



HAL
open science

Le profil protéomique du plasma des patients souffrant d'anorexie mentale, pronostique de l'évolution clinique

Yoann Stoebner

► To cite this version:

Yoann Stoebner. Le profil protéomique du plasma des patients souffrant d'anorexie mentale, pronostique de l'évolution clinique. Médecine humaine et pathologie. 2020. dumas-03036556

HAL Id: dumas-03036556

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03036556>

Submitted on 2 Dec 2020

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - ShareAlike 4.0 International License

UNIVERSITE DE MONTPELLIER
FACULTE DE MEDECINE MONTPELLIER-NIMES

THESE

Pour obtenir le titre de
DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement

Par

Yoann STOEBNER

Le 07/10/2020

**Le profil protéomique du plasma des patients souffrant d'anorexie
mentale, pronostique de l'évolution clinique**

Directeur de thèse : Pr GUILLAUME Sébastien

JURY

Président : Pr COURTET Philippe

Assesseurs :

- Pr GUILLAUME Sébastien
- Pr CAPDEVIELLE Delphine
- Dr LEMAIRE Prunelle
- Dr MARIN Philippe

UNIVERSITE DE MONTPELLIER
FACULTE DE MEDECINE MONTPELLIER-NIMES

THESE

Pour obtenir le titre de
DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement

Par

Yoann STOEBNER

Le 07/10/2020

**Le profil protéomique du plasma des patients souffrant d'anorexie
mentale, pronostique de l'évolution clinique**

Directeur de thèse : Pr GUILLAUME Sébastien

JURY

Président : Pr COURTET Philippe

Assesseurs :

- Pr GUILLAUME Sébastien
- Pr CAPDEVIELLE Delphine
- Dr LEMAIRE Prunelle
- Dr MARIN Philippe

**ANNEE
UNIVERSITAIRE
2019 - 2020
PERSONNEL
ENSEIGNANT**

**Professeurs
Honoraires**

ALLIEU Yves	CALLIS Albert	JAFFIOL Claude	NAVRATIL Henri
ALRIC Robert	CANAUD Bernard	JANBON Charles	OTHONIEL Jacques
ARNAUD Bernard	CHAPTAL Paul- André	JANBON François	PAGES Michel
ASTRUC Jacques	CIURANA Albert- Jean	JARRY Daniel	PEGURET Claude
AUSSILLOUX Charles	CLOT Jacques	JOURDAN Jacques	PELISSIER Jacques
AVEROUS Michel	COSTA Pierre	LAFFARGUE François	POUGET Régis
AYRAL Guy	D'ATHIS Françoise	LALLEMANT Jean Gabriel	PUJOL Henri
BAILLAT Xavier	DEMAILLE Jacques	LAMARQUE Jean- Louis	RABISCHONG Pierre
BALDET Pierre	DESCOMPS Bernard	LAPEYRIE Henri	RAMUZ Michel
BALDY- MOULINIER Michel	DIMEGLIO Alain	LE QUELLEC Alain	RIEU Daniel
BALMES Jean- Louis	DUBOIS Jean Bernard	LESBROS Daniel	ROCHEFORT Henri
BALMES Pierre	DUJOLS Pierre	LOPEZ François Michel	ROUANET DE VIGNE LAVIT Jean Pierre
BANSARD Nicole	DUMAS Robert	LORIOT Jean	SAINT AUBERT Bernard
BAYLET René	DUMAZER Romain	LOUBATIERES Marie Madeleine	SANCHO-GARNIER Hélène
BILLIARD Michel	ECHENNE Bernard	MAGNAN DE BORNIER Bernard	SANY Jacques
BLARD Jean-Marie	FABRE Serge	MARY Henri	SEGNARBIEUX François
BLAYAC Jean Pierre	FREREBEAU Philippe	MATHIEU-DAUDE Pierre	SENAC Jean-Paul
BLOTMAN Francis	GALIFER René Benoît	MEYNADIER Jean	SERRE Arlette
BONNEL François	GODLEWSKI Guilhem	MICHEL François- Bernard	SOLASSOL Claude
BOURGEOIS Jean- Marie	GRASSET Daniel	MION Charles	THEVENET André
BRUEL Jean Michel	GUILHOU Jean- Jacques	MION Henri	VIDAL Jacques
BUREAU Jean- Paul	HERTAULT Jean	MIRO Luis	VISIER Jean Pierre
BRUNEL Michel	HUMEAU Claude	NAVARRO Maurice	

Professeurs Emérites

ARTUS Jean-Claude	MARES Pierre
BLANC François	MAUDELONDE Thierry
BOULENGER Jean-Philippe	MAURY Michèle
BOURREL Gérard	MILLAT Bertrand
BRINGER Jacques	MONNIER Louis
CLAUSTRES Mireille	MOURAD Georges
DAURES Jean-Pierre	PREFAUT Christian
DAUZAT Michel	PUJOL Rémy
DAVY Jean-Marc	RIBSTEIN Jean
DEDET Jean-Pierre	SCHVED Jean-François
ELEDJAM Jean-Jacques	SULTAN Charles
GROLLEAU RAOUX Robe	TOUCHON Jacques
GUERRIER Bernard	UZIEL Alain
GUILLOT Bernard	VOISIN Michel
LANDAIS Paul	ZANCA Michel

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

PU-PH de classe exceptionnelle

ALBAT Bernard	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
ALRIC Pierre	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option chirurgie vasculaire)
BACCINO Eric	Médecine légale et droit de la santé
BASTIEN Patrick	Parasitologie et mycologie
BLAIN Hubert	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
BONAFE Alain	Radiologie et imagerie médicale
CAPDEVILA Xavier	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
CHAMMAS Michel	Chirurgie orthopédique et traumatologique
COLSON Pascal	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
COMBE Bernard	Rhumatologie
COTTALORDA Jérôme	Chirurgie infantile
COUBES Philippe	Neurochirurgie
COURTET Philippe	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
CRAMPETTE Louis	Oto-rhino-laryngologie
CRISTOL Jean Paul	Biochimie et biologie moléculaire
DE LA COUSSAYE Jean Emmanuel	Médecine d'urgence
DE WAZIERES Benoît	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
DELAPORTE Eric	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
DEMOLY Pascal	Pneumologie ; addictologie
DOMERGUE Jacques	Chirurgie viscérale et digestive
DUFFAU Hugues	Neurochirurgie
ELIAOU Jean François	Immunologie
FABRE Jean Michel	Chirurgie viscérale et digestive

FRAPIER Jean-Marc	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
HAMAMAH Samir	Biologie et Médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
HEDON Bernard	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
HERISSON Christian	Médecine physique et de réadaptation
JABER Samir	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
JEANDEL Claude	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
JONQUET Olivier	Médecine intensive-réanimation
JORGENSEN Christian	Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie
KOTZKI Pierre Olivier	Biophysique et médecine nucléaire
LABAUGE Pierre	Neurologie
LARREY Dominique	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
LEFRANT Jean-Yves	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
LUMBROSO Serge	Biochimie et Biologie moléculaire
MARTY-ANE Charles	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
MERCIER Jacques	Physiologie
MESSNER Patrick	Cardiologie
MONDAIN Michel	Oto-rhino-laryngologie
MORIN Denis	Pédiatrie
PAGEAUX Georges-Philippe	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
PUJOL Pascal	Biologie cellulaire
QUERE Isabelle	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option médecine vasculaire)
RENARD Eric	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale
REYNES Jacques	Maladies infectieuses, maladies tropicales
RIPART Jacques	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
ROUANET Philippe	Cancérologie ; radiothérapie
SOTTO Albert	Maladies infectieuses ; maladies tropicales

TAOUREL Patrice	Radiologie et imagerie médicale
VANDE PERRE Philippe	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
YCHOU Marc	Cancérologie ; radiothérapie

PU-PH de 1^{re} classe

AGUILAR MARTINEZ Patricia	Hématologie ; transfusion
ASSENAT Éric	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
AVIGNON Antoine	Nutrition
AZRIA David	Cancérologie ; radiothérapie
BAGHDADLI Amaria	Pédopsychiatrie ; addictologie
BEREGI Jean-Paul	Radiologie et imagerie médicale
BLANC Pierre	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
BORIE Frédéric	Chirurgie viscérale et digestive
BOULOT Pierre	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
CAMBONIE Gilles	Pédiatrie
CAMU William	Neurologie
CANOVAS François	Anatomie
CAPTIER Guillaume	Anatomie
CARTRON Guillaume	Hématologie ; transfusion
CAYLA Guillaume	Cardiologie
CHANQUES Gérald	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
CORBEAU Pierre	Immunologie
COSTES Valérie	Anatomie et cytologie pathologiques
COULET Bertrand	Chirurgie orthopédique et traumatologique
CYTEVAL Catherine	Radiologie et imagerie médicale
DADURE Christophe	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
DAUVILLIERS Yves	Physiologie

DE TAYRAC Renaud	Gynécologie-obstétrique, gynécologie médicale
DE VOS John	Histologie, embryologie et cytogénétique
DEMARIA Roland DEREURE Olivier	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire Dermatologie - vénéréologie
DROUPY Stéphane	Urologie
DUCROS Anne	Neurologie
DUPEYRON Arnaud	Médecine physique et de réadaptation
FESLER Pierre	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillessement, médecine générale, addictologie
GARREL Renaud	Oto-rhino-laryngologie
GENEVIEVE David	Génétique
HAYOT Maurice	Physiologie
KLOUCHE Kada	Médecine intensive-réanimation
KOENIG Michel	Génétique
LAFFONT Isabelle	Médecine physique et de réadaptation
LAVABRE-BERTRAND Thierry	Histologie, embryologie et cytogénétique
LAVIGNE Jean-Philippe	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
LE MOING Vincent	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
LECLERCQ Florence	Cardiologie
LEHMANN Sylvain	Biochimie et biologie moléculaire
MARIANO-GOULART Denis	Biophysique et médecine nucléaire
MATECKI Stéfan	Physiologie
MEUNIER Laurent	Dermato-vénéréologie
MOREL Jacques	Rhumatologie
NAVARRO Francis	Chirurgie viscérale et digestive
NOCCA David	Chirurgie viscérale et digestive
PETIT Pierre	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie

PERNEY Pascal	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
PRUDHOMME Michel	Anatomie
PUJOL Jean Louis	Pneumologie ; addictologie
PURPER-OUAKIL Diane TOUITOU Isabelle	Pédopsychiatrie ; addictologie Génétique
TRAN Tu-Anh	Pédiatrie
VERNHET Hélène	Radiologie et imagerie médicale

PU-PH de 2ème classe

BOURDIN Arnaud	Pneumologie ; addictologie
CANAUD Ludovic	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option chirurgie vasculaire)
CAPDEVIELLE Delphine	Psychiatrie d'Adultes ; addictologie
CLARET Pierre-Géraud	Médecine d'urgence
COLOMBO Pierre-Emmanuel	Cancérologie ; radiothérapie
COSTALAT Vincent	Radiologie et imagerie médicale
CUVILLON Philippe	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
DAIEN Vincent	Ophtalmologie
DORANDEU Anne	Médecine légale et droit de la santé
FAILLIE Jean-Luc	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
FUCHS Florent	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
GABELLE DELOUSTAL Audrey	Neurologie
GAUJOUX Viala Cécile	Rhumatologie
GODREUIL Sylvain	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
GUILLAUME Sébastien	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
GUILPAIN Philippe	Médecine Interne, gériatrie et biologie du vieillissement; addictologie
GUIU Boris	Radiologie et imagerie médicale

HERLIN Christian	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique, brulologie
HOUEDE Nadine	Cancérologie ; radiothérapie
JACOT William	Cancérologie ; Radiothérapie
JUNG Boris	Médecine intensive-réanimation
KALFA Nicolas KOUYOUMDJIAN Pascal	Chirurgie infantile Chirurgie orthopédique et traumatologique
LACHAUD Laurence	Parasitologie et mycologie
LALLEMANT Benjamin	Oto-rhino-laryngologie
LE QUINTREC DONNETTE Moglie	Néphrologie
LETOUZEY Vincent	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
LONJON Nicolas	Neurochirurgie
LOPEZ CASTROMAN Jorge	Psychiatrie d'Adultes ; addictologie
LUKAS Cédric	Rhumatologie
MAURY Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
MILLET Ingrid	Radiologie et imagerie médicale
MORANNE Olivier	Néphrologie
MURA Thibault	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de la communication
NAGOT Nicolas	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de la communication
PANARO Fabrizio	Chirurgie viscérale et digestive
PARIS Françoise	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
PASQUIE Jean-Luc	Cardiologie
PELLESTOR Franck	Histologie, embryologie et cytogénétique
PEREZ MARTIN Antonia	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option médecine vasculaire)

POUDEROUX Philippe		Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
RIGAU Valérie		Anatomie et cytologie pathologiques
RIVIER François		Pédiatrie
ROGER Pascal		Anatomie et cytologie pathologiques
ROSSI Jean François		Hématologie ; transfusion
ROUBILLE François		Cardiologie
SEBBANE Mustapha		Médecine d'urgence
SIRVENT Nicolas		Pédiatrie
SOLASSOL Jérôme		Biologie cellulaire
STOEBNER Pierre	Dermato-vénérologie	
SULTAN Ariane	Nutrition	
THOUVENOT Éric	Neurologie	
THURET Rodolphe	Urologie	
VENAIL Frédéric	Oto-rhino-laryngologie	
VILLAIN Max	Ophthalmologie	
VINCENT Denis	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie	
VINCENT Thierry	Immunologie	
WOJTUSCISZYN Anne	Endocrinologie-diabétologie-nutrition	

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

1^{re} classe :

COLINGE Jacques (Cancérologie, Signalisation cellulaire et systèmes complexes)

2^{ème} classe :

LAOUDJ CHENIVESSE Dalila (Biochimie et biologie moléculaire)

VISIER Laurent (Sociologie, démographie)

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES - Médecine
générale**

1re classe :

LAMBERT Philippe

2ème classe :

AMOUYAL Michel

**PROFESSEURS ASSOCIES -
Médecine Générale**

CLARY Bernard

DAVID Michel

GARCIA Marc

PROFESSEURS ASSOCIES - Médecine

BESSIS Didier (Dermato-
vénérologie)

MEUNIER Isabelle
(Ophtalmologie)

MULLER Laurent (Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-
opératoire)

PERRIGAULT Pierre-François (Anesthésiologie-réanimation et
médecine péri-opératoire)

QUANTIN Xavier
(Pneumologie)

ROUBERTIE Agathe
(Pédiatrie)

VIEL Eric (Soins palliatifs et traitement de la douleur)

**Maîtres de Conférences des Universités -
Praticiens Hospitaliers**

MCU-PH Hors classe

BADIOU Stéphanie Biochimie et biologie moléculaire

BOULLE Nathalie Biologie cellulaire

CACHEUX-RATABOUL Valère Génétique

CARRIERE Christian	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
CHARACHON Sylvie	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
FABBRO-PERAY Pascale	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
GIANSILY-BLAIZOT Muriel	Hématologie ; transfusion
HILLAIRE-BUYS Dominique	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
PUJOL Joseph	Anatomie
RICHARD Bruno	Médecine palliative
RISPAIL Philippe	Parasitologie et mycologie
SEGONDY Michel	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière

MCU-PH de 1^{re} classe

BERTRAND Martin	Anatomie
BOUDOUSQ Vincent	Biophysique et médecine nucléaire
BOURGIER Céline	Cancérologie ; Radiothérapie
BRET Caroline	Hématologie biologique
COSSEE Mireille	Génétique
GIRARDET-BESSIS Anne	Biochimie et biologie moléculaire
LAVIGNE Géraldine	Hématologie ; transfusion
LESAGE François-Xavier	Médecine et Santé au Travail
MATHIEU Olivier	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
MENJOT de CHAMPFLEUR Nicolas	Radiologie et imagerie médicale
MOUZAT Kévin	Biochimie et biologie moléculaire
OLIE Emilie	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
PANABIERES Catherine	Biologie cellulaire
PHILIBERT Pascal	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
RAVEL Christophe	Parasitologie et mycologie

SCHUSTER-BECK Iris	Physiologie
STERKERS Yvon	Parasitologie et mycologie
THEVENIN-RENE Céline	Immunologie
TUAILLON Edouard	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière

