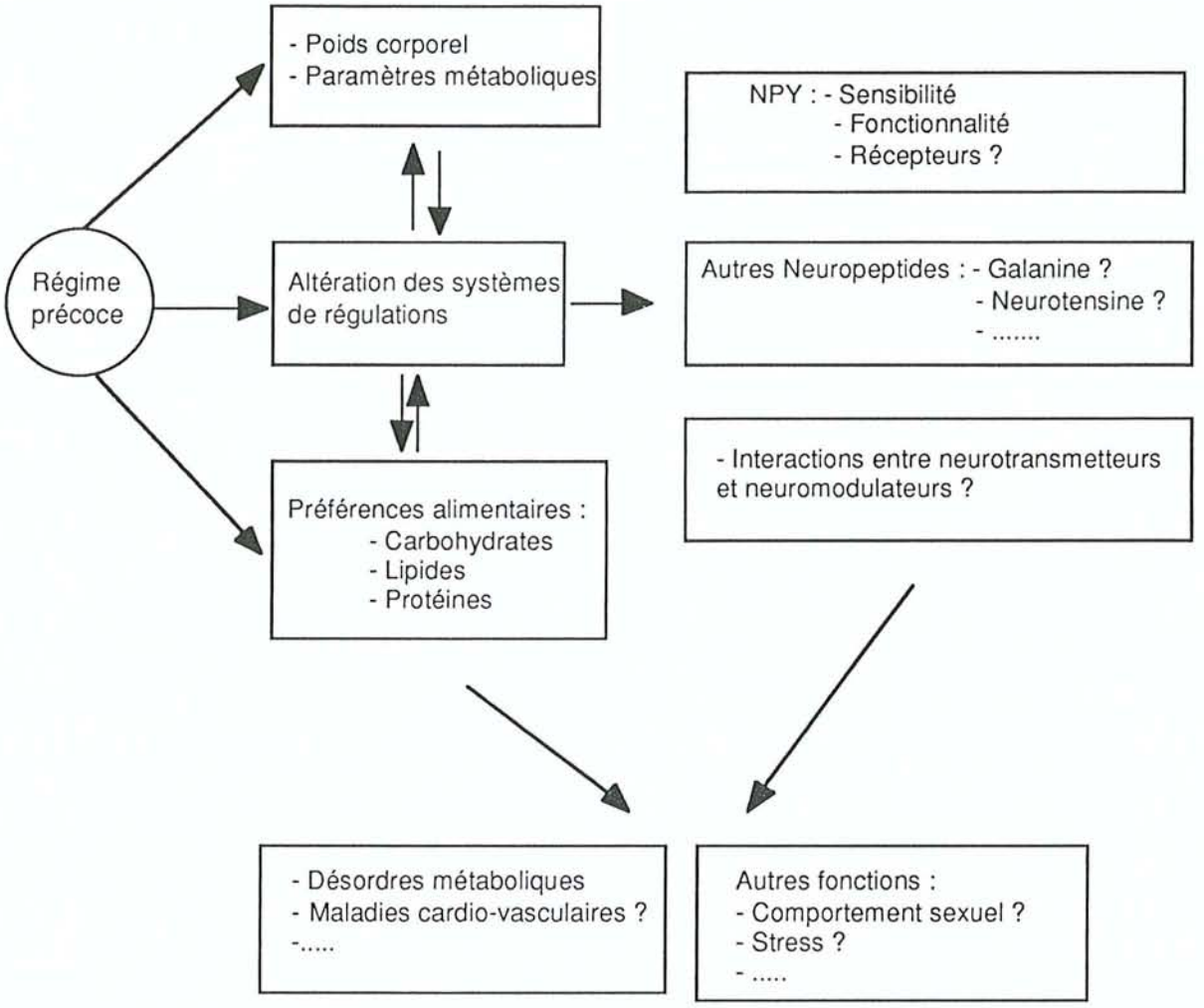


Figure 14 : Influences des conditions nutritionnelles pré et post-natales sur le développement, les préférences et les mécanismes des régulations du comportement alimentaire.

A notre connaissance, ce travail est le premier à vouloir faire le lien entre conditions alimentaires précoces, profil des préférences alimentaires et étude dynamique des systèmes à neuropeptide Y au niveau de l'hypothalamus au cours de la vie. Ceci pourra éventuellement ouvrir la voie à une prise en charge préventive des désordres alimentaires.

Ceci dit, le NPY n'est pas le seul peptide impliqué dans la régulation quantitative et qualitative du comportement alimentaire. Il existe un équilibre dynamique entre différents neuropeptides, tels que la galanine ou les opiacées et le neurotensine (Tempel et al., 1988), qui peuvent eux aussi être perturbés lors de leur mise en place. Au demeurant, plusieurs études ont montré les interactions morphologiques et fonctionnelles du NPY avec d'autres neurotransmetteurs et neuromodulateurs (Levin et Sullivan 1987 ; Hôrvath et al, 1992 ; Xu et al, 1993). On sait par ailleurs que le NPY intervient également dans d'autres fonctions biologiques, parmi lesquelles le stress et le comportement sexuel (Clark et al, 1985, 1995 ; Kalra, 1989, 1992, 1996, Klemufss et al. 1998). Une altération au niveau du NPY hypothalamique cause des dysfonctionnements de l'axe "hypothalamo-hypophyso-gonadique (Kalra et Crowley,1992 ; Lambert et al., 1993) Les régimes alimentaires ingérés pendant les périodes précoces du développement peuvent donc avoir des retentissements multiples. Ceci mérite d'être approfondi par d'autres investigations.

Bibliographie

Abe M., Saito M., Shimazu T. (1990). Neuropeptide Y in the specific hypothalamic nuclei of rats treated neonatally with monosodium glutamate.

Brain Res. Bull. 24 : 289 - 291.

Agnati L.F., Fuxe K., Zoli M., Zini A., Härfstrand A., Toffano G., Goldstein M. (1988). Morphometrical and microdensitometrical studies on phenylethanolamine-N-methyltransferase and neuropeptide Y immunoreactive neurons in the rostral medulla oblongata of the adult and old male rat.

Neuroscience 26 : 461 - 478.

Allen J.M., McGregor G.P., Woodhams P.L., Polak J.M., Bloom S.R. (1984). Ontogeny of a novel peptide, neuropeptide Y (NPY) in rat brain.

Brain Res. 303 : 197-200.

Anand B. K., Brobeck J.R. (1940). Hypothalamic control of food intake in rats and cats.

Yale J. Biol. Med. 24 : 123 - 140

Arancibia S. (1987). La technique de perfusion push-pull en neuroendocrinologie.

Ann.'Endocrinol. 48 : 410 - 418.

Arranz B., Blennow K., Ekman R., Eriksson A., Manson J.E., Marcusson J. (1996). Brain monoaminergic and neuropeptidergic variations in human aging.