MCU-PH de 2^{ème} classe

CHIRIAC Anca	Immunologie
DE JONG Audrey	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
DU THANH Aurélie	Dermato-vénérologie
GOUZI Farès	Physiologie
HERRERO Astrid	Chirurgie viscérale et digestive
JEZIORSKI Éric	Pédiatrie
KUSTER Nils	Biochimie et biologie moléculaire
MAKINSON Alain	Maladies infectieuses, Maladies tropicales
PANTEL Alix	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
PERS Yves-Marie	Thérapeutique; addictologie
ROUBILLE Camille	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
SZABLEWSKY	Anatomie et cytologie pathologiques

MCU-MG de 1^{re} classe

COSTA David

MCU-MG de 2^{ème} classe

FOLCO-LOGNOS
Béatrice

OUDE ENGBERINK
Agnès

LOPEZ Antonio

MILLION Elodie

PAVAGEAU Sylvain

REBOUL Marie-
Catherine

SERAYET Philippe

Praticiens Hospitaliers Universitaires

BARATEAU Lucie

Physiologie

BASTIDE Sophie

Epidémiologie, économie de la santé et prévention

DAIEN Claire

Rhumatologie

GATINOIS Vincent

Histologie, embryologie et cytogénétique

GOULABCHAND Radjiv

Médecine interne ; gériatrie et biologie du
vieillessement ; addictologie

LATTUCA Benoit

Cardiologie

MIOT Stéphanie

Médecine interne ; gériatrie et biologie du
vieillessement ; addictologie

PINETON DE CHAMBRUN
Guillaume

Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie

SOUICHE François-Régis

Chirurgie viscérale et digestive

Table des matières

A. Revue de la littérature	16
1. L'anorexie mentale.....	16
1.1. Introduction à la maladie	16
1.2. Critères diagnostiques.....	17
1.3. Épidémiologie	18
1.3.1. Prévalence	18
1.3.2. Incidence	19
1.4. Évolution, pronostic	19
1.5. Anomalies biologiques.....	21
1.5.1. Hormones de la faim	21
1.5.2. Stress oxydatif.....	22
1.5.3. Protéines de l'inflammation	23
1.5.4. Axe hypothalamo-hypophysaire	24
1.5.5. Orexines	25
1.5.1. Peptide YY	25
1.6. Complications organiques	27
1.7. Prise en charge	28
1.7.1. Outils thérapeutiques	28
2. Les études et techniques « omiques ».....	31
2.1. Les omiques dans l'anorexie mentale	32
2.2. La protéomique sur modèles animaux d'anorexie mentale	33
2.2.1. Chez la souris.....	33
2.2.2. Chez les non-mammifères.....	34
2.3. La protéomique : un brin d'histoire	35
2.4. La technique.....	36
2.4.1. Identification des protéines.....	36
2.4.2. Semi-quantification des protéines	39
2.4.3. La recherche de biomarqueurs.....	40
B. Projet scientifique	44
1. Rationnel scientifique, objectifs.....	44

2. Importance, originalité du projet.....	44
3. Description du projet.....	45
3.1. Population	45
3.2. Formation des groupes.....	46
3.3. Procédures expérimentales.....	47
3.4. Objectifs	48
3.5. Analyses statistiques.....	48
4. Résultats.....	49
4.1. Contrôle des procédures expérimentales.....	49
4.1.1. Conclusion des contrôles	52
4.2. Caractéristiques de la population	52
4.3. Objectif principal : facteur(s) pronostique(s).....	54
4.3.1. Protéine IGFBP4	56
4.3.2. Facteur de coagulation XII.....	57
4.3.3. Tsukushin.....	58
4.3.4. Haptoglobuline	59
4.3.5. Immunoglobuline Kappa variable 4-1	60
4.3.6. Ostéomoduline	61
4.3.7. Apolipoprotéine C-II.....	63
4.3.8. Autres.....	64
5. Discussion.....	64
5.1. Interprétation des résultats.....	64
5.2. Forces et faiblesses.....	68
5.3. Perspectives.....	70
C. Bibliographie	73
D. Annexes.....	82
<i>SERMENT</i>	84

A. Revue de la littérature

1. L'anorexie mentale

1.1. Introduction à la maladie

L'anorexie mentale est un trouble qui touche majoritairement les femmes dès le début de l'adolescence (1).

Les patients souffrant d'anorexie mentale présentent en premier lieu des cognitions très particulières. Ils expriment pour la plupart une peur intense et excessive de prendre du poids, associée à des traits de perfectionnisme et une faible estime de soi (2). S'y inscrit la dysmorphophobie, ou la perception altérée de l'image du corps accompagnée de pensées obsédantes et excessives sur certaines parties jugées négativement (le ventre, les hanches ou les cuisses par exemple). Ces ruminations envahissent tout le champ cognitif puis les comportements s'axent progressivement autour. On observe par exemple des pesées de plus en plus fréquentes, une sélection alimentaire associée à un calcul des calories ingérées, de la culpabilité après les repas... Trouble égosyntonique par excellence (en accord avec les principes de la personne), les patients souffrant d'anorexie sont classiquement anosognosiques, au moins au début de la pathologie.

La principale conséquence de ces troubles est un profond amaigrissement. Il est central tant sur le plan du diagnostic, des complications, du pronostic et des objectifs de prise en charge. Le poids n'est pas évalué directement, mais par l'Indice de Masse Corporelle, défini par le rapport du poids (en kilogrammes) sur la taille au carré (en centimètres). Chez les plus jeunes, cet indice est rapporté sur les normes par rapport à l'âge et les courbes de croissance. Tout autant que cette valeur ponctuelle il est primordial de considérer la cinétique de la perte de poids, qui permet d'apprécier la gravité des troubles.

Comme évoqué plus haut, le comportement alimentaire est modifié. Il l'est sur le plan quantitatif (restriction alimentaire, jeûne, baisse des portions...) comme sur le plan qualitatif (sélection alimentaire, éviction d'aliments jugés mauvais...). Le repas est un moment anxiogène et de fait contrôlé et ritualisé à l'excès (découpage des aliments, lenteur à l'ingestion, mâchage excessif...).

En plus des comportements liés à une baisse de la prise d'aliments, les patients développent des stratégies soit pour dépenser les calories ingérées

(hyperinvestissement physique et intellectuel, exposition au froid, utilisation de stimulants), soit pour en diminuer l'absorption (mâcher, cracher, vomir, prise de laxatifs et diurétiques). Dans l'objectif de limiter l'apparition de la sensation de faim, ils peuvent avoir recours à des médicaments anorexigènes ou présenter une potomanie.

Sur le plan physique, la dénutrition et les carences conduisent à une perturbation des fonctions physiologiques et endocriniennes. Chez les femmes, il pouvait être observé une aménorrhée primaire ou secondaire (signe récemment enlevé des critères diagnostiques). Suivant la durée et la profondeur de la dénutrition, d'autres signes peuvent être observés chez les patients : une hypothermie, une bradycardie, une frilosité, un amaigrissement ou une chute des poils, une ostéoporose, des troubles digestifs voire des troubles cognitifs. Des conséquences des comportements adoptés par les patients souffrant d'anorexie peuvent apparaître, comme des troubles ioniques voire du rythme cardiaque (vomissements, laxatifs, diurétiques), un œdème cérébral (potomanie), des complications ostéoarticulaires (hyperactivité physique)...

1.2. Critères diagnostiques

Les critères diagnostiques de l'anorexie mentale sont énoncés dans le *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder* (DSM) (3). Du fait de l'avancement des connaissances scientifiques sur les pathologies, elle est régulièrement mise à jour, faisant évoluer les diagnostics et leurs critères au cours du temps. Actuellement, le DSM en est à sa 5^e version (DSM-V), publié en 2013, traduit en juin 2015).

Comparativement à sa version précédente (le DSM-IV révisé), le DSM-V a fait évoluer les critères nécessaires au diagnostic d'anorexie mentale (4). Le poids doit maintenant être « significativement bas », et non strictement inférieur à 15 % du poids normal ou un IMC strictement inférieur à 17,5. Il n'est plus nécessaire que les patients verbalisent leur peur de grossir, ce que les adolescents disent peu ; il s'agit maintenant d'observer des comportements empêchant la prise en poids malgré la faible valeur de celui-ci. Enfin, il abandonne la notion d'aménorrhée, la littérature scientifique n'en ayant pas prouvé la pertinence (5,6) et permettant ainsi le diagnostic chez les hommes.

Il repose maintenant sur les éléments suivants :

A. Restriction des apports énergétiques par rapport aux besoins conduisant à un **poids significativement bas** compte tenu de l'âge, du sexe, du stade de développement et

de la santé physique. Est considéré comme significativement bas un poids inférieur à la norme minimale ou, pour les enfants et les adolescents, inférieur au poids minimal attendu.

B. Peur intense de prendre du poids ou de devenir gros, ou comportement persistant interférant avec la prise de poids, alors que le poids est significativement bas.

C. Altération de la perception du poids ou de la forme de son propre corps, influence excessive du poids ou de la forme corporelle sur **l'estime de soi**, ou **manque de reconnaissance persistant de la gravité de la maigreur actuelle**.

Le DSM-V précise deux formes. La première est dite « type restrictif », lorsque la perte de poids est exclusivement due au jeun et/ou à l'exercice physique. La seconde est dite « type accès hyperphagiques/purgatif » et concerne les patients avec accès de glotonnerie et/ou comportements purgatifs (laxatifs, diurétiques etc).

Une rémission complète est obtenue lorsqu'un poids normal est récupéré (critère A) associé à une disparition des cognitions anorexiques (critères B et C). Les patients sont en rémission partielle lorsqu'un poids normal est obtenu, mais les cognitions anorexiques persistent.

Une échelle de sévérité est décrite : elle va de légère lorsque l'IMC est supérieur à 17kg/m², à extrême lorsque l'ICM est inférieur à 15kg/m².

1.3. Épidémiologie

Ce trouble est en général sous-diagnostiqué, et rend de fait les études épidémiologiques imprécises, pour plusieurs raisons : l'anosognosie du trouble, dont la description par Lasègue en est le prototype (7) et est prédominante chez le sous-type restrictif (8), son caractère égосyntonique (9) et un manque de sensibilité des questionnaires traditionnels (10,11)

1.3.1. Prévalence

Tout trouble du comportement alimentaire (TCA) pris en compte, la prévalence vie entière, correspondant à la proportion de personnes qui présentera le trouble un jour dans sa vie, est d'environ 5 % (12).

Lorsque l'on se concentre sur l'anorexie mentale, la prévalence vie entière est estimée entre 0,3 et 0,8 % (13). Elle est de 0,5 à 1,6 % chez les femmes (13,14), et de 0,2 à 0,3 % chez les hommes (13,15). Le sex-ratio chez les adultes est de 1/8, au désavantage des femmes.

Chez les adolescents de 11 à 19 ans, la prévalence est de 1,7 % chez les filles et 0,1 % chez les garçons (16), avec un sex-ratio un peu moins déséquilibré, mais toujours au désavantage des femmes à 1/5 (17).

1.3.2. Incidence

Il s'agit du nombre de nouveaux cas dans une population donnée, sur un temps défini. Elle a augmenté jusque dans les années 90, puis s'est stabilisée à 5,4/100 000 personnes par an (18), probablement du fait d'outils diagnostics plus fiables et d'une sensibilisation des praticiens. Chez les patients de moins de 13 ans, elle est à 1,1/100 000 personne par an (17).

La faible demande d'aide des patients souffrant d'anorexie mentale impacte l'incidence de la maladie selon la population prise en compte : l'incidence est supérieure en communauté (lors d'un dépistage systématique par exemple) que chez les personnes demandeuses de soin (19).

L'anorexie mentale est une pathologie fréquente, qui touche principalement les jeunes femmes.

1.4. Évolution, pronostic

La maladie concerne principalement les filles, et débute en général dans l'enfance ou au cours de l'adolescence (1). Elle débute le plus souvent par une perte de poids, voulue ou imposée socialement comme dans le cadre d'une profession, suivie par une perte de contrôle et une restriction alimentaire de plus en plus sévère.

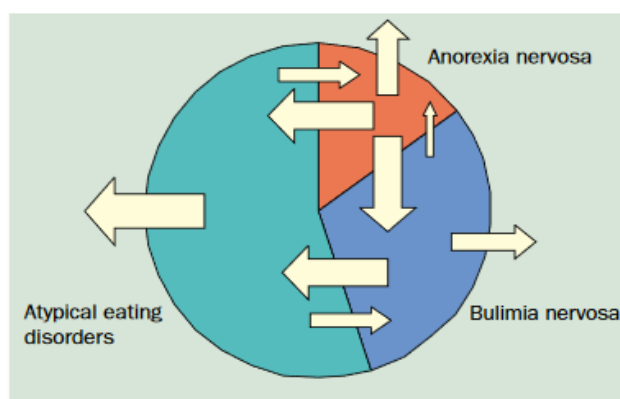


Figure 2: Schematic representation of temporal movement between the eating disorders
The size of the arrow indicates likelihood of movement in shown direction.
Arrows that point outside of the circle indicate recovery.

Figure 1, tirée de (21) : Switch diagnostique entre les différents TCA. Plus la flèche est épaisse, plus le passage d'une catégorie diagnostique à l'autre est fréquent.

Les patients qui souffrent d'un TCA évoluent facilement d'une catégorie diagnostique à l'autre (anorexie mentale, boulimie, hyperphagie boulimique, autre trouble de l'alimentation). Classiquement, les patients passent de l'anorexie mentale vers une boulimie ou « autre trouble de l'alimentation » (20) (Figure 1).

Des auteurs (21) ont comparé l'état nutritionnel et les caractéristiques démographiques de patientes souffrant d'anorexie mentale après 10 ans d'évolution. Dans cette étude, 88 % des patients ont récupéré un IMC normal, mais gardaient un IMC moyen inférieur à celui des contrôles (22 kg/m² vs 24 kg/m²). Les patientes étaient généralement encore dans les études (15 % vs 4 %), avaient moins d'enfants (50 % vs 66 %) et étaient moins mariées (68 % vs 78 %). On observe là que souffrir d'anorexie mentale impacte de multiples champs de la vie des patients, et ce même après rémission.

On observe une rémission complète pour 46,9 % des patients et une amélioration des symptômes pour 33,5 % des patients ; 20,8 % des patients présentent une évolution chronique de leur trouble (22). Néanmoins, une étude beaucoup plus récente (23) est plus optimiste : parmi les 51 patients souffrant d'anorexie et évalués à 30 ans, 64 % sont en rémission complète et 19 % souffrent encore d'un TCA. La durée moyenne de la maladie est de 1,9 an (24).

Souffrir d'anorexie mentale majore le risque de décès prématuré, le plus souvent dû aux complications de la maladie. Le taux de mortalité standardisée, ou taux de décès supplémentaire dans l'échantillon par rapport à la population générale, est de 5,2 chez les patients souffrant d'anorexie (25). Il varie en fonction de la durée d'évolution de la maladie : de 3,2 lorsque la maladie dure depuis moins de 15 ans il passe à 6,6 lorsque la maladie dure au-delà (26). Les patients ont 18,1 fois plus de risque de mourir par suicide par rapport à la population générale (25), ou décèdent des complications médicales de leur trouble.

Il s'agit d'une maladie sévère dont le taux de mortalité est le plus élevé de tous les troubles psychiatriques.

Il a été mis en évidence quelques facteurs influençant positivement ou négativement le pronostic de la pathologie (Tableau 2). Le principal marqueur pronostique est le **début de la prise en charge** (27,28) : plus celle-ci est initiée rapidement, plus le pronostic est bon. Il est aussi primordial de dépister la présence de **comorbidités psychiatriques** : si présentes, elles péjorent le pronostic.

D'autres éléments ont aussi été mis en évidence (Tableau 2), mais d'une moins bonne fiabilité.

Facteurs de bon pronostic	Facteurs de mauvais pronostic
Début de la maladie dans l'adolescence (entre 14 et 19 ans) (22,29)	Début de la maladie avant 14 ans (22)
Longue durée de la première hospitalisation (30)	Nécessité d'hospitalisation, ou hospitalisations répétées (28)
Bonnes compétences sociales avant la maladie (27)	Isolement social, attitude hostile envers les proches (29)
Avoir un ou une partenaire, ou de bonnes relations sociales (31)	Traits de personnalité obsessionnelle compulsive ou autistiques (32)
Maternité (30)	Sévérité des symptômes, vomissements, crises de boulimie (22,28)
	Comorbidités addictives (33)

Tableau 1 : Critères pronostiques cliniques

Nous n'avons à ce jour que peu de marqueurs pronostiques disponibles, et sont tous cliniques. Du fait de l'extrême gravité du trouble, une évaluation pronostique fine est primordiale, en complétant les éléments cliniques par des biomarqueurs.

1.5. Anomalies biologiques

De multiples systèmes biologiques sont perturbés chez les patients souffrant d'anorexie mentale. Les origines des anomalies observées peuvent être multiples : liées à l'anorexie mentale, à la dénutrition et à ses séquelles, ou les deux.

1.5.1. Hormones de la faim

La ghréline est une hormone principalement produite au niveau des cellules endocrines de l'estomac. Elle a une action centrale orexigène, bloque la sécrétion d'insuline et stimule la motilité gastrique (34).

Chez les patients souffrant d'anorexie mentale, la concentration en ghréline après le jeûne de la nuit est deux fois plus élevée que chez les contrôles, les patients en rémission d'anorexie mentale et les sujets constitutionnellement minces (35). Le rythme circadien de la ghréline est maintenu, mais les taux en ghréline sont plus élevés toute la

journee chez les patients souffrant d'anorexie mentale comparés aux sujets sains et aux sujets constitutionnellement minces (35). En revanche, ces sujets constitutionnellement minces ont des taux en ghréline différents des sujets sains (36). Les anomalies de concentration en ghréline paraissent se normaliser après renutrition (37).

Au total, la ghréline paraît être influencée par l'IMC et l'état nutritionnel du sujet, mais aussi jouer un rôle dans l'installation ou le maintien de l'anorexie mentale.

La leptine est une hormone anorexigène, impliquée dans la sensation de satiété. La concentration en leptine tout au long de la journée est plus faible chez les patients souffrant d'anorexie et les sujets minces, par rapport aux sujets sains ou en rémission (35,38,39). La concentration en leptine est directement corrélée à l'IMC. L'administration de leptine chez les rats supprime les comportements d'hyperactivité en situation de semi-famine (40); l'hypoleptinémie, bien qu'a priori secondaire à la dénutrition induite par l'anorexie mentale, pourrait jouer un rôle dans l'apparition ou le maintien de certains comportements tels que l'hyperactivité physique.

L'insuline est la seule hormone hypoglycémiant du corps, sécrétée par les îlots de Langerhans du pancréas. Les patients semblent avoir une plus grande sensibilité à l'insuline (41) et une association a été observée entre le diagnostic d'anorexie et les facteurs génétiques de sensibilité à l'insuline (42). La sensibilité à cette hormone pourrait être un marqueur trait de la maladie.

1.5.2. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre les facteurs pro-oxydatifs (tels que les dérivés réactifs de l'oxygène) et les facteurs antioxydants enzymatiques (superoxyde dismutase, catalase...) ou non (vitamine E). Les conséquences sont des dommages au niveau des protéines ou organites intracellulaires, pouvant mener à une apoptose ou à une nécrose cellulaire (43). Dès 1999 il a été mis en évidence une moindre activité de facteurs antioxydants tels que la superoxyde dismutase ou la vitamine E, induisant de fait un stress oxydatif majoré (44).

Les études s'intéressant au stress oxydatif sont limitées. Une méta-analyse de 2015 (45) a permis d'identifier plusieurs anomalies concernant chez les patients souffrant d'anorexie mentale. Sur le plan des agents pro-oxydants, il est mis en évidence chez les patients une plus grande concentration en apolipoprotéine B, une production plus importante de monoxyde d'azote, mais une étude observe une plus faible quantité de

Low Density Lipoprotein oxydé. Sur le plan des agents antioxydants, il est mis en évidence dans deux études une plus faible quantité de superoxyde dismutase, mais dans une étude une élévation des niveaux de catalase, un niveau de glutathion libre diminué, de glutathion oxydé augmenté et des taux de cystéine diminués. Enfin, sur le plan des minéraux et vitamines, les résultats sont inconstants. Dans l'ensemble, les patients ont une augmentation des agents oxydants et une diminution des agents antioxydants, en faveur d'un stress oxydatif majoré.

Le même auteur et son équipe ont réalisé une méta-analyse des mêmes facteurs après renutrition (46), néanmoins les études sont rares et les méthodologies inégales. Tous les marqueurs du stress oxydatif n'ont pas été étudiés. Dans cette méta-analyse, il est observé une diminution de l'apolipoprotéine B, et dans une seule étude une augmentation de l'activité de la catalase ainsi qu'une diminution de l'activité de la superoxyde dismutase.

À l'interprétation de ces données, on peut conclure que les patients souffrant d'anorexie mentale ont un stress oxydatif majoré, partiellement corrigé par la renutrition. Ces anomalies peuvent donc soit être des séquelles d'une dénutrition prolongée, soit être un facteur de risque de développer la maladie, sans que ces deux hypothèses soient mutuellement exclusives.

1.5.3. Protéines de l'inflammation

Il existe de nombreuses protéines et hormones impliquées dans l'inflammation. Il a été observé nombre d'anomalies dans la concentration de facteurs inflammatoires chez les patients souffrant de pathologies psychiatriques pouvant être comorbides de l'anorexie mentale comme la dépression (47) et la schizophrénie (48). Les concentrations d'une partie de ces facteurs inflammatoires sont aussi modifiées chez les patients souffrant d'anorexie mentale (38,49,50) (Tableau 3).

Protéine	Sens de variation
Interleukine-1 (IL-1)	↑ (sous-type restrictif)
Interleukine 6 (IL-6)	↑
Tumor Necrosis Factor alpha (TNFα)	↑
Vascular Cell Adhesion Molecule (VCAM-1)	↑
Tumor Necrosis Factor bêta (TNFβ)	↓
Interleukine 15 (IL-15)	↓
Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF)	↓
Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)	↓

Tableau 2 : Variation de concentration des protéines de l'inflammation dans l'anorexie mentale

L'interleukine-1 (IL-1), l'interleukine-6 (IL-6) et les Tumor Necrosis Factor alpha et bêta (TNF α/β) sont des cytokines pro-inflammatoires (51). Elles sont aussi impliquées dans la régulation du poids (52), la prise de nourriture (53) et l'appétit (54).

L'interleukine-15 et la Vascular Cell Adhesion Molecule (VCAM-1) sont des protéines impliquées dans la régulation du système immunitaire au cours d'une réaction inflammatoire.

Le Brain Derived Neurotrophic Factor et le Vascular Endothelial Growth Factor sont des facteurs de croissance dont leur production et leur action sont étroitement liées au système inflammatoire.

En revanche, sur ces études, il n'est mis en évidence aucune différence entre les patients et les témoins sur les dosages de 33 autres marqueurs inflammatoires.

Au total, on observe une tendance à une surreprésentation des facteurs pro-inflammatoires chez les patients souffrant d'anorexie, facteurs aussi impliqués dans la régulation du poids et pouvant ainsi contribuer à l'apparition ou au maintien de la pathologie.

1.5.4. Axe hypothalamo-hypophysaire

La restriction alimentaire et la perte de poids occasionnent des complications sur le plan métabolique et endocrinien. On observe une dysrégulation de la glande hypothalamo-hypophysaire, avec des conséquences sur les axes gonadotrope, thyroïdienne, somatotrope et corticotrope (38,55) (Figure 4). Il faut garder à l'esprit que la dénutrition a un effet propre sur la réactivité du système hypothalamo-hypophysaire (56), et les anomalies rencontrées peuvent être plus secondaires au jeûne qu'à l'anorexie mentale.

L'axe gonadotrope : La GnRH, hormone hypothalamique, est moins sécrétée et ne l'est plus de façon pulsatile, entraînant une baisse en concentration et en pulsatilité de la LH (hormone hypophysaire). On observe en conséquence une baisse des concentrations en œstrogène et en testostérone (57). Il s'agit probablement d'une conséquence de l'extrême dénutrition des patientes, mais cela peut participer à l'entretien de la symptomatologie.

Ces anomalies peuvent avoir pour conséquence une aménorrhée secondaire. Bien que non systématique, l'aménorrhée peut être l'un des premiers symptômes alertant sur la symptomatologie anorexique.

Axe thyroïdienne : on observe des modifications classiquement présentes chez les patients en dénutrition chronique : la TSH (hormone hypophysaire) est à des taux

normaux ou subnormaux et la T4 normale à subnormale. Ces changements sont liés à la dénutrition, et ne sont pas spécifiques à l'anorexie mentale. Néanmoins, la T3 libre paraît être un marqueur sensible et spécifique pour différencier les patients des contrôles sains et des contrôles constitutionnellement minces (39).

Axe somatotrope : on observe une résistance à la GH (hormone de croissance, hormone hypophysaire), donc une augmentation des concentrations de GH pour une baisse des concentrations en IGF1 (hormone libérée par la GH) ; du fait de cette baisse en IGF1, le rétrocontrôle qu'a cette hormone sur la GH n'est pas efficace, perpétuant le cycle. La conséquence directe est un retard staturo-pondéral chez les patients souffrant d'anorexie, dont la profondeur est majeure en cas de début de la maladie en âge prépubère.

Axe corticotrope : On observe un hypercortisolisme modéré (58), mais persistant, ayant des conséquences sur le métabolisme osseux (baisse de densité osseuse) et la thymie des patients (l'hypercortisolisme chronique induit des symptômes anxieux et dépressifs). Ces anomalies ne sont plus présentes après rémission (59).

Enfin, bien que la plupart du temps asymptomatiques, les patients souffrent régulièrement d'hypoglycémie. Dans les cas de dénutrition sévère, cette hypoglycémie peut être profonde avec un très mauvais pronostic.

1.5.5. Orexines

Les orexines sont impliquées, entre autres, dans la régulation du comportement alimentaire (60). Les deux formes (orexine A et orexine B) sont présentes au niveau de l'hypothalamus, mais l'orexine A et son récepteur OX1-R sont plus spécifiques de la régulation de la prise alimentaire (61). Les neurones hypothalamiques à orexine projettent vers l'aire tegmentale médiale, qui possède elle-même des récepteurs à l'orexine (62,63) avec une action activatrice (64).

Chez les patients souffrant d'anorexie, les études sont limitées : l'orexine A est tantôt augmentée (65), tantôt inchangée (66), et se normalise après traitement (65). D'autres études sont nécessaires pour permettre une compréhension correcte du rôle de l'orexine dans l'anorexie mentale.

1.5.1. Peptide YY

Ce peptide existe sous la forme PYY1-36 et PYY3-36. Cette deuxième forme est celle la plus représentée dans les états d'abstinence et de satiété. Elle a une forte affinité pour le récepteur Y2 (67) et signale la satiété en inhibant le neuropeptide Y et en

stimulant les neurones à pro-opiomelanocortine (68). Chez des sujets sains, une injection de ce peptide réduit la quantité de nourriture ingérée (69). Au niveau central, on observe une activité de cette hormone au niveau de l'hypothalamus (homéostasie énergétique) et du circuit de la récompense (70,71) ; elle agirait en diminuant l'attrait pour la nourriture.

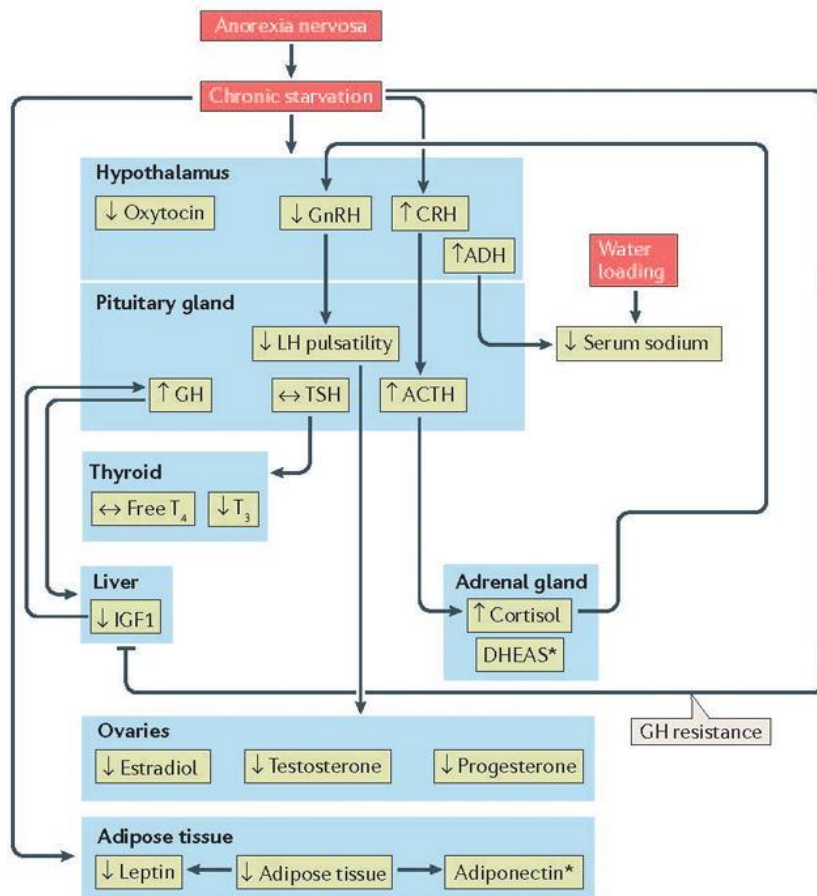


Figure 2 tirée de (Schorr & Miller, 2017) : les altérations hormonales dans l'anorexie mentale.

Chez les patients souffrant d'anorexie, la concentration en peptide PYY paraît tantôt augmentée (72), tantôt diminuée (73) et tantôt similaire (74) à celle observée chez les sujets sains. Les taux paraissent plus faibles chez les patients souffrant d'anorexie-boulimie (75) avant de se normaliser en cas de rémission (76).

Au total, les concentrations en peptide PYY paraissent secondaires à la dénutrition, et non au diagnostic d'anorexie.

Les modifications biologiques liées à l'anorexie apportent des informations sur le plan physiopathologique. Elles peuvent aussi conditionner le pronostic vital à court terme, mais n'ont aucune valeur diagnostique ou pronostique de l'anorexie mentale.

1.6. Complications organiques

Les complications médicales de l'anorexie mentale sont fréquentes et diverses (Tableau 4). Elles peuvent être secondaires à la dénutrition chronique, aux conduites de purges ou à l'interaction des deux ; plus la maladie est longue et la perte de poids importante, plus le nombre de complications augmente (77). Tous les organes peuvent être affectés, et une partie de ces complications peuvent persister après dénutrition. Lorsque des complications médicales sont présentes, le risque de mortalité augmente (78,79).

Système	Complications sans pronostic vital immédiat	Complications avec pronostic vital
Digestif (80)	Syndrome de l'intestin irritable Troubles moteurs œsophagiens Reflux gastro-œsophagien Constipation	Syndrome de l'artère mésentérique Dilatation gastrique aiguë
Osseux (81)	Déminéralisation osseuse	
Cardiaque (82,83)	Troubles vasculaires périphériques Modifications structurales Modifications hémodynamiques	Troubles de la conduction et de la repolarisation
Gynécologie obstétrique (84)	Aménorrhée Dysfonction sexuelle	Mortalité périnatale des nouveau-nés
Hématologique (85)	Pancytopénie modérée	
Pulmonaire (78,86)	Baisse des capacités respiratoires	Pneumothorax spontané Pneumomédiastin spontané
Dermatologique (78)	Xérose Acrocyanose Fragilité des phanères Ulcères de décubitus	
Conduites de purge (87)	Hypertrophie parotidienne Altérations dentaires	Syndrome de Mallory Weiss Hypokaliémie et trouble du rythme Intoxication médicamenteuse

Tableau 3 : Complications liées à l'anorexie mentale

Les complications somatiques conditionnent à ce jour le pronostic vital, et expliquent le risque élevé de décès lié à l'anorexie mentale.

1.7. Prise en charge

Les recommandations de bonnes pratiques énoncées par la HAS en 2010 concernant l'anorexie mentale servent actuellement de référence en France pour guider les différents intervenants dans la prise en soins. Des objectifs précis sont fixés sur les plans nutritionnel, somatique et psychologique. L'accent est mis sur la nécessité d'une prise en charge multidisciplinaire avec un dialogue entre les différents intervenants.