J. Neural Transm. 103 : 101 - 115.

Aubert R., Suquet J.P., Lemonnier D. (1980). Long term morphological and metabolic effects of early under and over nutrition in mice.

J. Nutr. 110 : 649-661.

Babicky A., Ostadalova I., Parizek J., Kolar J., Bibr B. (1970). Use of radioisotope techniques for determining the weaning period in experimental animals.

Physiol. Bohemoslov. 19 : 457 - 467.

Bai F.L., Yamano M., Shiotani Y., Emson P.C., Smith A. D., Powell J. F., Tohyama M. (1985). An arcuato-paraventricular and dorsomedial hypothalamic neuropeptide Y-containing system which lacks noradrenaline in the rat.

Brain Res. 331 : 172 - 175

Battaglia F.C., Meschia G., (1978). Principal substrates of fetal metabolism.

Physiol. Rev. 58 : 499-527.

Bauche F., Sabourault D., Giudicelli Y., Jand Nordmann R. (1983). Inhibition in vitro of acyl-CoA-deshydrogenase by 2- mercaptoacetate in rat liver mitochondria.

Biochem. J. 215 : 457 - 464.

Barbanel G., Ixart G., Arancibia S., Assenmacher I. (1986).Probable extrapituitary source of the immunoreactive prolactin measured in the cerebrospinal fluid of anaesthetized rats by Push-Pull cannulation of the 3 rd ventricle.

Neuroendocrinology 43 : 476 - 482.

Bayer S.A., Brunner R.L., Hine R., Altman J. (1973). Behavioural effects of interference with the postnatal acquisition of hippocampal granule cells.

Nature 242 : 222 - 224.

Beck B., Burlet A., Nicolas J.P., Burlet C. (1990). Hypothalamic neuropeptide Y (NPY) in obese Zucker rats : implications in feeding and sexual behaviors.

Physiol. Behav. 47 : 449 - 453.

Beck B., Stricker-Krongrad A., Burlet A., Nicolas J.P., Burlet C. (1992). Changes in hypothalamic neurotensin concentrations and food intake in rats fed a high fat diet.

Int. J. Obes. 16 : 361 - 366.

Beck B., Burlet A., Bazin R., Nicolas J.P., Burlet C. (1993). Elevated neuropeptide-Y in the arcuate nucleus of young obese Zucker rats may contribute to the development of their overeating.

J. Nutr. 23 : 1168 - 1172.

Beck B. (1997). Messagers hormonaux du tissu adipeux et systèmes de régulation du comportement alimentaire.

Conc. Med. 27 : 119 - 129.

Bergendahl M., Veldhuis J.D. (1995). Altered pulsatile gonadotropin signalling in nutritional deficiency in males.

Trends Endocrin. Metabolism. 6 : 145 - 159.

Berthoud H. R., Jeanrenaud B. (1979). Acute hyperinsulinemia and its reversal by vagotomy following lesions of the ventromedial hypothalamus in anesthetized rats.

Endocrinology 105 : 146 - 151.

Buison A., H. Lu M. S., F. Guo M. S., Jen K. L. C. (1997). High-fat feeding of different fats during pregnancy and lactation in rats : Effects on matrenal metabolism, pregnancy outcome, milk and tissue fatty acid profiles.

Nutr. Res. 17 : 1541 - 1554.

Bloomquist A.G., Soderberg C., Lundell I., Milner R.J., Larhammar D. (1992). Strong evolutionary conservation of neuropeptide Y: sequences of chicken, goldfish, and torpedo marmorata DNA-clones.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA : Neurobiology 89 : 2350 - 2354.

Brennan W. A. (1988). Developmental aspects of the rat brain insulin receptors: loss of sialic acid and fluctuation in number characterize fetal development.

Endocrinology 122 : 2364 - 2370.

Campfield L. A., Smith F. J. (1986). Functional coupling between transient declines in blood glucose and feeding behavior : temporal relationships.

Brain Res.Bull. 17 : 427 - 433.

Carrer H. F., Aoki A. (1982). Ultrastructural changes in the hypothalamic ventromedial nucleus of ovariectomized rats after estrogen treatment.

Brain. Res. 240 : 221 - 233

Cavanagh M.E., Parnavelas J.G. (1988). Development of somatostatin immunoreactive neurons in the rat occipital cortex : a combined immunocytochemical-autoradiographic study.

J. Comp. Neurol. 268 : 1 - 12.

Chavez M., Kaiyala K., Madden L.J., Schwartz M. W., Woods S.C. (1995). Intraventricular insulin and level of maintained body weight in rat.

Behav. Neurosci. 109 : 528 - 531.

Chronwall B.M., Di Maggio D.A., Massari V.J., Pickel V.M., Ruggiero D.A., O'Donohue T.L. (1985). The anatomy of neuropeptide Y - containing neurons in rat brain.

Neuroscience 15 : 1159 - 1181.

Clark J.T., Kalra P.S., Crowley W.R., Kalra S.P. (1985). Neuropeptide Y stimulates feeding, but inhibits sexual behavior in rats.

Endocrinology 117 : 2435 - 2442.

Clark J.T. (1995). Sexual function in altered physiological states : Comparison of effects of hypertension, diabetes, hyperprolactinemia and others to "normal" aging in male rats.

Neurosci. Biobehav. Rev. 19 : 279 - 302.

Colpaert F. C., Wiepkema P.R. (1976). Effect of ventromedial hypothalamic lesion on spontaneous intraspecific aggression in male rats.

Behav. Biol. 16 : 117 - 125.

Corder R., Gaillard R.C., Bohlen P. (1988). Isolation and sequence of rat peptide YY and neuropeptide Y.

Regul. Pept. 21 : 253 - 261.

Coupe C. D., Perdereau P., Ferré Y., Hitier Y., M. Narkewicz, J. Girard (1990). Lipogenic enzyme activities and mRNA in rat adipose tissue at weaning

Am. J. Physiol. 258 : E126 - E133.

Dam T.V., Escher E., Quirion R. (1988). Evidence for the existence of three classes of neurokinin receptors in brain. Differential ontogeny of neurokinin-1, neurokinin-2 and neurokinin-3 binding sites in rat cerebral cortex.

Brain Res. 453 : 372-376.

Danger J.M., Tonon M.C., Jenks B.G., Saint-Pierre S., Martel J.C., Fasolo A., Breton B., Quiron R., Pelletier G., Vaudry H. (1990). Neuropeptide Y : Localization in the central nervous system and neuroendocrine functions.

Fundam. Clin. Pharmacol. 4 : 307 - 340

De Gennes J.L., Turpin G., Truffert J. (1972). Dépistage et identification des hyperlipidémies idiopathiques. Un nouveau test.

Nouv. Presse Med. 1 : 1627 - 1632.