L'hospitalisation à temps plein est indiquée en cas d'urgence somatique ou psychiatrique, d'épuisement ou de crises familiales, avant que le risque vital ne soit engagé ou en cas d'échec des soins ambulatoires. Elle repose sur un examen clinique complet du patient (évaluation somatique, psychiatrique et des facteurs environnementaux). Elle se décide au cas par cas, et repose sur l'association de différents critères ainsi que leur évolution.

Afin de veiller à la cohérence et la continuité des soins il est recommandé que les soins hospitaliers soient relayés par des soins ambulatoires soit séquentiels, soit en hospitalisation de jour, soit au minimum par des consultations. Certaines modalités de soin particulières peuvent être proposées conjointement aux soins ambulatoires ou en relais de l'hospitalisation comme le CATTP (Centre d'accueil thérapeutique à temps partiel), les hébergements et postcures thérapeutiques, les soins étude, les familles d'accueil.

1.7.1. Outils thérapeutiques

Psychothérapies

Il existe différents types de psychothérapies qui peuvent être proposées aux patients au cours de leur prise en soin, et qui peuvent d'ailleurs être complémentaires. Le choix de la psychothérapie dépend de l'âge, du choix du patient, voire de son entourage, de sa motivation, du stade d'évolution de la maladie. En cas de dénutrition sévère, ou lorsque le pronostic vital est mis en jeu à court terme, la priorité doit être donnée à la prise en charge somatique. L'approche psychothérapeutique se limite alors à la psychothérapie de soutien. En cas d'antécédent d'abus sexuel, une approche spécifique est à envisager.

Il est recommandé de poursuivre la thérapie au moins 1 an après une amélioration clinique significative. En raison de la chronicité de l'anorexie mentale, les soins s'étendent souvent sur plusieurs années.

Parmi les psychothérapies les plus courantes, on trouve :

- Les thérapies de soutien

- Les psychothérapies d'inspiration analytiques ou psychodynamiques
- Les thérapies cognitives et comportementales
- Les thérapies systémiques et familiales
- Les approches motivationnelles
- La remédiation cognitive
- Les approches corporelles, l'art thérapie, la musicothérapie, etc. (proposées en association)

Les thérapies familiales et thérapies cognitives et comportementales seraient celles ayant montré la meilleure efficacité (88,89), au moins à court terme (90). Une large méta-analyse ne trouve pas de différence entre les différentes psychothérapies (91), mais met en avant leur très bonne acceptabilité de la part des patients.

La remédiation cognitive dans l'anorexie mentale a pour but de développer la flexibilité mentale et de travailler le défaut de cohérence centrale engendré par la maladie. Cette thérapie montre des résultats prometteurs sur les performances neurocognitives des patients qui en bénéficient avec une amélioration de la qualité de vie à 6 mois chez les adultes (92).

Pharmacothérapie

Il n'existe pas de traitement médicamenteux spécifique de l'anorexie mentale. Les données actuelles de la littérature trouvent des résultats peu concluants en ce qui concerne l'efficacité sur la reprise de poids ou la psychopathologie du trouble du comportement alimentaire, que ce soit pour les antidépresseurs ou les antipsychotiques (93,94). Certains traitements sont à utiliser avec précaution notamment en raison du risque de troubles du rythme cardiaque (allongement du QT, pour les tricycliques et les antipsychotiques) et du terrain fragile présentés par les patients du fait de la dénutrition.

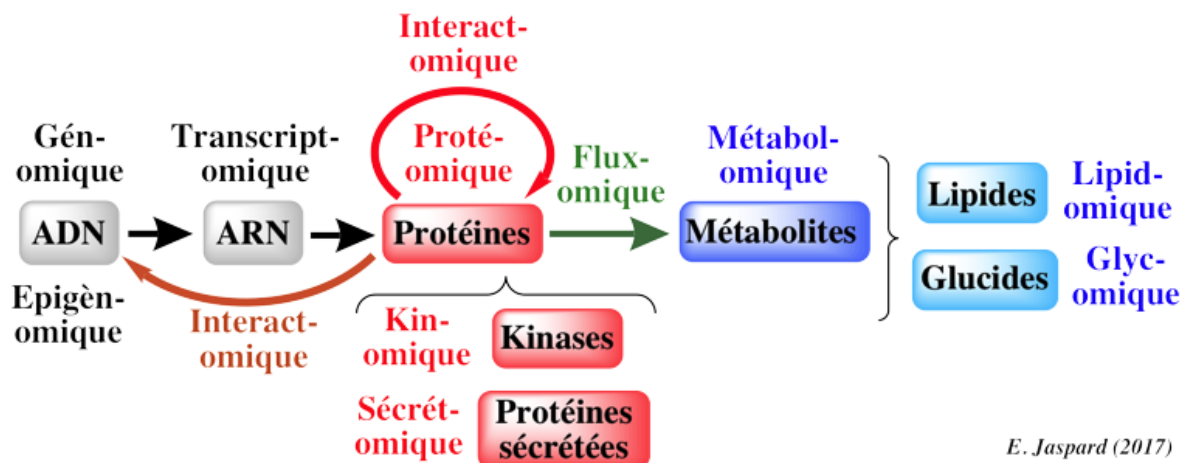
Points importants

- ⇒ L'anorexie mentale est une **pathologie fréquente** dont la prévalence vie entière s'approche de 0,9 % chez les femmes et 0,3 % chez les hommes. **Le sex-ratio est de 1/8** avec une nette **prédominance féminine**.
- ⇒ Les critères diagnostiques selon le DSM V sont la **restriction** des apports énergétiques conduisant à une **perte de poids significative**, une **peur intense de prendre du poids** et une **altération de la perception corporelle** et de l'estime de soi. On trouve un manque de reconnaissance de la maigreur.
- ⇒ Il existe deux sous-types : **restrictif pur ou avec accès hyperphagiques/purgatifs** (compulsions alimentaires, vomissements provoqués et autres conduites de purges)
- ⇒ Les troubles apparaissent dans **l'adolescence** avec une évolution vers la **guérison dans moins de la moitié des cas**, vers une **rémission partielle pour 1/3** des patients et une **chronicisation des troubles pour les 20 % restants**.
- ⇒ Le taux de **mortalité est 10 à 12 fois plus élevé qu'en population générale** avec un décès sur 5 par suicide.
- ⇒ De **nombreuses voies biologiques sont altérées**, secondairement à la dénutrition chronique ou au trouble en lui-même.
- ⇒ Il n'existe **aucune prise en charge médicamenteuse** recommandée à ce jour. Les **psychothérapies, quant à elles, ont une efficacité modérée**.
- ⇒ Hormis quelques facteurs pronostiques d'une fiabilité modeste, nous n'avons à disposition **aucun biomarqueur pronostique fiable** de l'évolution de la pathologie.

2. Les études et techniques « omiques »

Les études « -omiques » font référence aux études utilisant des techniques permettant de générer une très grande quantité de données sans biais ni a priori : les études de génomique séquencent l'ensemble du génome, les études de transcriptomique séquencent l'ensemble des ARN messagers etc. Elles se sont démocratisées et multipliées ces dernières années suite à l'amélioration des technologies. Parmi les différentes techniques omiques, on trouve entre autres (figure 5) :

- La génomique et l'épigénomique : étude du génome et de l'épigénome.
- La transcriptomique : étude de l'ensemble des ARN.
- La protéomique : étude de l'ensemble des protéines d'une cellule (« protéome »).
- La métabolomique : étude de l'ensemble des métabolites.
- La lipidomique, la glycomique : étude de l'ensemble des lipides et des glucides
- Etc.



E. Jaspard (2017)

Figure 3, tirée d'un cours en ligne de Dr Jaspard à Angers : les différents « omiques »

Pour des raisons explicitées au cours des paragraphes suivants, nous nous concentrerons ici sur la protéomique. Il n'existe à ce jour aucune étude de protéomique dans l'anorexie mentale, et cette stratégie a un réel potentiel de mettre en évidence un biomarqueur pronostique de la maladie.

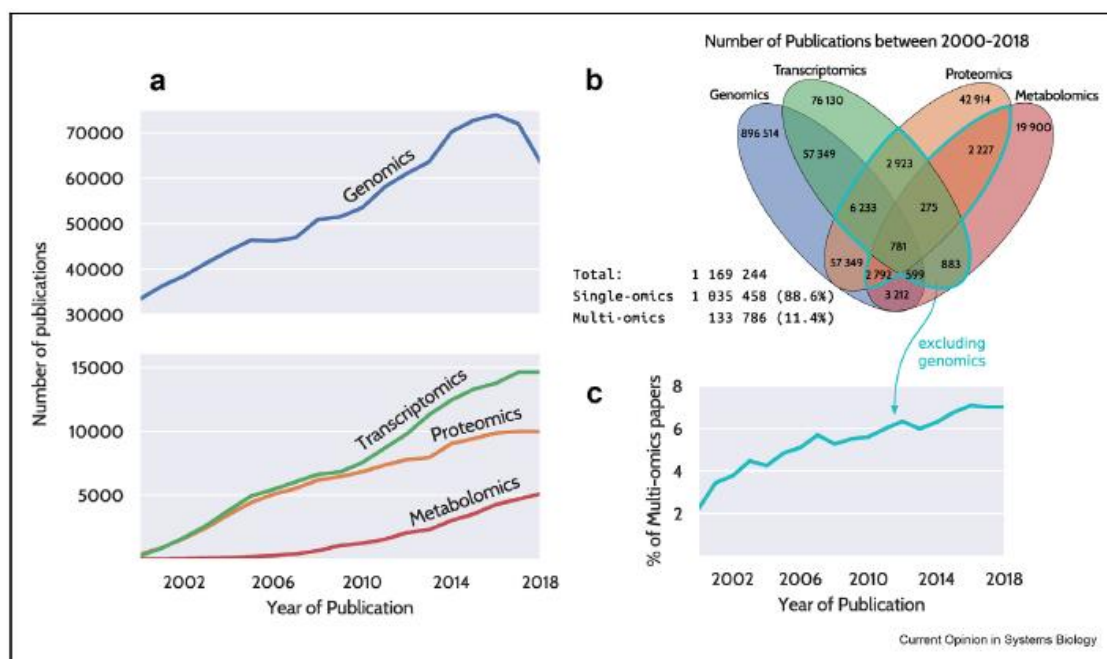


Figure 4 tirée de (95) : Expansion des études « omiques » au cours du temps

2.1. Les omiques dans l'anorexie mentale

Il existe de nombreuses études de **génomique** concernant l'anorexie mentale. La génétique joue un rôle indéniable dans ce trouble : on observe quatre fois plus d'antécédents familiaux d'anorexie chez les patients que chez les contrôles (96). Selon les critères pris en compte, l'héritabilité du trouble peut aller jusqu'à 74 % (97), c'est-à-dire que la part de génétique dans l'apparition d'une anorexie mentale est estimée à 74 %. Plus la définition de l'anorexie mentale est stricte, plus cette héritabilité augmente (98). De vrais jumeaux élevés séparément gardent un risque élevé de développer tous les deux la maladie, mettant encore l'accent sur la part génétique de ce trouble avec une faible participation de l'environnement (99).

Récemment (42,100,101), les études d'association pangénomique ont pu identifier 8 locis significativement associés à l'anorexie mentale, avec un profil génétique proche de ceux observés dans les troubles métaboliques : une corrélation négative est observée avec l'hypertriglycéridémie, l'hyperinsulinémie, l'hyperglycémie et le diabète de type 2 (42,102). Enfin, une corrélation génétique positive existe entre l'anorexie mentale et le cholestérol de haute densité, et la schizophrénie (42,102), qui n'est pourtant pas la comorbidité la plus fréquente.

Au total, ces études mettent en avant une forte part génétique de l'anorexie, mais sans gène ou mutation individualisée à ce jour. Le profil génétique des patients souffrant

d'anorexie paraît être significativement différent du profil des patients souffrant des désordres métaboliques sus-cités.

Quelques études se sont intéressées à l'**épigénome** dans l'anorexie mentale. Une diminution de la méthylation globale de l'ADN, inversement corrélée aux taux de testostérone et cortisol a été mise en évidence (103). Une hyperméthylation de gènes impliqués dans le stockage du cholestérol, le transport des lipides, la neurotransmission dopaminergique et glutamatergique (104) et de l'alpha synucléine (105) a également été observée chez les patients. Une étude de **métabolomique** (106) a mis en évidence 14 métabolites fécaux permettant de différencier les sujets sains, les sujets symptomatiques et les sujets en rémission.

On ne trouve aucune étude de protéomique ou de transcriptomique dans l'anorexie mentale. Entre ces deux stratégies, la protéomique paraît la plus adaptée (développée ultérieurement dans le chapitre « 2.2.2 : Chez les non-mammifères »).

Les études de génomique et d'épigénomique ont permis d'avancer dans la compréhension physiopathologique de l'anorexie mentale. Néanmoins, elles n'ont pas encore pu identifier de biomarqueur diagnostique ou pronostique. Les résultats de l'étude de métabolomique sont très encourageants, confirmant l'intérêt de ces stratégies ; l'analyse du protéome plasmatique a un réel potentiel dans l'identification de biomarqueurs.

2.2. La protéomique sur modèles animaux d'anorexie mentale

Bien qu'aucune étude de protéomique n'ait été réalisée chez l'Homme dans l'anorexie mentale à ce jour, il existe des données sur modèles animaux : la souris, et le ver *C. Elegans*.

2.2.1. Chez la souris

Il existe trois études de protéomique réalisées chez la souris à ce jour. Elles utilisent le modèle Activity-Based Anorexia (ABA) : à 8 semaines de vie, les souris sont mises dans une cage avec une roue et ont un accès limité à la nourriture. S'en suit alors une perte de poids majeure associée à une augmentation de l'activité physique. Ce modèle est classiquement comparé au modèle Low Food Anorexia (LFA), souris

dénutries sans activité physique. Les analyses sont faites à J10, phase initiale de la perte de poids, et à J17 alors que la perte de poids persiste.

Une étude (107) s'est intéressée au protéome des cellules coliques de souris ABA, LFA et contrôle à J10 et J17 après le début du protocole. Ils ont identifié 21 protéines exprimées de façon différente à J10 et 6 protéines à J17, entre le groupe contrôle et au moins un des deux autres groupes. Parmi ces protéines, 29,7 % sont impliquées dans la **production d'énergie, et leur abondance est diminuée**. Une grande partie des différences avec le groupe contrôle sont communes entre les groupes LFA et LBA, à l'exception près d'une **inhibition de la voie mTOR : l'autophagie est augmentée et la synthèse protéique est diminuée**. Ces résultats sont néanmoins à prendre avec précaution, car aucun test n'est resté significatif après utilisation du protocole statistique de Benjamini-Hochberg (permettant de limiter la détection de faux positifs lors de la multiplication de tests statistiques).

Les mêmes auteurs se sont penchés sur le protéome de l'hypothalamus chez les souris ABA, comparées aux souris LFA et un groupe contrôle (108). Ils ont ainsi identifié 12 protéines présentant une expression différentielle entre les groupes uniquement à J10, 8 protéines uniquement à J17 et 2 protéines aux deux temps (20 au total). Parmi ces protéines, 45,5 % sont impliquées dans le **métabolisme et sont surexprimées** chez les souris ABA. Ils ont aussi observé une **augmentation de la fission mitochondriale**, ainsi qu'une **augmentation de l'autophagie** associée à une plus **grande synthèse protéique**.

Enfin, les auteurs ont déterminé le protéome des cellules gastriques au niveau de la région antrale, chez les souris ABA, LFA et les contrôles (109). Ils ont identifié 15 protéines exprimées différemment entre les groupes. Certaines d'entre elles sont impliquées dans l'organisation des fibres musculaires, fonction dans l'ensemble désorganisée. Une partie est impliquée dans la synthèse protéique, mais celle-ci n'est pas modifiée quantitativement. Enfin, une partie est impliquée dans le **stress oxydatif, augmenté** chez les souris ABA. Il n'est pas observé de modification de l'autophagie.

2.2.2. Chez les non-mammifères

Une seule étude combinant protéomique et transcriptomique a été réalisée dans un contexte de jeûne, sur le ver *C. Elegans* (110). Il est observé une **augmentation des voies de l'autophagie et du métabolisme des acides gras**, ainsi qu'une **diminution de la synthèse protéique**. L'approche transcriptomique associée a montré une corrélation modérée entre la transcription (augmentée) et la traduction. Les auteurs ont

formulé l'hypothèse selon laquelle l'adaptation au jeûne se fait au niveau de la synthèse et de la dégradation protéique, alors que la quantité d'ARN est préservée, voire augmentée, pour permettre une adaptation rapide lors d'une reprise de l'alimentation. La protéomique paraît ainsi plus adaptée, car plus modifiée et pouvant mettre un plus grand nombre de biomarqueurs pronostiques potentiels.

Les résultats de protéomique sur les modèles animaux d'anorexie mentale apportent des éléments de compréhension de la pathologie, et confirment la présence d'anomalies protéomiques observables liées au trouble.

2.3. La protéomique : un brin d'histoire

La protéomique est l'étude du protéome qui correspond à l'ensemble de protéines exprimées dans une cellule ou un groupe de cellules à un moment donné ; elle est en ce sens libre d'hypothèses et non biaisée (111).

Cette discipline est apparue avec l'électrophorèse à deux dimensions à haute résolution et une étude majeure de 1975 où cette technique a permis à Pat O'Farrel et son équipe de séparer plus de 1000 protéines de la bactérie *Escherichia coli*. Les années qui suivirent furent la création du journal ELECTROPHORESIS et la multiplication des études utilisant cette technique d'électrophorèse (112).

Ce n'est qu'en 1994 que le terme « protéome » est utilisé pour la première fois, au cours de la première conférence Gene-to-Protein à Sienne en Italie, par Mark Wilkins et son équipe. Ils publient un article utilisant pour la première fois ce terme dans le journal ELECTROPHORESIS en 1995 (113). Ce champ de recherche croît rapidement ; au début du 21^e siècle, le tome 21 du journal ELECTROPHORESIS lui consacre presque 1500 pages. En 2001, le premier journal uniquement consacré à la protéomique est créé : PROTEOMICS. Deux autres journaux spécialisés dans la protéomique sont créés peu de temps après : Cellular Proteomics et Journal of Proteome Research.

Le terme « Proteomics » a été rajouté à la base de recherche Pubmed en 2002 et le nombre de publications référencées dans le domaine n'a cessé d'augmenter jusqu'à ce jour, passant de 307 en 2002 pour un maximum de 4068 en 2017 (figure 7).

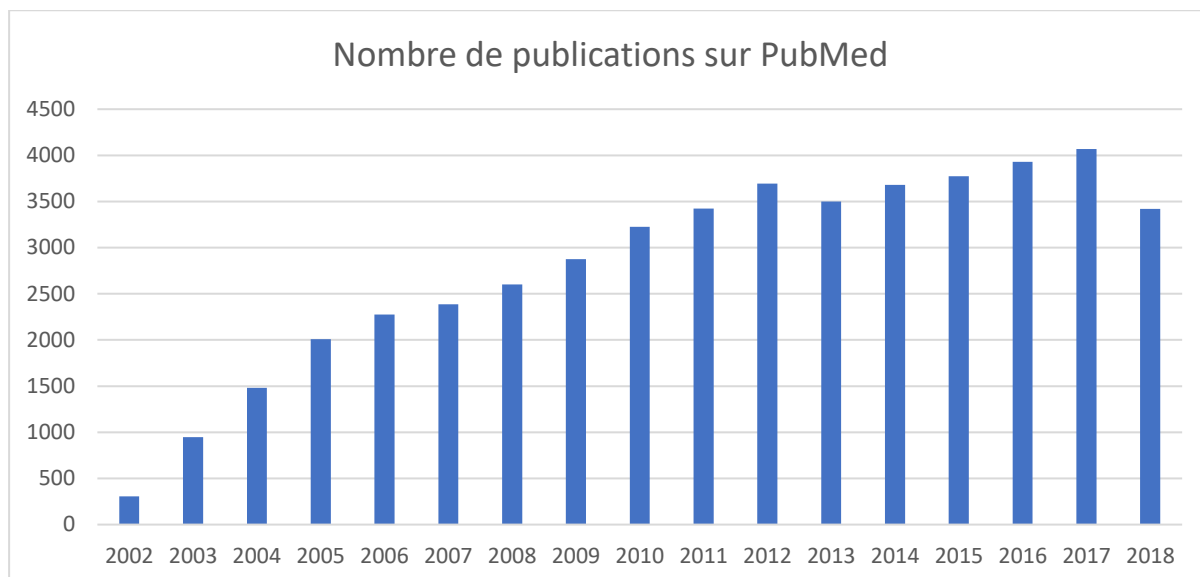


Figure 5 : Nombre de publications référencées dans le moteur de recherche PubMed incluant le terme « Proteomics »

La protéomique a d'abord été appliquée sur des cellules ou des tissus. C'est plus récemment que ces techniques se sont exportées sur des fluides biologiques (114), et la recherche de biomarqueurs dans diverses pathologies.

Actuellement, il existe deux grandes approches protéomiques : globale (shotgun) ou ciblée. Initialement qualitative, elle peut aujourd'hui être semi-quantitative.

2.4. La technique

2.4.1. Identification des protéines

Les principes de la protéomique (identification et semi-quantification des protéines) sont expliqués dans deux grandes revues (115,116). Elle nécessite trois grandes étapes : une préparation et/ou un prélèvement de l'échantillon, une préparation des protéines de l'échantillon et enfin l'analyse sur un spectromètre de masse.

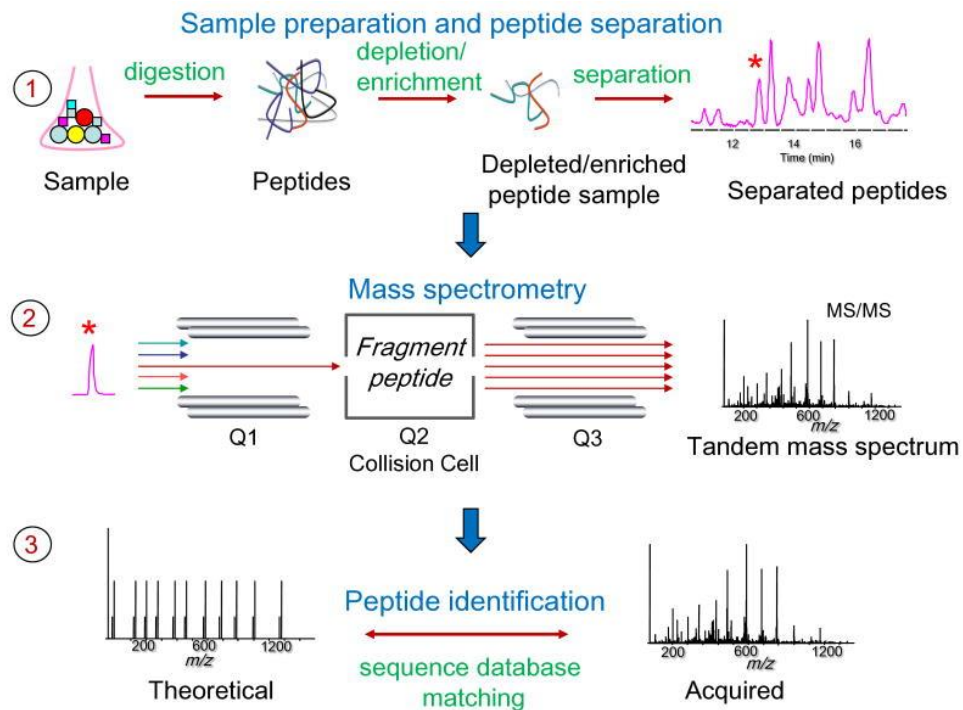


Figure 6 tirée de (117) : les différentes étapes de la préparation de la protéomique. Les échantillons sont digérés en peptides, puis analysés en LC-MS (1), où chaque pic correspond à un peptide. Chaque peptide est fragmenté, et tous les fragments sont analysés en LC-MS/MS (2). L'ensemble du spectre (les peptides et leurs fragments) est confronté à une base de données pour identifier les protéines d'origine (3).

L'étude de la protéomique se fait à ce jour par plusieurs étapes distinctes. Une fois l'échantillon recueilli, il est réalisé la plupart du temps un **fractionnement**. Il s'agit de ne sélectionner qu'une fraction des protéines de notre échantillon, en éliminant les protéines connues majoritaires. Cette étape permet de simplifier l'échantillon originel, et de ne garder que sa partie pertinente ; la surabondance de protéines majoritaires nuit à la détection des protéines minoritaires. Pour cela, il est par exemple possible d'utiliser une électrophorèse (séparation des protéines selon leur poids moléculaire), ou une immunodéplétion (utilisation d'anticorps pour piéger les protéines non pertinentes). La stratégie choisie dans ce travail de thèse, du fait de son efficacité, est une immunodéplétion des 12 protéines majoritaires du sang (118).

Il est ensuite indispensable d'effectuer une **digestion** de ces protéines. Cette étape permet de découper les protéines en plus petits fragments (*peptides*), les fragments de bas poids moléculaires étant plus facilement identifiables par le spectromètre de masse (utilisé plus tard). Il est classiquement utilisé de la trypsine, une enzyme clivant les protéines entre chaque séquence Arginine-Lysine.

La séparation des peptides se fait par chromatographie liquide (**HPLC**), couplée à une spectrométrie de masse (**LC-MS** ou **LC-MS/LS**) pour leur analyse (Figure 9).

La **HPLC** permet de séparer les peptides en fonction de leurs caractéristiques électrochimiques. Il existe plusieurs types d'HPLC (chromatographe d'absorption, par échange d'ions, d'exclusion stérique...); celle utilisée ici est l'HPLC en phase inverse, permettant de séparer les peptides en fonction de leur caractère hydrophobe. Elle consiste en une phase stationnaire et d'une phase mobile. La phase stationnaire est composée de billes de silice. La phase mobile est composée de deux parties : une partie aqueuse et une partie organique d'éluion, dont leur concentration varie au cours du temps (mode « gradient »). Avec cette construction, les peptides hydrophiles élueront rapidement, alors que les peptides hydrophobes seront retenus plus longtemps (en fonction de la quantité de solvant organique injectée).

Il est indispensable d'**ioniser** les peptides ainsi séparés pour permettre une analyse par spectromètre de masse. Pour se faire, la technique la plus utilisée, ayant fait l'objet d'un prix Nobel, est l'électrospray (119).

Le premier mode d'analyse par le spectromètre de masse est la **LC-MS**. Une fois ionisés, les peptides sont concentrés dans une chambre de rétention (C-Trap) puis caractérisés en fonction de leur fréquence de rotation autour d'un cylindre chargé (Orbitrap) : celle-ci dépend de leur masse sur charge (m/z). On obtient ainsi un spectre m/z de l'ensemble de l'échantillon, avec chaque pic m/z correspondant à un peptide précis. Le second mode d'analyse est la **LC-MS/MS**. Le spectromètre de masse isole chaque peptide (par un quadripôle qui, chargé, peut ne laisser passer qu'un seul ion) et, un à un, les fait passer dans une chambre de collision puis analyse tous les fragments obtenus : il s'agit de l'**acquisition donnée dépendante (DDA)**. On obtient ainsi, pour chaque peptide, un spectre de tous ses composants, permettant d'augmenter la précision dans l'analyse de chaque pic.

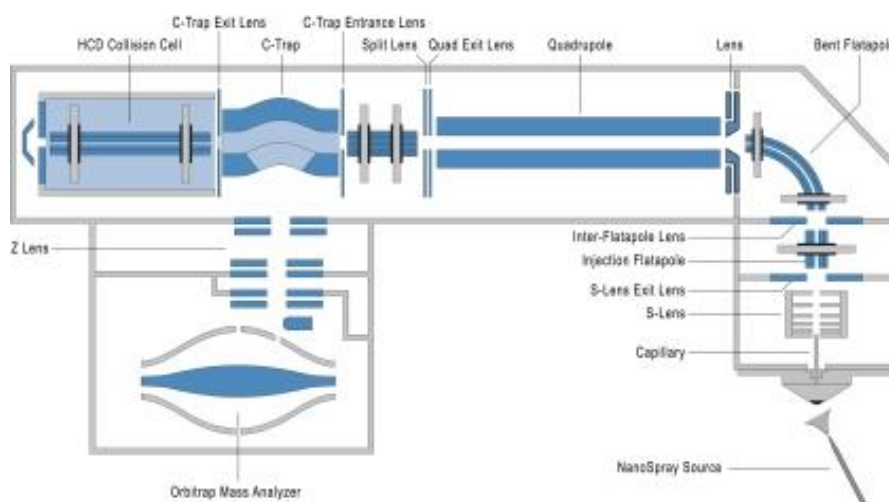


Figure 7 tirée de (120): Schéma d'un spectromètre de masse Q Exactive

Une fois ces deux analyses obtenues, l'**identification** correspond à utiliser les spectres des peptides et de leurs fragments pour reconstituer les protéines initiales. Les données brutes ne sont pas interprétables dans l'état, et nécessitent l'utilisation de logiciels d'identification interrogeant des bases de données (121). Les bases de recherche permettent de comparer le spectre obtenu par LC-MS/MS et les spectres théoriques de protéines ; le logiciel est en capacité d'imiter une digestion par trypsine de ces spectres protéiques pour obtenir ceux de ses composants peptidiques (Figure 10).

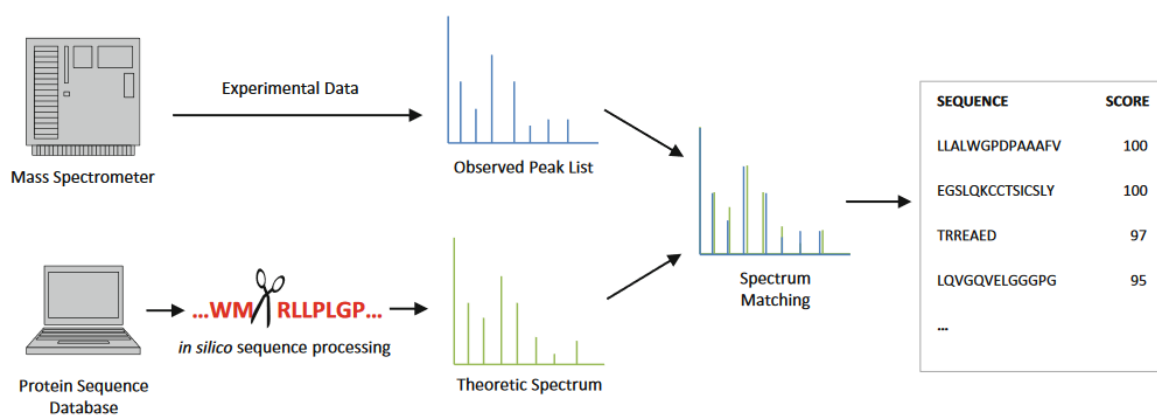


Figure 8 tirée de (122) : schéma représentant l'étape bio-informatique d'identification

La correspondance entre le spectre obtenu et le spectre théorique est appelée Peptide-to-Spectrum Match (PSM). Chaque spectre peut ainsi obtenir plusieurs PSM candidats, avec un score de certitude associé à chacun. La précision du spectromètre de masse, la présence d'une LC-MS/MS associée et l'amélioration du traitement bio-informatique permettent de réduire au maximum le nombre de peptides théoriques par spectre et ainsi améliorer la précision de l'analyse.

2.4.2. Semi-quantification des protéines

La spectrométrie de masse seule ne permet pas la quantification des protéines dans les échantillons analysés. En revanche, plusieurs techniques ont été mises au point pour permettre une analyse semi-quantitative (comparaison des quantités entre deux échantillons).

L'étiquetage chimique consiste à utiliser un marqueur fluorescent. À chaque échantillon est intégré un marqueur fluorescent ; ils sont ensuite mélangés, digérés et analysés par le spectromètre de masse. La fluorescence permet ainsi de déterminer la quantité relative de chaque protéine dans chaque échantillon.

Il est possible d'utiliser des isotopes atomiques. Dans la technique **ICAT** (Isotope-Coded Affinity Tag), l'hydrogène est remplacé par du deutérium dans l'acide aminé cystéine dans un échantillon, créant une différence de masse. Les deux échantillons sont

mélangés, puis digérés et analysés. Il est possible d'identifier le même signal à un poids différent (différence de poids connue) ; il suffit ensuite d'observer la différence de signal.