Del Prado M., Delgado G., Villalpando S. (1997). Maternal lipid intake during pregnancy and lactation alters milk composition and production and litter growth in rats.

J. Nutr. 127 : 458 - 462.

De Quidt M.E., Emson P.C. (1986). Distribution of neuropeptide Y-like immunoreactivity in the rat central nervous system. Radioimmunoassay and chromatographic characterization.

Neuroscience 18 : 527 - 543.

Devaskar S. U., Karycki L., Devaskar U. P. (1986). Varying insulin concentrations differentially regulate the fetal brain insulin receptor.

Biochem. Biophys. Res. Comm. 136 : 208 - 219.

Di Giacomo J.E., Hay W.W.J. (1990). Placental-fetal glucose exchange and placental glucose consumption in pregnant sheep.

Am. J. Physiol. 258 : E360 - E367.

Dörner G., Plagemann A. (1994). Perinatal hyperinsulinism as possible predisposing factor for diabetes mellitus, obesity and enhanced cardiovascular risk in later life.

Horm. Metab. Res. 26 : 213 - 221.

Drewnoski J.E., Hernandez E.N., Flood J. F. (1987). Neuropeptide Y increases food intake in mice

J. Physiol. 253 :R516 - R-522

Everitt B.J., Hökfelt T., Terenius L., Tatemoto K., Mutt V., Goldstein M. (1984). Differential co-existence of neuropeptide Y (NPY)-like immunoreactivity with catecholamines in the central nervous system of the rat.

Neuroscience 11 : 443 - 462.

Ferraguti F., Zoli M., Fuxe K., Agnati L. F. (1991). Age-related decrease of galanin immunoreactivity in discrete forbrain areas of the rat assessed by semiquantitative immunonocytochistry.

Neurosci. Res. comm. 9 : 83 - 89.

Figlewicz D.P., K. Bentson, Ocrant I. (1993). The effect of insulin on norepinephrine uptake by PC12 cells.

Brain Res. Bull. 32 : 425 - 431.

Foster G.A., Schultzberg M., Goldstein M. (1984). Differential and independent manifestation within co-containing neurones of neuropeptide Y and tyrosine hydroxylase during ontogeny of the rat central nervous system.

Neurochem. Int. 6 : 761 - 771.

Foster G.A., Woodhams P.L. (1992). Neuropeptide Y.

In : Handbook of Chemical Neuroanatomy. A.Björklund, T.Hökfelt, M. Tohyama (eds) : Elsevier Science Publishers. Amsterdam. 10 : 521 - 546.

French C.E., Ingram R.H., Knoebel L.K., Swift R.W. (1952). The influence of dietary fat and carbohydrate on reproduction and lactation in rats.

J. Nutr. 48 : 91 - 102.

Frienkel N. (1980). Of pregnancy and progeny.

Diabetes 29 : 1023 - 1035.

Fujii T., Horinaka M., Hata M. (1993). Functional effect of glucocorticoid exposure during fetal life.

Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatr. 17 : 279-293.

Gaddum J.H. (1961). Push- pull Cannulae.

J. Physiol. 155 : 1 - 2

Gardette R., Courtois M., Bisconte J.C. (1982). Prenatal development of mouse ventral nervous structures: time of origin and gradients of neuronal production. A radioautographic study.

J. Hirnforsch. 23 : 415 - 431.

Garcia de Yebenes E., Li S., Fournier A., St. Pierre S., Pelletier G. (1995). Regulation of proopiomelanocortin gene expression by neuropeptide Y in the rat arcuate nucleus.

Brain Res. 674 : 112 - 116.

Gerald C., Walker M. W., Criscione L., Gustafson E. L., Batzl-Hartmam C., Smith K. E., Vaysse P., Durkin M. M., Laz T. M., Linemeyer D. L., Schaffhauser A. O., Whitebread S., Hofbauer K. G., Taber R. I., Branchek T. A., Weinshank R. L. (1996). A receptor subtype involved neuropeptide Y induced food intake

Nature 382 : 168 - 171.

Ghusain Choueiri A.A., Rath E.A. (1995). Effect of carbohydrate source on lipid metabolism in lactating mice and on pup development.

Br. J. Nutr. 74 : 821 - 831.

Gilbert R. D., Schroder H., Kawamura T., Dale P. S., Power G. G. (1985). Heat transfer pathways between the fetal lamb and ewe

J. Appl. Physiol. 59 : 634 - 638

Girard J, Ferré P., Kervran A., Pégorier J.P., Assan R. (1977). Influence of insulin/glucagon ratio in the changes of hepatic metabolism during development of the rat.

In : Glucagon it is role in physiology and clinical medicin. P. P. Foa, J.S. Bajaj, N.L. Foa. (eds).Excerpta. Med. Amsterdam: 563 - 581.

Girard J., Ferré P., Pégorier J.P., Duée P.H. (1992). Adaptations of glucose and fatty acid metabolism during perinatal period and suckling-weaning transition.

Physiological Reviews 72 : 507 - 541.

Grigor M. R., Allan J. E., Carrington, Carne J. M., Geursen A., Young D., Thompson M. P., Haynes E. B., Coleman R. A. (1987). Effect of dietary protein and food restriction on milk production and composition, maternal tissues and enzymes in lactating rats.

J. Nutr. 117 : 1247 - 1258.

Hasting J. A., McClure-Sharp, M.J. Morris (1998). In vitro studies of endogenous noradrenaline and NPY overflow from the rat hypothalamus during maturation and ageing

Naunyn-schmiedeberg's Archives of Pharmacology 357 : 218 - 224.

Hayashi M. (1992). Ontogeny of some neuropeptides in the primate brain.

Prog. Neurobiol. 38 : 231 - 260.

Hendry S.H.C., Jones E.G., Emson P.C. (1984). Morphology, distribution and synaptic relations of somatostatin and neuropeptide Y containing neurons in rat and monkey neocortex.

J. Neurosci. 4 : 2497 - 2517.

Henning S.J., Chang S.P.P., Gisel E.G. (1979). Ontogeny of feeding controls in suckling and weanling rats.

Am. J. Physiol. 237: R187 - R191.

Henning S.J. (1981). Postnatal development: coordination of feeding, digestion, and metabolism.

Am. J. Physiol. 241 : G199 - G214.

Hermans E., Jeanjean A.P., Laduron P.M., Octave J.N., Maloteaux J.M. (1993). Postnatal ontogeny of the rat brain neurotensin receptor mRNA.

Neurosci. Lett. 157 : 45 - 48.

Herrera E., Lasuncion M.A., Gomez-Coronado D., Martin A., Bonet B. (1990). Lipid metabolic interactions in the mother during pregnancy and their fetal repercussions.