La technique **iTRAQ** (Isobaric Tagging Reagent for Absolute Quantification) reprend le même principe en utilisant de multiples isotopes et ainsi comparer jusqu'à 4 échantillons.

La technique **SILAC** (Stable Isotope Labeling of Amino Acids in Culture) se sert aussi d'isotopes nucléaires. Dans cette approche, les échantillons sont mis en culture ; dans un des milieux de culture, toutes les arginines et les lysines sont remplacées par des versions plus lourdes (avec des isotopes lourds de carbone et d'azote). L'analyse protéomique est réalisée normalement, puis la semi-quantification se fait aussi en comparant le signal relatif obtenu de chaque protéine en fonction de son poids moléculaire (classique ou alourdi).

Plus récemment, du fait de l'amélioration de la spectrométrie de masse, il a été développé deux méthodes de semi-quantification sans étiquetage. Pour chaque technique, les deux échantillons ne sont pas mélangés et sont analysés séparément. La « **spectral counting method** » consiste à « compter » le nombre de peptides assignés à chaque protéine : une plus grande abondance signifie un plus grand nombre de ses peptides.

La seconde méthode est la « **precursor signal intensity** », dont le principe est de comparer l'aire sous la courbe de chaque peptide de chaque protéine, et ainsi déterminer leur quantité relative dans chaque échantillon et déterminer lequel d'entre eux en contient le plus.

2.4.3. La recherche de biomarqueurs

La protéomique est une technique très bien adaptée à la recherche de biomarqueurs, et est de plus en plus utilisée dans ce but (le nombre d'études combinant les termes « Biomarqueur » et « Protéomique » a doublé entre la première et la seconde décennie des années 2000). Ici à Montpellier, l'Institut de Génomique Fonctionnelle, en partenariat avec le Pr THOUVENOT (neurologue à Nîmes), a identifié plusieurs biomarqueurs diagnostiques et pronostiques de la sclérose en plaques (123).

Le plasma contient trois types de protéines : celles ayant un rôle fonctionnel dans le sang (telle que l'albumine), celles étant des extraits de tissus sans fonction directe (telles que l'ALAT et l'ASAT, provenant du foie) et celles ayant un rôle dans la

signalisation (comme l'insuline). Le plasma, via ses constituants, serait ainsi capable de refléter l'état de santé d'un individu. Il a aussi une excellente accessibilité et acceptabilité : 77% des patients en hospitalisation et 31% des patients en consultation ont une prise de sang, et les protéines sont les composants les plus recherchés. Il est ainsi le fluide par excellence où rechercher des biomarqueurs (diagnostiques, pronostiques, d'efficacité thérapeutique...) (124). Il existe à ce jour plus de 100 biomarqueurs issus des protéines de la première catégorie (50%), puis des protéines de la seconde catégorie (25%) et de la troisième catégorie (125). Enfin, le prélèvement du plasma présente une quasi totale innocuité, avantage indéniable lorsque l'examen doit être réalisé chez des patients fragiles.

Pour toutes ces raisons, la protéomique appliquée au plasma paraît le plus adaptée pour la recherche de biomarqueur dans l'anorexie mentale.

Le paradigme actuel dans la recherche de biomarqueur en protéomique est la stratégie triangulaire (Figure 3A) : une première étude effectuée une protéomique « Shotgun » (non ciblée) sur un faible nombre de patients, dans l'objectif de mettre en évidence plusieurs biomarqueurs potentiels (Figure 3B). La seconde étape est une vérification, où la protéomique est ciblée sur les biomarqueurs potentiels, et où on augmente le nombre de patients inclus, pour n'en choisir que quelques-uns (Figure 3C). Enfin, une dernière étape de validation est nécessaire, avec une très large cohorte et l'utilisation de techniques type ELISA pour doser le(s) biomarqueur(s) choisi(s) (Figure 3D).

Ce travail de thèse correspond à la première étape de recherche d'un biomarqueur.

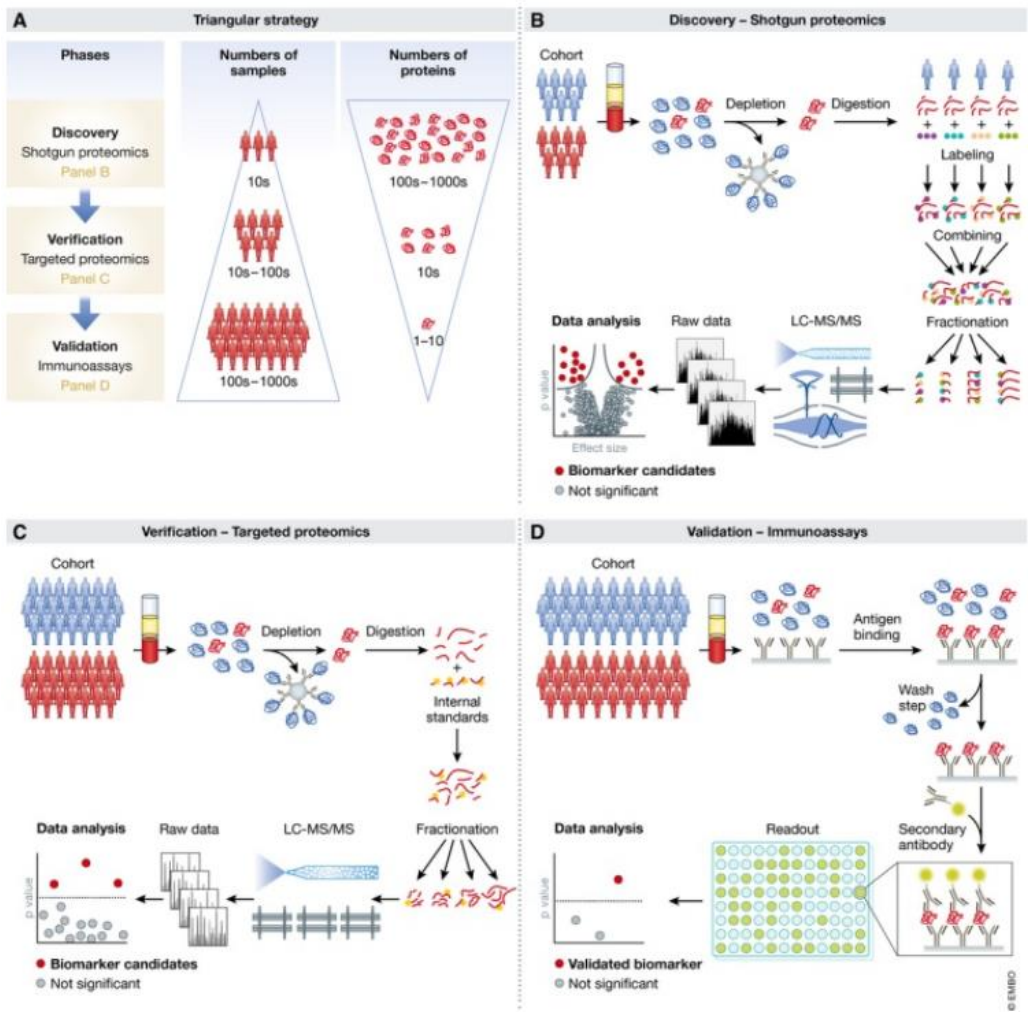


Figure 9 tirée de (124) : la stratégie triangulaire de la protéomique à la recherche de biomarqueur dans le plasma.

Points importants

- ⇒ Les techniques omiques ont l'avantage de générer **énormément de données**, de façon **non biaisée**. Leur utilisation dans les études croît de façon exponentielle depuis quelques années.

- ⇒ Dans le cadre de l'anorexie mentale, les omiques ont le potentiel **d'accroître la compréhension de la pathologie** et d'apporter des **éléments déterminants dans l'accompagnement** des patients.

- ⇒ La protéomique s'intéresse au **protéome**, et a pour but d'identifier **l'ensemble des protéines d'une cellule**.

- ⇒ Parmi les omiques, la **protéomique est la plus adaptée pour la recherche de biomarqueurs**.

- ⇒ La protéomique n'a encore **jamais été réalisée dans l'anorexie mentale**.

- ⇒ Le plasma est le fluide biologique **le plus accessible, le plus accepté et présente une presque totale innocuité** dans son prélèvement.

- ⇒ Ce travail de thèse est ainsi une étude de **protéomique** sur le **plasma** de patientes souffrant **d'anorexie mentale**, dont l'objectif principal est de déterminer un **biomarqueur pronostique** de la maladie.

B. Projet scientifique

1. Rationnel scientifique, objectifs

Comme cela a été décrit précédemment, l'anorexie mentale est la pathologie psychiatrique présentant le taux de mortalité le plus élevé. Les options thérapeutiques sont limitées, tout comme leur efficacité. Il existe à ce jour de multiples facteurs pronostics cliniques identifiés dans de larges populations de patients, mais aucun facteur pronostic biologique de l'évolution de la maladie ou de réponse au traitement sur le plan individuel.

Bien qu'une hérédité de la maladie soit claire, aucune des rares mutations identifiées ne permet d'expliquer la pathologie. Quelques modifications épigénétiques ont été mises en évidence, mais les études sont encore rares. De nombreuses voies biologiques sont modifiées. Certaines seraient dues à l'anorexie mentale, mais beaucoup sont aussi influencées par la dénutrition. Aucun facteur génétique, épigénétique ou biologique ne permet à ce jour de prédire l'évolution de la maladie ou la réponse à la prise en charge.

Il est admis que 70% des diagnostics médicaux proviennent de biomarqueurs sanguins, et la majorité des analyses concernant des protéines. De ce fait, l'étude du protéome paraît être une piste prometteuse dans la recherche d'un (des) biomarqueur(s) pronostique(s) potentiel(s) dans l'anorexie mentale. La protéomique, décrite précédemment, est réalisable sur les fluides biologiques, notamment le plasma. Le prélèvement de celui-ci a l'avantage d'être sans risque et accepté des patients.

Ce projet a ainsi pour objectif principal de **mettre en évidence un (des) biomarqueur(s) pronostique(s) potentiel(s)** par **protéomique**, chez des patients souffrant **d'anorexie mentale**.

2. Importance, originalité du projet

Comme la plupart des pathologies psychiatriques, l'anorexie mentale est mal connue. Les études sont en faveur d'une origine, ou au moins d'une prédisposition génétique, mais la compréhension de la pathologie encore limitée. Notre action sur l'évolution du trouble est modérée du fait du manque d'efficacité de nos prises en charge, cette évolution allant de la guérison au décès sur complications.

Il faut à ce jour se rapprocher d'une médecine personnalisée et individualisée, pour permettre un accompagnement correspondant au profil (psychopathologique, pronostique) du patient. Néanmoins, tous les facteurs cliniques et épidémiologiques pronostics de l'évolution de la pathologie connus à ce jour sont d'une fiabilité modérée. Identifier un (des) facteur(s) biologique(s) prédictif(s) de l'évolution de la maladie permettrait de stratifier les patients, rendre la prise en charge plus modulable et dans l'idéal de proposer des soins adaptés et personnalisés au profil du patient.

Un facteur pronostic doit non seulement être fiable, mais aussi simple à suivre. Des analyses protéomiques ont été réalisées au niveau hypothalamique ou du système digestif de souris, mais de telles études ne sont pas réalisables en pratique clinique chez les patients. L'analyse biologique la moins invasive, la plus facilement réalisable et la plus acceptée par les patients est une prise de sang veineux ; c'est pourquoi cette étude se concentre sur l'analyse de ce fluide. La force d'une analyse protéomique du plasma est de mettre en évidence sans a priori les différences d'expression des protéines entre différents types de patients, comme les patients montrant ou non une rémission au cours du suivi.

Enfin, le profil protéomique plasmatique des patients souffrant d'anorexie mentale ainsi que sa modification au cours de l'évolution de la maladie n'a encore jamais été réalisé. Ce projet est une étude pilote, première étape dans l'identification de biomarqueurs potentiels par protéomique dans l'anorexie mentale.

3. Description du projet

3.1. Population

Il existe actuellement une cohorte de patientes suivies dans le service des troubles du comportement alimentaire à l'hôpital Lapeyronie. Celle-ci a été constituée il y a plusieurs années, et continue de recruter. Les patientes sont suivies régulièrement jusqu'à être perdues de vue. Il y a actuellement plus de 400 patientes suivies dans cette cohorte à ce jour.

À chaque visite, une caractérisation phénotypique extensive est réalisée (tableau 1). De plus, une biobanque d'échantillons sanguins est alimentée à chaque visite : un tube sec et un tube EDTA sont prélevés et congelés à -80°C.

Clinique	Biologique
Caractéristiques sociodémographiques	Numération sanguine
Diagnostic de TCA selon le DSM	Coagulation
IMC actuel, minimum et maximum	Ionogramme sanguin, fonction rénale
Cycle menstruel, contraception	Fonction hépatique
Grossesses	Dosages vitaminiques
Conduites de purge	Statut martial
Activités sportives	TSH
Calorimétrie	Leptinémie
Ostéodensitométrie	Dosage des Interleukines 1 et 6
Echelle Visuelle Analogique	Dosage de TNFalpha
Functional Assessment Screening Tool	
Eating Disorder Examination	
Eating Disorder Inventory	
MINI questionnaire	
Beck Depression Inventory	
Childhood Trauma Questionnaire	
Tests neuropsychologiques	

Tableau 1 : Caractérisation phénotypique des patientes à chaque visite

3.2. Formation des groupes

À partir de cette base de données, deux groupes sont formés. Le groupe 1 contient des patientes dont une rémission clinique est obtenue au cours du suivi ; le groupe 2 contient des patients dont aucune rémission n'est obtenue au cours du suivi (tableau 2).

	Groupe 1	Groupe 2
Visite initiale	Anorexie symptomatique	Anorexie symptomatique
Visite de suivi	Rémission	Sans rémission

Tableau 2 : Groupes de l'étude

Critères d'inclusion :

- Diagnostic d'anorexie mentale (symptomatique ou en rémission) selon les critères du DSM.

- *Pour le groupe 1 : une rémission obtenue au cours du suivi. La rémission est définie par une restauration pondérale (IMC > 17.5) associée à une absence de diagnostic d'anorexie mentale, selon les critères du DSM5, stable depuis au moins 3 mois.*

Critères d'exclusion :

- La présence d'une comorbidité psychiatrique : trouble anxieux, trouble psychotique, prise de toxiques.
- La présence d'un switch diagnostic vers les différents troubles du comportement alimentaire au cours du suivi.

Les deux groupes sont appariés sur l'âge, l'IMC initial, la durée des troubles et la durée de congélation des tubes. Du fait de la nature de la cohorte, tous les sujets sont de sexe féminin. Les caractéristiques d'intérêt dans cette étude pour ces patientes sont : leur âge, la durée de la maladie, le poids, leur taille, leur Indice de Masse Corporelle (IMC) et les résultats à l'Eating Disorder Inventory (EDI), un questionnaire évaluant l'intensité des symptômes des troubles de l'alimentation.

3.3. Procédures expérimentales

Dans un premier temps, les échantillons ont été aliquotés (divisés) en tubes contenant 100 µL de plasma (5 aliquots par échantillon), afin d'éviter les cycles congélation-décongélation. De plus, 16 µL ont été prélevés de chaque échantillon pour réaliser pool, qui a été lui-même aliquoté. Ces aliquots du pool ont été utilisés pour réaliser la mise au point du protocole pour la préparation des échantillons (déplétion des protéines majoritaires, précipitation, digestion, reproductibilité technique des différentes étapes).

L'**immunodéplétion** des échantillons a été réalisée grâce au kit Pierce™ Top 12 Abundant Protein Depletion Spin Columns, selon la procédure recommandée par le fabricant du kit. Le choix de ce kit est fondé sur ses excellentes performances dans le cadre d'une analyse protéomique antérieure (118). Les douze protéines plasmatiques majoritaire ciblées incluent l'albumine (représentant à elle seule plus de 50% de la masse du protéome plasmatique), l'α1-glycoprotéine, l'α1-antitrypsine, l'α2-macroglobuline, l'apolipoprotéine A-I et A-II, le fibrinogène, l'haptoglobuline, la transferrine et les immunoglobulines A, G et M.

À l'issue de l'immunodéplétion, l'échantillon protéique doit être concentré par **précipitation** des protéines. Celle-ci est obtenue en présence d'acide trichloroacétique

(TCA, 10%), à 4°C pendant 2 heures. Après la précipitation et l'extraction à l'éther de l'excès de TCA, les protéines sont resolubilisées dans 40 µL de tampon Laemmli.

Deux méthodes de **digestion** des protéines ont été évaluées pour déterminer le protocole permettant la meilleure profondeur d'analyse du protéome plasmatique après immunodéplétion : une digestion dans un gel d'acrylamide et une digestion en milieu liquide par la trypsine sur des colonnes (kit S-Trap™ Micro Columns) développé par Protifi (selon les procédures préconisées par le fabricant).

Enfin, une **analyse spectrométrique en tandem (LC-MS/MS) des peptides résultant de la digestion trypsique** est réalisée en utilisant une nano-HPLC Ultimate 3000 couplée à un spectromètre de masse Q-Exactive HFX (ThermoScientific), avec une acquisition donnée-dépendante. L'analyse des données de la spectrométrie de masse et l'identification des protéines (stratégie bottom-up) sont réalisées grâce à Andromeda, un algorithme intégré au logiciel MaxQuant (126) en utilisant les entrées humaines de la banque de données protéiques UniProtKB (v2020 02). Elle possède 74.823 entrées, dont 20.350 revues et annotées manuellement (base de données Swiss-Prot) et 54.473 annotées automatiquement (base de données TrEMBL). Les résultats présentés sont filtrés pour obtenir un taux de faux positif de 1% au niveau peptique et protéique.

3.4. Objectifs

L'objectif principal est de déterminer un (des) candidat(s) biomarqueur(s) potentiel(s) de l'évolution de la maladie. Pour ce faire, une comparaison des profils protéomiques entre le groupe 1 et le groupe 2 à la visite initiale.

Afin de compléter et d'affiner l'analyse, une comparaison des profils protéomiques en fonction du gain d'IMC sera effectuée.

3.5. Analyses statistiques

La comparabilité initiale des groupes est réalisée par un test non paramétrique univarié de Mann-Whitney.

Les données brutes de spectrométrie de masse ont été analysées en utilisant le logiciel ProteomeDiscoverer 2.4 (moteur de recherche Sequest avec des paramètres standards). Elles ont été comparées aux entrées humaines de la base de données

UniProtKB (v2020_02) ainsi qu'une base contenant environ 250 contaminants classiques (kératines, trypsine...).

La quantification relative des protéines entre chaque échantillon a été réalisée grâce à l'algorithme de quantification label-free Minora (intégré dans ProteomeDiscoverer 2.4). Les quantifications relatives des protéines entre chaque groupe ont été comparées en utilisant un test de Student, avec l'application d'une correction pour ajuster les p-values (test multiples).

4. Résultats

4.1. Contrôle des procédures expérimentales

Au préalable, il a fallu réaliser la mise au point des procédures expérimentales qui seront utilisées pour l'analyse protéomique différentielle des deux groupes de patientes. La première expérience concerne l'efficacité et la reproductibilité de l'immunodéplétion des protéines plasmatiques majoritaires par le kit Pierce™ Top 12 Abundant Protein Depletion Spin Columns. La deuxième a pour but de déterminer la méthode de digestion des protéines par la trypsine (dans le gel après électrophorèse 1D ou sur des microcolonnes (kit S-Trap™, Protifi) offrant à la fois la meilleure profondeur d'analyse du protéome plasmatique et la meilleure reproductibilité.

Pour déterminer l'efficacité et la reproductibilité de l'immunodéplétion et de la précipitation, des échantillons contenant la même quantité de protéines (3µg) ont été analysés par électrophorèse en conditions dénaturantes (SDS-PAGE) avant (Input) et après (Flow Through) immunodéplétion et précipitation. Le flow-chart (Annexe 1) illustre

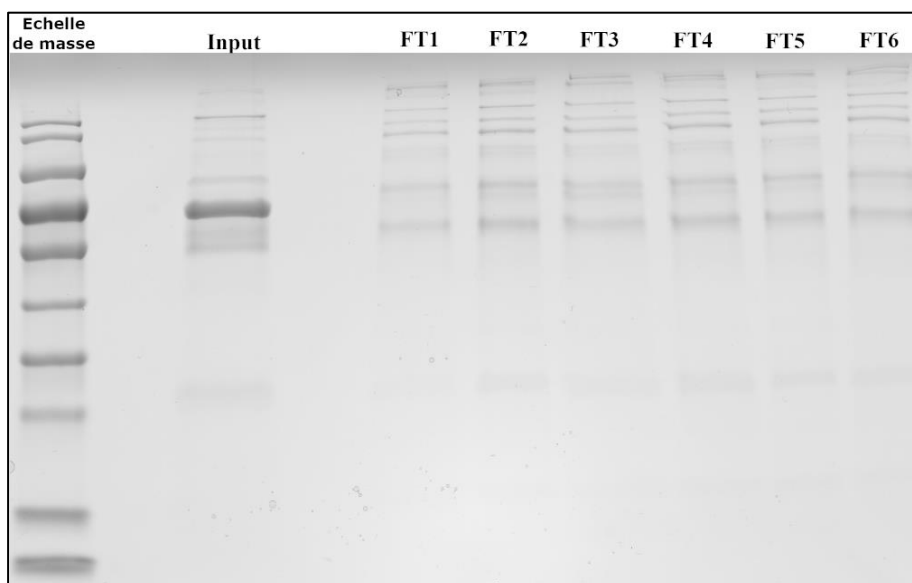
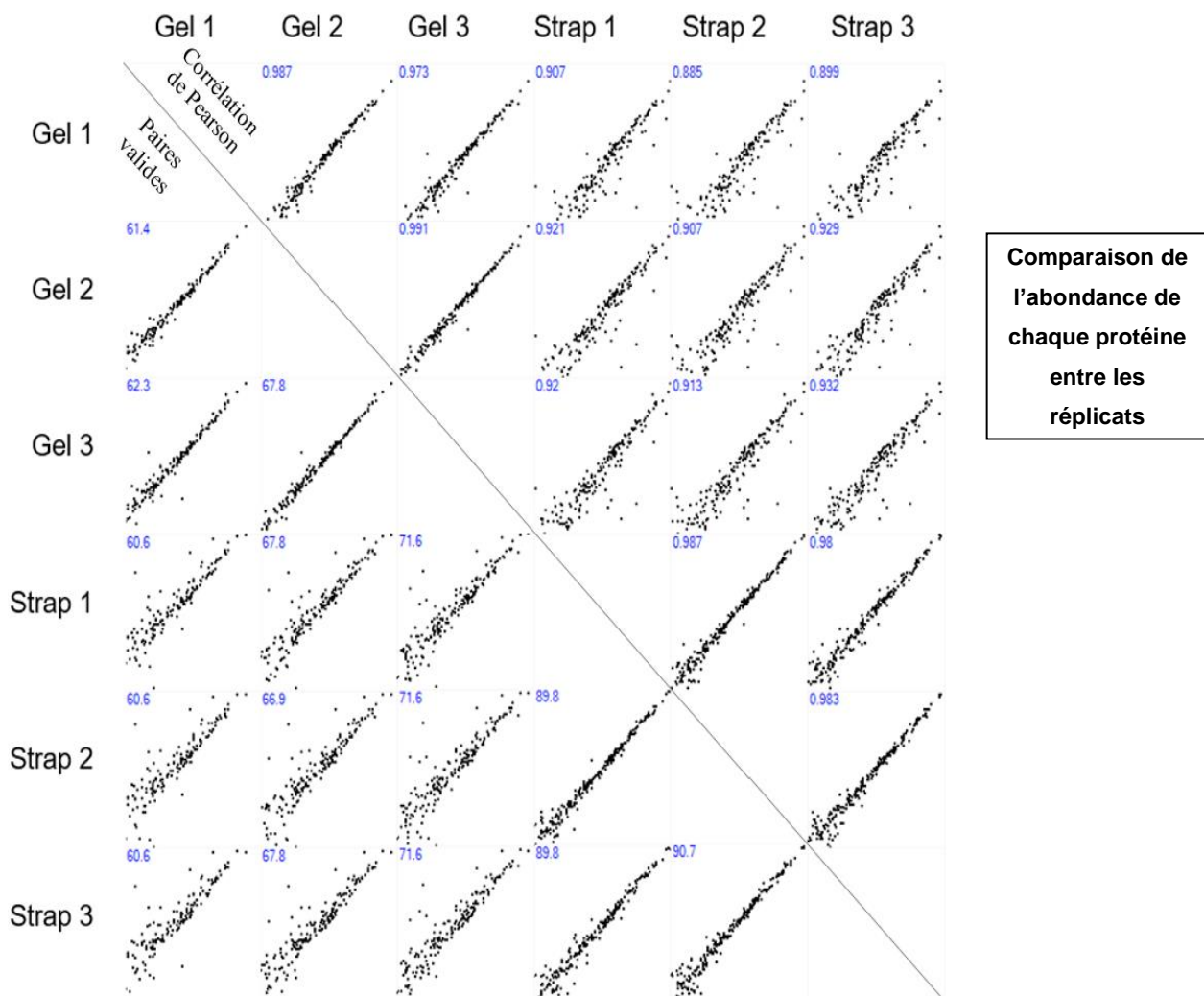


Figure 10 : Contrôle de l'efficacité et de la reproductibilité de l'immunodéplétion et de la précipitation au TCA par électrophorèse ; contrôle IsoProt. Il a été déposé 3µg de protéines dans chaque puits. FT = Flow through

les différentes expériences réalisées pour obtenir ces tubes contrôles IsoProt, avant (Input) et après (Flow through, FT) immunodéplétion et précipitation.

Le profil électrophorétique des échantillons avant et après l'immunodéplétion (SDS-PAGE suivi d'une coloration au bleu de comassie colloïdal) **montre que celle-ci est à la fois efficace et reproductible** sur les 6 répliquats techniques réalisés (Figure 1). En effet, l'intensité des bandes (protéines) majoritaires observables dans l'échantillon de départ (input) a diminué dans les échantillons immunodéplétés. Par exemple, la bande de poids moléculaire proche de 70 kDa correspondant à l'albumine (protéine plasmatique la plus abondante – représentant plus de 50% de la masse protéique -) n'est plus détectable après l'immunodéplétion. De plus, le profil électrophorétique des échantillons immunodéplétés est bien conservé entre les



Comparaison de l'abondance de chaque protéine entre les répliquats

Figure 2 : Comparaison de la digestion dans le gel et sur colonne S-Trap. Chaque point correspond à une protéine identifiée. Plus ce point est proche de la droite $x=y$, plus la quantité identifiée de cette protéine est similaire entre les deux méthodes de digestion. Pour chaque comparaison est représenté le coefficient de Pearson (corrélation linéaire entre les deux échantillons) en haut, et le pourcentage de paires valides (pourcentage de protéines retrouvées dans les deux échantillons comparés) en bas.

réplicats. Des résultats similaires sont obtenus avec un contrôle à volume constant (IsoVol) avant et après immunodéplétion (données non montrées).

La comparaison des analyses protéomiques entre les deux méthodes de digestion permet d'affirmer que **la digestion sur colonne S-TRAP permet une plus grande profondeur d'analyse**. Sur les 205 protéines identifiées au total, 43 le sont uniquement après digestion S-TRAP et 3 après digestion sur gel. Pour chaque protéine, 7 peptides sont identifiés et 16 MS/MS sont réalisées en moyenne après digestion S-TRAP (pour 5 peptides et 7 MS/MS après digestion sur gel). Cette augmentation du nombre moyen de peptides par protéine nous permettra une meilleure quantification.

Des analyses ont été effectuées pour déterminer la méthode de digestion la plus reproductible (Figure 2). On observe un coefficient de Pearson (statistique mesurant la corrélation linéaire entre deux variables) élevé entre chaque échantillon digéré sur gel, et entre ceux digérés sur S-TRAP. En revanche, on observe une différence

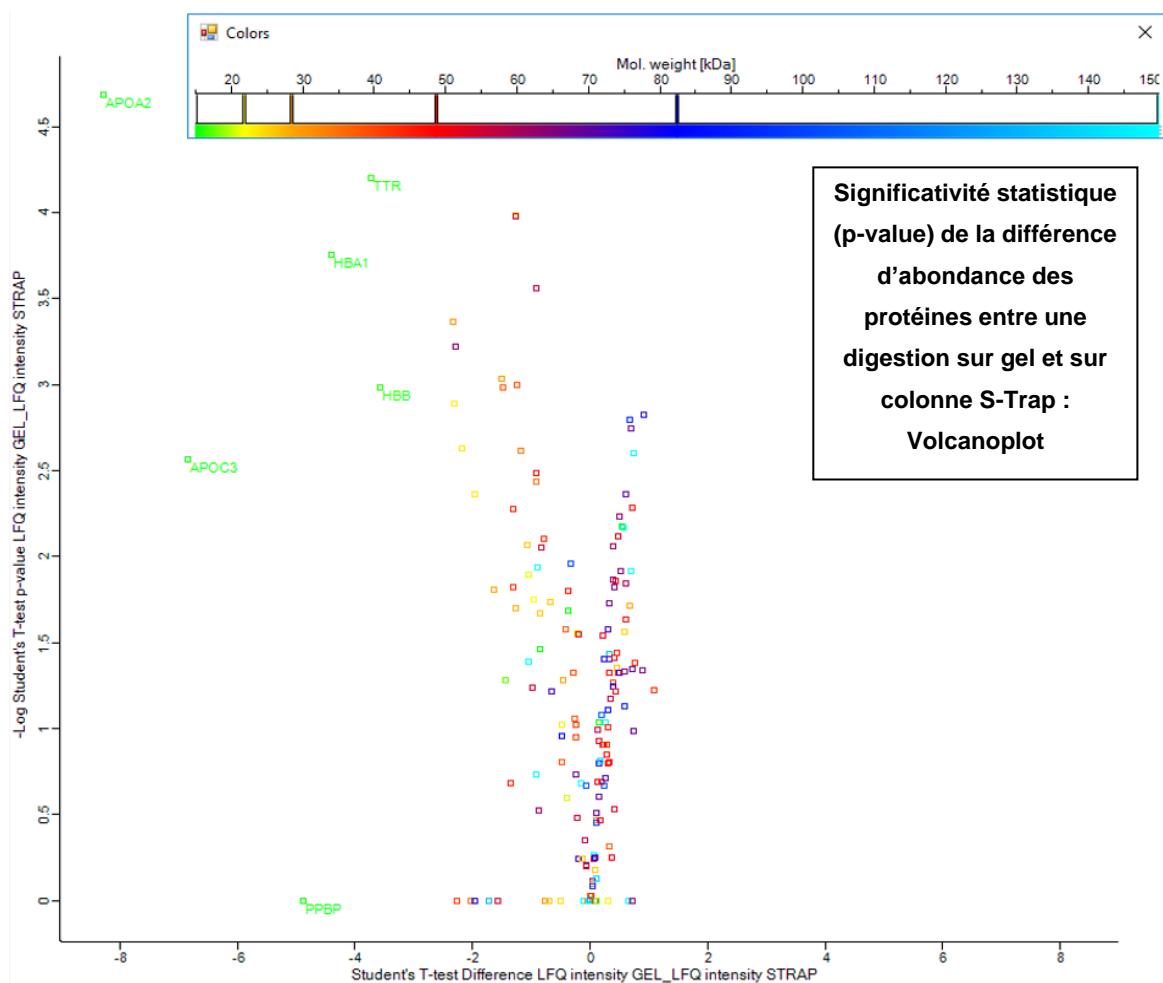


Figure 3 : Volcanoplot représentant les protéines identifiées par LC-MS/MS après digestion sur gel en comparaison avec la digestion S-TRAP. En abscisse, la différence observée en log2 et en ordonnée la significativité de cette différence. Les couleurs, choisies arbitrairement, représentent le poids moléculaire des protéines.

sur le nombre de paires valides (nombre de points retrouvés dans les deux analyses comparées) entre les deux méthodes : il y a entre 61,4 et 67,8 % de paires valides entre chaque échantillon digéré par gel, et entre 89,8 et 90,7 % de paires valides entre chaque échantillon digéré sur colonne. **Au total, une digestion sur colonne Strap permet une meilleure reproductibilité des résultats.**

Afin de déterminer quelles protéines sont observées de façon différentielle après digestion par l'une ou l'autre méthode, nous avons effectué un test de Student basé sur la valeur Label-Free Quantification (Figure 3), représenté sur un volcanoplot. On observe que les protéines de plus petit poids moléculaire (en vert) sont moins abondantes après une digestion sur gel. Pour une meilleure détection de celles-ci, la digestion S-TRAP est donc préférable.