In: . *Endocrine and Biochemical Development of the Fetus and Neonate.* Cuezva, J.M., Pascual Leone, A.M., Patel, M.S. (eds). Plenum Press New York 213 - 230

Herrera E., Lasuncion M.A., Asuncion M. (1992). Placental transport of free fatty acids, glycerol and ketone bodies.

In : Fetal and neonatal physiology. Polin R., Fox W.W. (eds) :Plenum Press, Philadelphia. 291 - 298.

Hetherington A.W., Ranson S.W. (1940). Hypothalamic lesions and adiposity in the rat.

Anat. Rec. 78 : 149 - 172.

Hill W., Castonguay T. W., Collier G. H. (1980). Taste or diet balancing?

Physiol. Behav. 24 : 768 - 767

Hökfelt T. (1991). Neuropeptides in perspective : the last ten years.

Neuron 7 : 867 - 879.

Horvath T.L., Naftolin F., Kalra S.P., Leranth C. (1992). Neuropeptide Y innervation of B-endorphin containing cells in the rat mediobasal hypothalamus. A light and electronmicroscopic double-immunostaining analysis.

Endocrinology. 131 : 2461 - 2467

Horvath T.L., Kalra S.P., Naftolin F., Leranth C. (1995). Morphological evidence for a galanin-opiate interaction in the rat mediobasal hypothalamus.

J. Neuroendocrinol. 7 : 579 - 588.

Horvath T.L., Naftolin F., Leranth C., Sahu A., Kalra S.P. (1996). Morphological and pharmacological evidence for neuropeptide Y-galanin interaction in the rat hypothalamus.

Endocrinology 137 : 3069 - 3077.

Houpt T. R., Hance H.E. (1971). Stimulation of food intake in the rabbit and rat by inhibition of glucose metabolism with 2-deoxy-D-glucose.

J. Comp. Physiol. Psychol. 76 : 395 - 400.

Huguet F., Comoy E., Piriou A., Bohuon C. (1993). Age-related changes of noradrenergic-NPY interaction in rat brain : norepinephrine, NPY levels and α- adrenoreceptors.

Brain Res. 625 : 256 - 260.

Ikeda H., West D.B., Pustek J.J., Figlewicz D. P., Greenwood M. R. C., Porte D. Jr,Woods S. C. (1986). Intraventricular insulin reduces food intake and body weight of lean but not obese Zucker rats.

Appetite 7 : 381 - 386

Ixart G., Barabanel G., Conte-Devaux B., Grino M., Oliver C., Assenmacher I. (1987). Evidence for basal and stress-induced release of corticotropin releasing factor in push-pull cannulated median eminence of conscious freely-moving rats.

Neurosci. Lett. 74 : 85 - 89.

Jackson A.A., Wootton S.A. (1990). The energy requirements for growth and catch-up growth.

In : Activity, energy expenditure and energy requirements of infants and children. International dietary Energy consultative Group, Schurch B, Scrimshaw N.S. (eds) : Switzerland. 185 - 244.

Jackson A.A., Langley-Evans S.C., McCarthy H. D. (1996). Nutritional influences in early life upon obesity and body proportions

In : The origins and consequences of obesity. Chicbester W. (eds) : Ciba Faundation Symposium. southampton. 201: 118 - 137

Jen C.K. L. (1988). Effects of diet composition on food intake and carcass composition in rats.

Physiol. Behav. 42 : 551 - 556.

Jensen R.G., Hagerty M.M., McMahon K.E. (1978). Lipids of human milk and infant formulas: a review.

Am. J. Clin. Nutr. 31: 990 - 1016.

Jensen A.P., Simson E. L., Friedman M.I. (1984). Gestational undernutrition and the development of obesity in rats.

J. Nutr. 114 : 1484 - 1492.

Jolicoeur F.B., Michaud J.N., Menard D., Fournier A., St-Pierre S. (1991). In vivo structure activity support the existence of heterogeneous neuropeptide Y receptors.

Brain Res. Bull. 26 : 309 - 311.

Jones A.P., Simson E. L., Friedman M.L. (1984). Gestational undernutrition and the development of obesity in rats.

J. Nutr. 114 : 1484 - 1492.

Jones A.A.P., Assimon S. A., Friedman M.L. (1986). The effect of diet on food intake and adiposity in rats made obese by gestational undernutrition.

Physiol. Behav. 37 : 381 - 386.

Kagotani Y., Hashimoto T., Tsuruo Y., Kawano H., Daikoku S., Chiara K. (1989). Development of the neuronal system containing neuropeptide Y in rat hypothalamus

*Int. J. Dev. Neurosci.*7 : 395 - 374.

Kalra S.P., Clark J.T., Sahu A., Kalra P.S., Crowley W.R. (1989). Hypothalamic NPY : A local circuit in the control of reproduction and behavior.

In : Neuropeptide Y. Mutt V., Füxe K., Hökfelt T., Lundberg J.(eds) : Raven Press. New York 229 - 241.

Kalra S.P., Crowley W.R. (1992). Neuropeptide Y : a novel neuroendocrine peptide in the control of pituitary hormone secretion, and its relation to luteinizing hormone.

Front. Neuroendocrinol. 13 : 1 - 36

Kalra S.P., Kalra P. S. (1996). Nutritional infertility : The role of the interconnected hypothalamic neuropeptide Y- galanin- opioid network.

Front. Neuroendocrinol. 17 : 371 - 401.

Kanarek R.B., Marks-Kaufman R. (1981). Increased carbohydrate consumption induced by neonatal administration of monosodium glutamate to rats.

Neurobehav. Toxicol. Teratol. 3 : 345 - 350.

Kappy M.S., Raizada M.K. (1982). Adult insulin binding is present in term fetal rat CNS membrane.

Brain Res. 249 : 390 - 392.

Karki N., Kuntzman R., Brodie B.B. (1962). Storage, synthesis, and metabolism of monoamines in the developing brain.

J. Neurochem. 9 : 53 - 58.

Keller R.W. Jr, LeFevre R., Raucci J.N., Glick S.D. (1996). Enhanced cocaine self-administration in adult rats prenatally exposed to cocaine.

Neurosci. Lett. 3 : 153 - 156.

Kerkerian L., Pelletier G. (1986). Effects of monosodium L-glutamate administration on neuropeptide Y-containing neurons in the rat hypothalamus.

Brain Res. 369 : 388 - 390.

Klemfuss H., Southerland S., Britton K. T. (1998). Cardiovascular actions of neuropeptide Y and social stress.

Peptides 19 : 85 - 92.

Knight C. H., Docherty A. H., Peaker M. (1984). Milk yield in rats in relation to activity and size of the mammary gland secretory cell population

J. Dairy Res. 51 : 29 - 35.

Koski K.G, Hill F.W. (1986a). Effect of low carbohydrate diet during pregnancy on parturition and postnatal survival of the newborn rat pup.

J. Nutr. 116 : 1938 - 1948.

Koski K.G., Hill F.W., Hurley L. S. (1986b). Effect of low carbohydrate diet during pregnancy on embryogenesis and fetal growth and development in rats.

J. Nutr. 116 : 1922 - 1937.

Koski K.G., Hill F.W. (1990a). Evidence for a critical period during late gestation when maternal dietary carbohydrate is essential for survival of newborn rats.

J. Nutr. 120 : 1016 - 1027.

Koski K.G., Hill F.W., Lonnerdal B. (1990b). Altered lactational performance in rats fed low carbohydrate diets and its effect on growth of neonatal rat pups.

J. Nutr. 120 : 1028 - 1036.

Kowalski C., Micheau J., Corder R., Gaillard R., Conte-Devolx B. (1992). Age-related changes in corticotropin Releasing factor, somatostatin, neuropeptide Y, methionine enkephalin and ß-endorphin in specific rat brain areas.

Brain. Res. 582 : 38 - 46.

Kyrkouli S.E., Stanley B. G., Seirafi R. D., Leibowitz S. R. (1990). Stimulation of feeding by galanin : Anatomical localization and behavioral specificity of this peptide's effects on the brain.

Peptides 11 : 995 - 1001.

Lambert P.D., Wilding J.P.H., Al-Bokayel A.A., Gilbey S.G., Bloom S.R. (1993). The effects of central blockade of Kappa-opioid receptors on neuropeptide Y-induced feeding in the rat.

Brain Res. 629 : 146 - 148.

Lanoue L., Miniaci S., Koski K.G. (1992). Placental composition does not respond to changes in maternal dietary carbohydrate intake in rats.

J. Nutr. 122 : 2374 - 2382.

Lanoue L., Koski K.G. (1994). Glucose-restricted diets alter milk composition and mammary gland development in lactating rat dams.

J. Nutr. 124 : 94 - 102.

Laychock S.G., Vadlamudi S., Patel M. S. (1995). Neonatal rat dietary carbohydrate affects pancreatic islet insulin secretion in adults and progeny.

Am. J. Physiol. 269 : E739 - E744.

Leibowitz S.F., Hammer N.J., Chang K. (1981). Hypothalamic paraventricular nucleus lesion produces overeating and obesity in the rat.

Physiol. Behav. 27 : 1031 - 1040.

Leibowitz S.F., Sladek C., Spencer L., Tempel D. (1988). Neuropeptide Y, epinephrine and norepinephrine in the paraventricular nucleus : stimulation of feeding and the release of corticosterone, vasopressin and glucose.

Brain. Res. Bull. 21 : 905 - 912.

Leibowitz S.F. (1990). Hypothalamic neuropeptide Y in relation to energy balance.

Ann. N. Y. Acad. Sci. 611 : 284 - 301.

Lemonnier D., Suquet J.P., Aubert R., Rosselin G. (1973). Long term effect of neonate food intake on adult body composition, insulin and glucose serum levels.

Horm. Metab. Res. 5 : 223 - 224.

Leprohon C. E., Anderson G. H. (1979). Maternal diet affects feeding behaviour of self selecting weanling rats.

Physiol. Behav. 24 : 553 - 559.

Leturque A., Ferré P., Burnol A-F, Kande J., Maulard P., Girard J. (1986). Glucose utilization rates and insulin sensitivity in vivo in tissues of virgin and pregnant rats.

Diabetes 35 : 172 - 177.

Levine A.S., Morley J. E. (1984). Neuropeptide Y: a potent inducer of consummatory behavior in rats.

Peptides 5 : 1025 - 1029.

Levin B. E., Sullivan A.C. (1987). Glucose insulin and sympathoadrenal activation.

J. Auton. Nerv. Syst. 20 : 233 - 242.

Levin B. E., Routh V.H. (1996). Role of the brain in energy balance and obesity.

Am. J. Physiol. 271 : R491 - R 500.

Longley-Evans S.C., Jackson A. A. (1994). Increased systolic blood pressure in adult rats induced by fetal exposure to maternal low protein diet.

Clin. Sci. 86 : 217 - 222.

Lucas F., Ackroff K., Sclafani A. (1989). Dietary fat-induced hyperphagia in rats as a fonction of fat type and physical form.

Physiol. Behav. 45 : 937 - 946.

Lundell I., Blomqvist A. G., Berglund M. M., Schober D. A., Johnson D., Statnick M. A., Gadski R. A., Gehlert D. R., Larhammar D. (1995). Cloning of a human receptor of the NPY receptor family with high affinity for pancreatic polypeptide and paptide YY.

J. Biol. Chem. 270 : 29123 - 29128.

Lowry O.H., Rosebrough N.J.0, Farr A.L., Andall .J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent.

J. Biol. Chem. 193 : 265 - 275.

Maegawa H., Kobayashi M., Ishibashi O., Takata Y., Shigeta Y. (1986). Effect of diet change on insulin action: difference between muscles and adipocytes.

Am. J. Physiol. 251 : E616 - E623.

Maggio C.A., Yang M., Vasselli J.R. (1984). Developmental aspects of macronutrient selection in genetically obese and lean rats.

Nutr. Behav. 2 : 95 - 110.

Marezynski T.J., Urbancic M. (1988). Animal models of chronic anxiety and "fearlessness".

Brain Res. Bull. 21 : 483 - 490.

McCarthy H.D., McKibbin P.E., Holloway B., Mayers R., Williams G. (1991). Hypothalamic neuropeptide Y receptor characteristics and NPY-induced feeding response in lean and obese Zucker rats.

Life Sci. 49 : 1491 - 1497.

McConnell S. (1991). The generation of neuronal diversity in the central nervous system.

Ann. Rev. Neurosci. 14 : 269 - 300.

McGregor G.P., P.L. Woodhams, D. O'Shaughnessy, M.A. Ghatei, J.M. Polak, S.R. Bloom (1982). Developmental changes in bombesin, substance P, somatostatin and vasoactive intestinal polypeptide in the rat brain.

Neurosci. Lett. 28 : 21 - 27.

McKibbin P. E., McCarthy H.D., Shaw P., Williams G. (1992). Insulin deficiency is a specific stimulus to hypothalamic neuropeptide Y : a comparison of the effects of insulin replacement and food restriction in streptozotocin-diabetic rats

Peptides 13 : 721 - 727

McLaughlin C.L., Tou J.S., Rogan R.J., Baile C.A. (1991). Full amino acid sequence of centrally administered NPY required for maximal food intake response

Physiol. Behav. 49 : 521 - 526.

Merlo Pich E., Messori B., Zoli M., Ferraguti F., Marrama P., Biagini G., Fuxe K., Agnati L. F. (1992). Feeding and drinking responses to neuropeptide Y injections in the paraventricular hypothalamic nucleus of aged rats.

Brain Res. 575 : 265 - 271.

Mercer J.G., Hoggard N., Williams L.M., Lawrence G.B., Hannah L.T., Morgan P.J., Trayhum P. (1996). Co-expression of leptin receptor and preproneuropeptide Y mRNA in arcuate nucleus of mouse hypothalamus.

J. Neuroendocrinol. 8 : 733 - 735

Morgane P.J., Austin-Lafrance R.J., Bronzino J.D., Tonkiss J.,Galler J.R. (1992). Malnutrition and the developing nervous system

In : The vulnerable brain and environmental risks.Isaacson R., Jensen K.(eds) : Plenum Press). New York; 1. 3 - 44

Morgane P.J., Austin-Lafrance R.J., Bronzino J.D., Tonkiss J., Diaz-Cintra S., Cintra L., Kemper T., Galler J.R. (1993). Prenatal malnutrition and development of the brain.

Neurosci. Biobehav. Rev. 17 : 91 - 128.

Morley J. E., (1987). Neuropeptide regulation of appetite and wieght.

Endocr. Rev. 8 : 256 - 287.

Michelot R., Leviel V., Torrens Y., Glowinski J., Cheramy A. (1979). In vivo release of substance P in the cat substantia nigra.

Neurosci. Lett. 15 : 141 - 146.

Nataf V., Monier S. (1992). Effect of insulin and insulin-like growth factor I on the expression of the catecholaminergic phenotype by neural crest cells.

Brain Res. Dev. Brain Res. 69 : 59 - 66.

O'Donohue T.L., Chronwall B.M., Pruss R.M., Mezey E., Kiss J.Z., Eiden L.E., Massari V.J., Tessel R.E., Pickel V.M., Dimaggio D.A., Hotchkiss A.J., Crowley W.R., Zukowska-Grojec Z. (1985). Neuropeptide Y and peptide YY neuronal and endocrine systems.

Peptides 6 : 755 - 768.

Olney J. W., (1969). Brain lesions, obesity and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate.

Science 164 : 719.

Oomura Y. (1988). Chemical and neuronal control of feeding motivation

Physiol. Behav. 44 : 555 - 560

Oscai L. B., Brown M. M., Miller W. C. (1984). Effect of dietary fat on food intake, Growth and body composition in rats.

Growth 48 : 415 - 424

Oscai L.B., Miller W. C., Arnall D. A. (1987). Effects of dietary sugar and of dietary fat on food intake and body fat content in rats

Growth 51 : 64 - 73

Pau M.Y.C., Pau K.Y.C., Spies H. G. (1988). Characterization of central actions of neuropeptide Y on food and water intake in rabbits.

Physiol. Behav. 44 : 797.

Pavia J.M., Morris M.J. (1994). Age-related changes in neuropeptide Y content in brain and peripheral tissues of spontaneously hypertensive rats.

Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 21: 335 - 338.

Paxinos G., Watson C. (1982). The rat brain in stereotaxic coordinates.

Academic Press. New York.

Paxinos G., Watson C., Pennisi M., Topple A. (1985). Bregma, lambda and the interaural midpoint in stereotaxic surgery with rats of different sex, strain and weight.

J. Neurosci. Methods..13 : 139 - 143.

Paxinos G., Tork L., Tecott H., Valentino L., Fritchel A., Barchas J.D. (1990). Atlas of the developing rat brain.

Academic Press. New York.

Pelletier G., Guy J., Allen Y. S. Polak J. M. (1984). Electron microscopic immunocytochemical localization of neuropeptide Y (NPY) in the rat brain.

Neuropeptides 4 : 319 - 324.

Perdereau D., Narkewiez M., Coupé C., Ferré P., Girard J. (1990). Hormonal control of specific gene expression in the rat during the suckling-weaning transition.

Adv. Enzyme Regul. 30 : 91 - 107

Plagemann A., Heidrich I., Götz F., Rohed W., Dörner G. (1992). Obesity and enhanced diabetes and cardiovascular risk in adult rats due to early postnatal overfeeding.

Exp. Clin. Endocrinol. 99 : 154 - 158.

Plagemann A., Harder T., Kohlhoff R., Rohed W., Dörner G. (1997). Overweight and obesity in infants of mothers with long-term insulin-dependent diabetes or gestational diabetes.

Int. J. Obes. 21 : 451 - 456.

Palkovits M. (1973). Isolated removal of hypothalamic or other brain nuclei of the rat.

Brain Res. 59 : 449 - 450.

Pozzo Miller L. D., Aoki A. (1992). Postnatal development of the hypothalamic ventromedial nucleus : neurons and synapses.

Cell. Mol. Neurobiol. 12 : 121 - 129.

Ramussen K. M. (1992). The influence of maternal nutrition on lactation

Ann. Rev. Nutr. 12 : 103 - 117.

Ravelli G.P., A. A. Stein, M. Susser (1976). Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy.

N. Engl. J. Med. 295 : 249 - 253.

Resinck O., Morgane P. J. (1984). Generational effects of protein malnutrition in the rats.

Dev. Brain Res. 15 : 219 - 227.

Reymond M.J., Donda A., Lemarchand-BéraudT. (1989). Neuroendocrine aspects of aging: experimental data.

Horm. Res. 31: 32 - 38.

Roberts S.B., Coward W. A. (1985). Dietary supplementation increases milk output in the rat.

Br. J. Nutr. 53 : 1 - 9.

Rolland-Cachera M.F., Sempe M., Guilloud-Bataille M., Patois E., Pequignot-Guggenbuhl F., Fautrad V. (1982). Adiposity indices in children.

Am. J. Clin. Nutr. 36 : 178 - 184.,

Rolls B. J., Rowe E. A., Fahrbach S. E., Agius L., Williamson D. H. (1980). Obesity and high energy diets reduce survival and growth rates of rat pups.

Proc. Nutr. Soc. 39 : 51A.

Rolls B. J., Hammer V. A. (1995). Fat, Carbohydrate, and the regulation of energy intake.

Am. J. Clin. Nutr. 62 : 1086S - 1095S

Rolls B. J. (1995b). Carbohydrates, fats, and satiety.

Am. J. Clin. Nutr. 61 : 960S - 967S

Ryan M. C., Loiacono R. E., Gundlach A. L. (1997). Galanin messenger RNA during postnatal development of the rat brain : expression patterns in Purkinje cells differentiale anterior and posterior lobes of cerebellum.

Neuroscience 78 : 1113 - 1127

Sahu A., Kalra P.S., Kalra S.P. (1988a). Food deprivation and ingestion induce reciprocal changes in neuropeptide Y concentrations in the paraventricular nucleus.

Peptides 9 : 83 - 86.

Sahu A., Kalra S.P., Crowley W.R., Kalra P.S. (1988b). Evidence that NPY-containing neurons in the brainstem project into selected hypothalamic nuclei : implication in feeding behavior.

Brain Res. 457 : 376 - 378.

Sahu A., Dube M.G., Kalra S.P., Kalra P.S. (1989). Bilateral transections at the level of mesencephalon increase food intake and reduce latency to onset of feeding in response to neuropeptide Y.

Peptides 9 : 1269.

Sato N., Shimizu H., Shimomura Y., Uehara Y., Takahashi M., Negishi M. (1991). Sucrose feeding at weaning alters the preference for sucrose in adolescence.

Exp. Clin . Endocrinol. 98 : 210 - 206.

Sawchenko P.E., Swanson L.W., Grzanna R., Howe P.R.C., Bloom S.R., Polak J.M. (1985). Colocalization of neuropeptide Y immunoreactivity catecholaminergic neurons that project to the paraventricular nucleus of the hypothalamus.

J. Comp. Neurol. 241 : 138 - 153.

Schwartz M. W., Markes J.L., Sipols A.J., Baskin D.G., Woods S. C., Kahn S. E., Porte D. (1991). Central insulin administration reduces neuropeptide Y mRNA expression in (fa/fa) Zucker rats.

Endocrinology 128 : 2645 - 2647.

Schwartz M. W., Figlewicz D. P., Baskin D. G., Woods S. C., Porte D.Jr. (1992a). Insulin in the brain : a hormonal regulator of energy balance.

Endocr. Rev. 13 : 387 - 414.

Schwartz M.W., Sipols A.J., Marks J.L., Sanacora G., White J.D., Scheurink A., Kahn S.E., Baskin D.G., Woods S.C., Figlewicz D.P., Porte D. (1992b). Inhibition of hypothalamic neuropeptide-Y gene expression by insulin.

Endocrinology 130 : 3608 - 3616.

Schwartz M.W., Figlewicz D.P., Woods S.C., Porte D., Baskin D.G.(1993). Insulin, neuropeptide-Y, and food intake.

In : Role of Insulin - Like Growth Factors in the Nervous. Raizada M.K.,Leroith D. (eds) Ann. NY York Acad Sci. 692 : 60 - 71.

Schwartz M.W., Seeley R.J., Campfield L.A., Burn P., Baskin D.G. (1996). Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus.

J. Clin. Inves. 98 : 1101 - 1106.

Sclafani A. et Kramer T. H. (1983). Dietary selection in vagotomized rats.

J. Auton. Nerv. Syst. 9 : 247 - 258.

Sclafani A. (1987). Carbohydrate taste, appetite, and obesity : an overview.

Neurosci. Biobehav. Rev. 11 : 131 - 153.

Shiosaka S., Takasuki K., Sakanaka M., Inagaki S., Takagi H., Senba E., Kawai Y., Tohyama M. (1981). Ontogeny of somatostatin containing neuron system of the rat : immunohistochemical observations.

J. Comp. Neurol. 203 : 173 - 188.

Shimazu T. (1981). Central nervous system regulation of liver and adipose tissue metabolism.

Diabetologia 20 : 343 - 356.

Simpkins J.W. (1984). Regional changes in monamine metabolism in the aging constant oestrous rat.

Neurobiol. Aging 5 : 309 - 313.

Singh B. S., Westfall C., Devaskar S. U. (1997). Maternal diabetes-induced hyperglycemia and acute intracerebral hyperinsulism suppress fetal brain neuropeptide Y concentrations.

Endocrinology 138 : 963 - 969.

Sizer A. R., Kaeus R., Foster G. A. (1990). Analysis of the ontogeny of galanin in the rat central nervous system by immunoassay

Int. J. Dev. Neurosci. 8 : 81 -97

Smith G. P., Epstein A.N. (1969). Increased feeding in response to decreased glucose utilization in the rat and monkey.

Am. J. Physiol. 217 : 1083 - 1087.

Sokoloff L., Reivich M., Kennedy C., Desrosiers M. H., Patlak C. S., Pettigrew O., Sakaruda O., Shinohara M. (1977). The (C_{14}) deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization : theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat.

J. Neurochem. 23 : 897 - 916.

Sperling M.A., Gongul S. (1983). Prenatal and postnatal development of insulin and glucagon receptors: potential role in energy storage and utilization.

J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., Suppl 12: S46 - S51.

Stanley B.G., Leibowitz S.F. (1984). Neuropeptide Y : Stimulation of feeding and drinking by injection into the paraventricular nucleus.

Life Sci 35 : 2635 - 2642.

Stanley B.G., Leibowitz S.F. (1985). Neuropeptide Y injected in the paraventricular hypothalamus : a powerful stimulant of feeding behavior.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82 : 3940 - 3943.

Stanley B.G., Thomas W.J. (1993). Feeding responses to perifornical hypothalamic injection of neuropeptide-Y in relation to circadian rhythms of eating behavior.

Peptides 14 : 475 - 481.

Storlien L. H., Baur L. A., Kriketos A. D., Pan D. A., Cooney G. J., Jenkins A. B., Calvert G. D., Campbell L. V. (1996). Dietary fats and insulin action

Diabetologia 39 : 621 - 631

Strasser T. (1972). Athérosclérose et maladie coronaire. Apport de l'épidémiologie à la connaissance de ces affections.

Chronique de l' OMS 26 : 7 - 12.

Stricker-Krongrad A., Beck B., Burlet A., Nicolas J. P., Burlet C. (1992). Hypothalamic neuropeptide Y and individual food preference in rats: a direct relationship.

Appetite 19 : 219.

Stricker-Krongrad A. (1993). Recherche sur les fonctions orexigènes du neuropeptide Y cérébral.
Thèse de l'Université Henri Poincaré, Nancy.

Stricker-Krongrad A., J. P. Max, N. Musse, Nicolas J. P., Burlet C., Beck B. (1994a). Increased thereshold concentrations of neuropeptide Y for stimulatory effect on food intake in obese Zucker rats changes in the microstructure of the feeding behavior.

Brain Res. 660 : 162 - 166.

Stricker-Krongrad A., Beck B., Burlet C.(1995). Enhanced feeding to neuropeptide Y in hypothalamic neuropeptide-depleted rats.

Eur. J. Pharmacol 295 : 27 - 34

Stricker-Krongrad A., Beck B., Burlet A., Nicolas J.P., Burlet C. (1994b). Dietary preference for carbohydrate or fat is related to neuropeptide Y variations in a specific hypothalamic network.

Int. J. Obes. 18 (suppl. 2), 102

Stricker-Krongrad A., Kozak R. , Burlet C., Nicolas J. P., Beck B. (1997). Physiological regulation of hypothalamic neuropeptide Y release in lean and obese rats.

Am. J. Physiol. 273 : R2112 - R2116.

Tatemoto K. (1982a). Neuropeptide Y. Complete amino acid sequence of the brain peptide.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79 : 5485 - 5489.

Tatemoto K., Carlquist M., Mutt V. (1982b). Neuropeptide Y. A novel brain peptide with structural similarities for peptide YY and pancreatic polypeptide.

Nature 296 : 659 - 660.

Tempel D. L., Leibowitz K. J., Leibowitz S. F. (1988). Effects of PVN galanin on macronutrient selection.

Peptides 9 : 309 - 314.

Tong Y.A., Dumont Y., Shen S.H., Quirion R. (1997). Comparative developmental profile of the neuropeptide Y Y-1 receptor gene and protein in the rat brain.

Mol. Brain Res. 48 : 323 - 332.

Tsujii S., Bray G.A. (1990). Effects of glucose, 2-deoxyglucose, phlorizin, and insulin on food intake of lean and fatty rats.

Am. J. Physiol. 258 : E476 - E 480.

Vadlamudi S., Hiremagalur B.K., Tao L., Kalhan S.C., Kalaria R.J., Kaung H.L.C., Patel M.S.(1993). Long-term effects on pancreatic function of feeding a HC formula to rats during the preweaning period.

Am. J. Physiol. 265 : E565 - E571.

Vadlamudi S., Kalhan S.C., Patel M.S.(1995). Persistence of metabolic consequences in the progeny of rats fed a HC formula in their early postnatal life.

Am. J. Physiol. 32 : E731 - E738.

Vincent S.R., Johansson O., Hökfelt T., Meyerson B., Sachs C.H., Elde R.P., Terenius L., Kimmel J. (1982). Neuropeptide coexistence in human cortical neurons.

Nature 298 : 65 - 67.

Walter S.D. (1980). Prevention for multifactorial diseases.

Am. J. Epidemiol. 112 : 409 - 416.

Warwick Z.S., Schiffman S.S., Anderson J.J.B. (1990). Relationship of dietary fat content to food preference in young rats.

Physiol. Behav. 48 : 581 - 586.

Weinberg D. H., Sirinathsinghji D. J. S., Tan C. P., Shiao L. L., Morin N., Rapoport D. R., Bayne M.L., Cascieri M. A., Strader C. D., Linemeyer D. L. MacNeil D. J. (1996). Cloning and expression of a novel neuropeptide Y receptor.

J. Biol. Chem. 271: 16435 - 16438.

Whishaw I.Q., Cioe J.D.D., Previsich N., Kolb B. (1977). The variability of the interaural line vs the stability of bregma in rat stereotaxic surgery.

Physiol. Behav. 19 : 719 - 722.

White J.D. (1993). Neuropeptide Y: a central regulator of energy homeostasis.

Regul. Pept. 49 : 93 - 107.

Williams G., Gill J.S., Lee Y.C., Cardoso H.M., Okpere B.E., Bloom S.R. (1989). Increased neuropeptide Y in specific hypothalamic nuclei of the streptozotocin-diabetic rat.

Diabetes 38 : 321 - 327.

Williamson D.H. (1980). Integration of metabolism in tissues of the lactating rat.

FEBS Lett. 117 : K93 - K105.

Williamson D.H., Munday M. R., Jones R. G., Roberts A.E.C., Ramsey A. (1983). Short-term dietary regulation of lipogenesis in the lactating mammary gland of the rat.

Adv. Enzyme Regul. 21 : 135 - 145.

Wilson J.F. (1197). Effects of pregnancy, sucrose, and various low protein diet on eating behavior of rats.

Physiol. Behav. 62 : 779 - 782

Woodhams P.L., Allen Y.S., McGovern J ., Allen J.M., Bloom S.R., Balazs R., Polak J.M. (1985). Immunohistochemical analysis of the early ontogeny of the neuropeptide Y system in rat brain.

Neuroscience 15 : 173 - 202.

Woods S.C., Lotter E.C., Mc Kay D., Porte D. (1979). Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight in baboons.

Nature 282 : 503 - 505.

Woods S.C., Figlewicz D.P., Schwartz M.W., Porte D. (1990). A reassessment of the regulation of adiposity and appetite by the brain insulin system.

Int. J. Obes. 14 (suppl 3) : 69 - 76.

Wainwright P. E., Bulman-Fleming M. B., Lévesque S., Mutsaers L. (1998). A saturated- fat diet during development alters dentritic growth in mouse brain.

Nutr. Neurosci. 1 : 49 - 58.

Xu B., Sahu A., Crowley W.R., Leranth C., Horvath T., Kalra S.P. (1993). Role of neuropeptide Y in episodic luteinizing hormone release in ovariectomized rats : An excitatory component and opioid involvement.

Endocrinology 133 : 747 - 754.

Zoli M. L., Agnati F., Fuxe K. (1988). Morphometrical and microdensitometrical studies on phenylethanolamine-N-methyltransferase and neuropeptide Y-immunoreactive nerve terminals and glucocorticoid receptor-immunoreactive nerve cell nuclei in the paraventricular hypothalamic nucleus in adult and old male rats.

Neuroscience 26 : 479 - 492.

université HENRI POINCARÉ NANCY 1

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1 SCIENCES BIBLIOTHÈQUE

Mademoiselle **KOZAK Rouba**

DOCTORAT de l'UNIVERSITE HENRI POINCARE, NANCY-I

en NEUROSCIENCES & COMPORTEMENT

VU, APPROUVÉ ET PERMIS D'IMPRIMER

Nancy, le 31 mai 1999 n° 205

Le Président de l'Université

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1 LE PRÉSIDENT

Cl. BURLET

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ · NANCY 1
24-30, rue Lionnois B.P. 3069 54013 Nancy cedex - Tél. 83 85 48 00 - Fax 83 85 48 48

Adresse électronique : _____ @presn1.u-nancy.fr

Résumé

Des rats issus de mères soumises à deux régimes déséquilibrés riches en glucides ou en lipides pendant l gestation et l'allaitement ont été comparés aux descendants de mères ayant ingéré un régime équilibré. Le petits des mères nourries avec un régime hyperlipidique (HF) montrent un déficit pondéral persistant pa rapport aux petits issus de mères nourries avec un régime équilibré ou hyperglucidique (HC). Le groupe HF montre une sensibilité plus élevée à l'injection centrale de NPY, tandis que celle du groupe HC est plus faible L'étude dynamique de la libération de NPY par la technique de "push-pull" intracérébrale montre que, suite à l'administration de 2-Deoxy-Glucose, seul le groupe HC réagit par une augmentation de libération de NPY Par contre, l'injection de mercaptoacétate n'affecte pas ce groupe alors que le groupe HF montre une augmentation de la libération de NPY. Ce travail démontre l'importance du régime alimentaire durant la gestation et l'allaitement sur le développement des systèmes centraux regulant le comportement alimentaire .

Mots clés

Neuropeptide Y – Préférences alimentaires – Régimes hyperglucidiques et hyperlipidiques – Obésité – «Push-pull » - Hypothalamus – Gestation