Au total, la digestion S-TRAP permet une plus grande profondeur d'analyse et est plus reproductible que la digestion sur gel.

4.1.1. Conclusion des contrôles

L'ensemble des résultats obtenus à ce jour ont permis de confirmer **l'efficacité et la reproductibilité de l'immunodéplétion** par kit Pierce™ (118) suivie d'une précipitation des protéines au TCA pour concentrer les échantillons immunodéplétés. Pour optimiser la quantité de protéines détectées par LC-MS/MS, le choix se porte sur une **digestion sur colonne S-Trap**. C'est avec cette stratégie que les échantillons des patients souffrant d'anorexie mentale seront préparés puis analysés.

4.2. Caractéristiques de la population

Pour la suite des résultats, V1R correspond au groupe Rémission première visite, V2R au groupe Rémission 2^{de} visite, V1M au groupe Malade première visite et V2M au groupe Malade 2^{de} visite.

Quatorze patientes étaient éligibles dans le groupe « Rémission », et 27 patientes dans le groupe « Malade ». La sélection des patientes s'est basée sur la disponibilité de l'ensemble des caractéristiques cliniques d'intérêt, ainsi que sur un appariement sur l'âge, l'IMC initial, la durée des troubles et la durée de congélation des tubes. Neuf patientes par groupe ont été effectivement sélectionnées, analysées à deux temps.

Les patientes sélectionnées dans la base de données (Tableau 1) ont en moyenne 20 ans et souffrent d'anorexie mentale depuis 3 ans au moment de la première visite. On n'observe pas de différence statistiquement significative entre les deux groupes à la première visite, sur toutes les caractéristiques. Dans le groupe Rémission, entre les deux

visites, les patientes améliorent significativement leur IMC ($p < 0.01$, test de Mann-Whitney) et la variable « Inefficacité » de l'EDI ($p = 0.016$, test de Mann-Whitney). On observe aussi une tendance sur la variable « Conscience interoceptive » et « Désir de minceur » ($p = 0,076$ et $p = 0,063$ respectivement, test de Mann-Whitney). Entre les deux visites, le groupe Malade ne s'améliore sur aucun des paramètres.

Néanmoins, malgré l'effort qui a été fourni dans l'objectif d'apparier les deux groupes sur l'ensemble de ces caractéristiques, une analyse plus fine de leur constitution met en évidence des différences notables impactant leur comparabilité (Annexe 2) : les patientes du groupe Rémission V1 sont plus jeunes que celles du groupe Malade V1 (médianes à 17.36 ans contre 19.87 ans, soit 2 ans et demi d'écart), et leur durée d'évolution de la maladie plus courte (médianes à 0.85 an contre 2.46 ans, soit 1 an et demi d'écart). L'EDI total des patientes du groupe Rémission V1 (médiane à 60) a aussi une tendance à être plus faible que celui du groupe Malade V1 (médiane à 91).

	Groupe rémission (n=9)		Groupe malade (n=9)	
	V1	V2	V1	V2
Âge (SD)	19 (5,20)	20,8 (5,86)	19,9 (2,57)	21,6 (2,94)
Durée des troubles (SD)	3,10 (3,59)	4,92 (4,17)	3,15 (2,06)	4,84 (2,16)
Durée de congélation des tubes (SD)	6,87 (0,73)	5,05 (0,40)	6,42 (1,06)	4,73 (1,26)
Poids (SD)	42,7 (4,10)	50,5 (3,75)*	43,93 (5,01)	44,97 (3,56)
Taille (SD)	1,66 (0,06)	1,67 (0,06)	1,66 (0,06)	1,66 (0,06)
IMC (SD)	15,50 (1,18)	18,20 (1,35)*	15,91 (1,08)	16,30 (0,96)
EDI - Désir de minceur (SD)	10,2 (6,36)	4,89 (5,04)	10,2 (4,68)	9 (6,32)
EDI - Boulimie (SD)	2,78 (4,32)	1 (2)	4,38 (7,73)	0,86 (2,47)
EDI - Insatisfaction corporelle (SD)	11,6 (6,04)	7,78 (2,73)	10,6 (4,72)	11,8 (6,76)
EDI - Inefficacité (SD)	9,44 (6,09)	3 (2,24)*	10,1 (3,31)	10,5 (6,30)
EDI - Perfectionnisme (SD)	6,22 (4,38)	6 (4,53)	6,5 (4,41)	6,12 (4,39)
EDI - Méfiance interpersonnelle (SD)	4,22 (3,31)	3,22 (3,70)	5,38 (3,07)	5,88 (6,13)
EDI - Conscience interoceptive (SD)	7,67 (6,61)	3,33 (3,87)	9,88 (4,64)	10,5 (7,07)
EDI - Peur de la maturité (SD)	7,11 (5,95)	3,56 (1,88)	7,75 (6,32)	9,25 (6,20)
EDI - Ascétisme (SD)	5,67 (5,12)	4 (2,74)	8,88 (5,94)	5,75 (3,15)
EDI - Contrôle des impulsions (SD)	4,89 (5,44)	4,33 (6,96)	9,75 (9,95)	5,25 (7,72)
EDI - Insécurité sociale (SD)	6,89 (4,17)	4,67 (4,56)	8,12 (4,22)	6 (5,42)
EDI - Total (SD)	76,2 (46,7)	45,8 (28,1)	91,6 (30,5)	80,9 (38,19)

Tableau 3 : caractéristiques des patientes recrutées. SD = Déviation Standard ; IMC = Indice de Masse Corporelle ; EDI = Eating Disorder Inventory ; n = nombre de sujets ; V1 = première visite ; V2 = seconde visite, environ 18 mois après. * $p < 0.05$ entre V1 et V2

4.3. Objectif principal : facteur(s) pronostique(s)

Le terme « Px » fait référence à une patiente, où « x » est son numéro propre.

L'intensité de détection des protéines des échantillons P5 de V1M, P6 de V2R, P7 de V2M et P14 de V1R (la correspondance entre les patientes et le numéro de l'échantillon est disponible en Annexe 2) est plus faible que sur l'ensemble des autres échantillons, même après normalisation. Il s'agit d'un biais de préparation des échantillons. Ces 4 échantillons ont donc été retirés des analyses statistiques ; étant de groupes différents, ceux-ci ne sont pas déséquilibrés (8 échantillons par groupe).

L'analyse en cluster (Figure 4) ne permet pas de former de groupes d'échantillons similaires ; il est donc nécessaire d'analyser en profondeur les protéines identifiées pour mettre en évidence de potentiels biomarqueurs pronostiques.

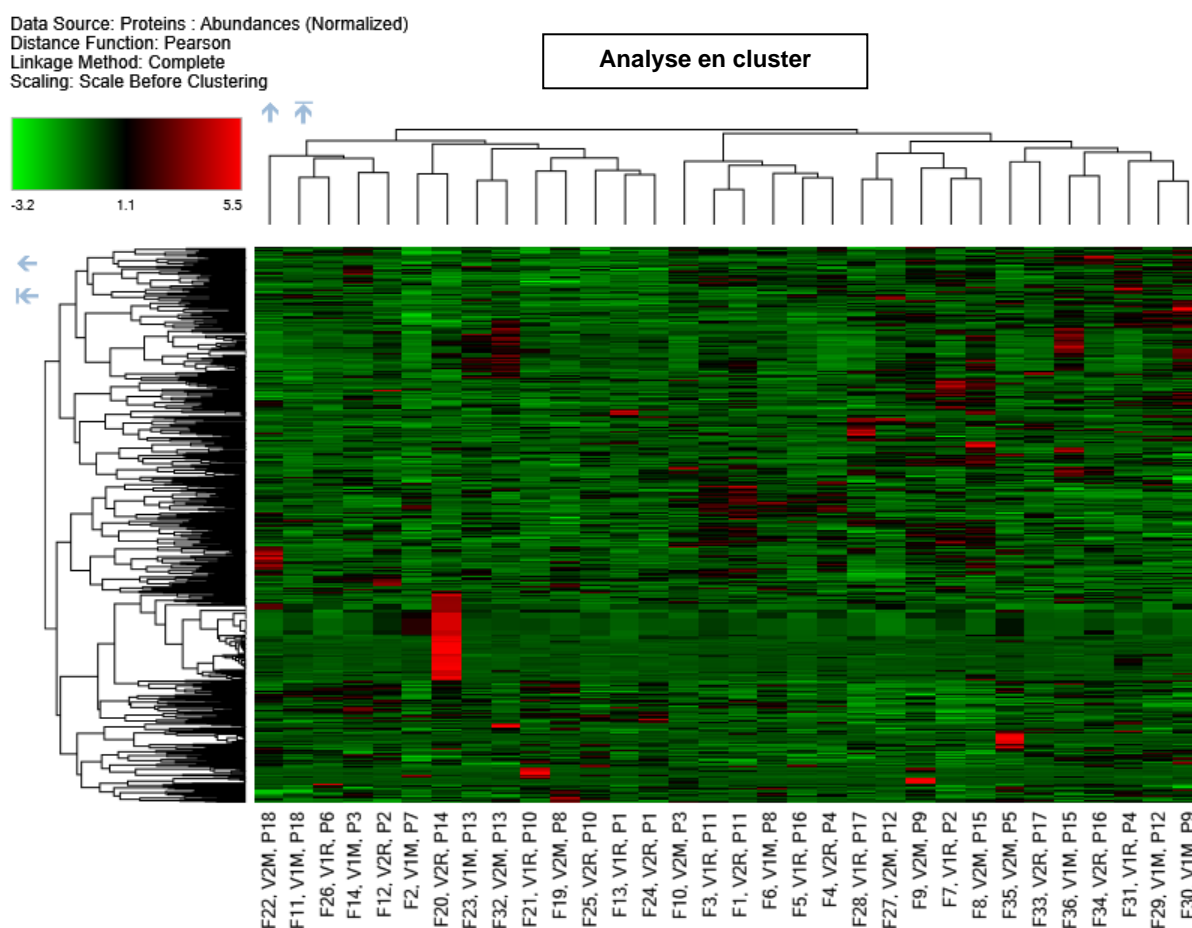


Figure 4 : Représentation en cluster des échantillons. À gauche, les protéines identifiées ; en haut, les échantillons ; la couleur représente l'intensité de détection des protéines (vert : plus que la moyenne, rouge : moins que la moyenne). V1R = groupe rémission, visite d'inclusion ; V2R = groupe rémission, diagnostic de rémission ; V1M = groupe malade, visite d'inclusion ; V2M = groupe malade, visite de suivi.

Lors de la comparaison des groupes V1R et V1M (Figures 5, puis 6 à 10), on met en évidence 5 protéines d'intensité différente statistiquement significative (p-value ajustée) et dont la quantification repose sur au moins deux peptides uniques : les

protéines Insulin-like growth factor-binding protein 4 (IGFBP4 ; $p = 0.008$), facteur de coagulation XII ($p = 0.016$) Tsukushin (TSK ; $p = 0.023$) et Haptoglobuline ($p = 0.034$) sont plus présentes dans le groupe V1R. L'immunoglobuline kappa variable 4-1 ($p = 0.027$) est moins présente dans le groupe V1R.

Enfin, on peut aussi nommer quatre autres protéines : la protéine Ataxin-2-like et fructose-bisphosphate aldolase C sont statistiquement moins présentes dans le groupe V1R ($p < 0.002$), mais n'ont été quantifiées qu'avec un seul peptide unique. La protéine Ostéomoduline (Figures 5 et 11) a, elle, tendance à être moins présente dans le groupe V1R ($p = 0.06$) et Apolipoprotéine C-II (Figures 5 et 12) à être plus présente ($p = 0.13$), mais leur intérêt repose dans leur implication déjà montrée dans des troubles psychiatriques.

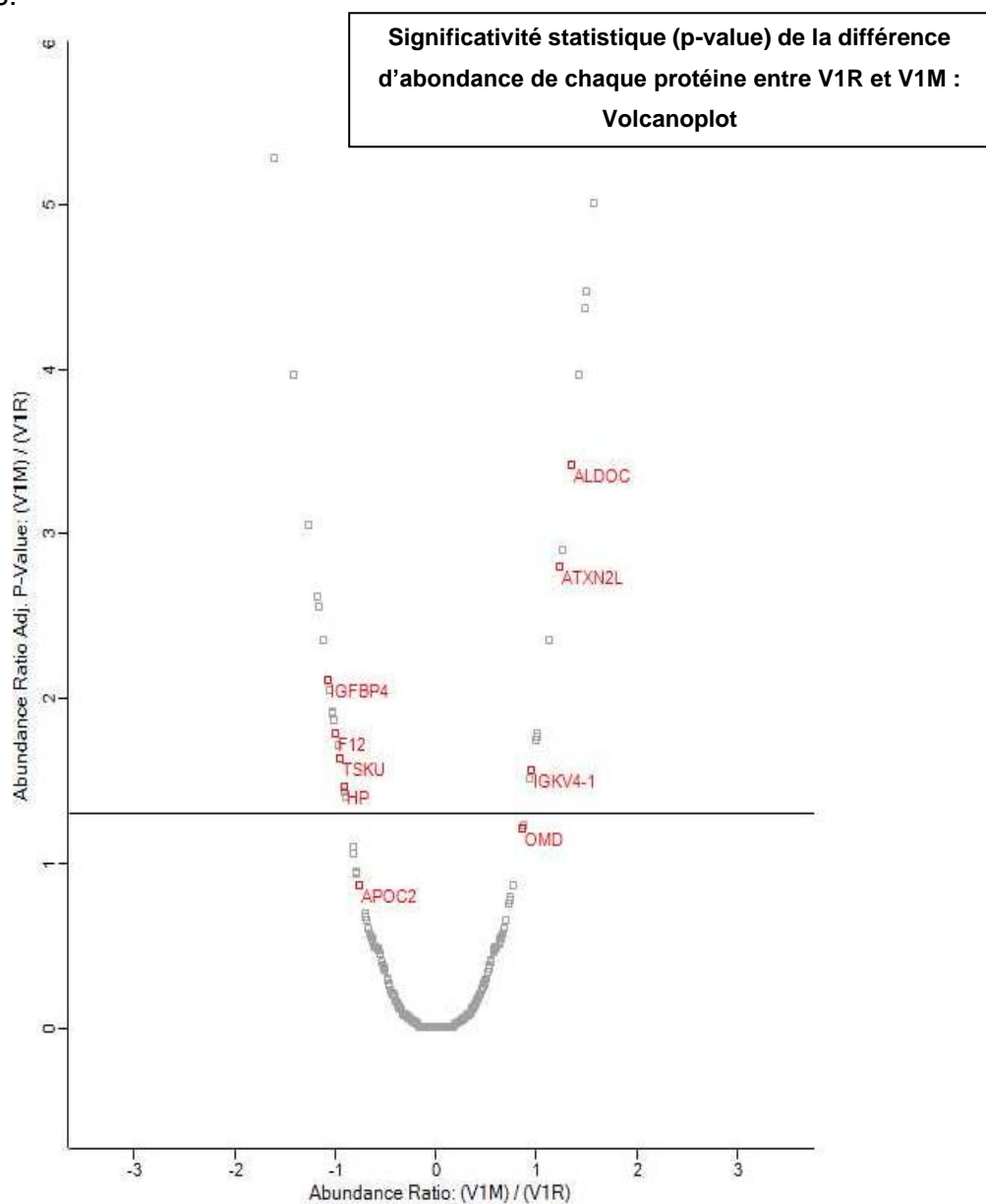


Figure 5 : Volcanoplott représentant le rapport d'abondance protéine entre V1M et V1R en abscisse, et la significativité de cette différence par un test de Student en ordonnée. La ligne représente le seuil de significativité statistique. Toute protéine au-delà du seuil n'ayant été identifiée qu'avec un peptide (pour laquelle la quantification manque de fiabilité) est grisée.

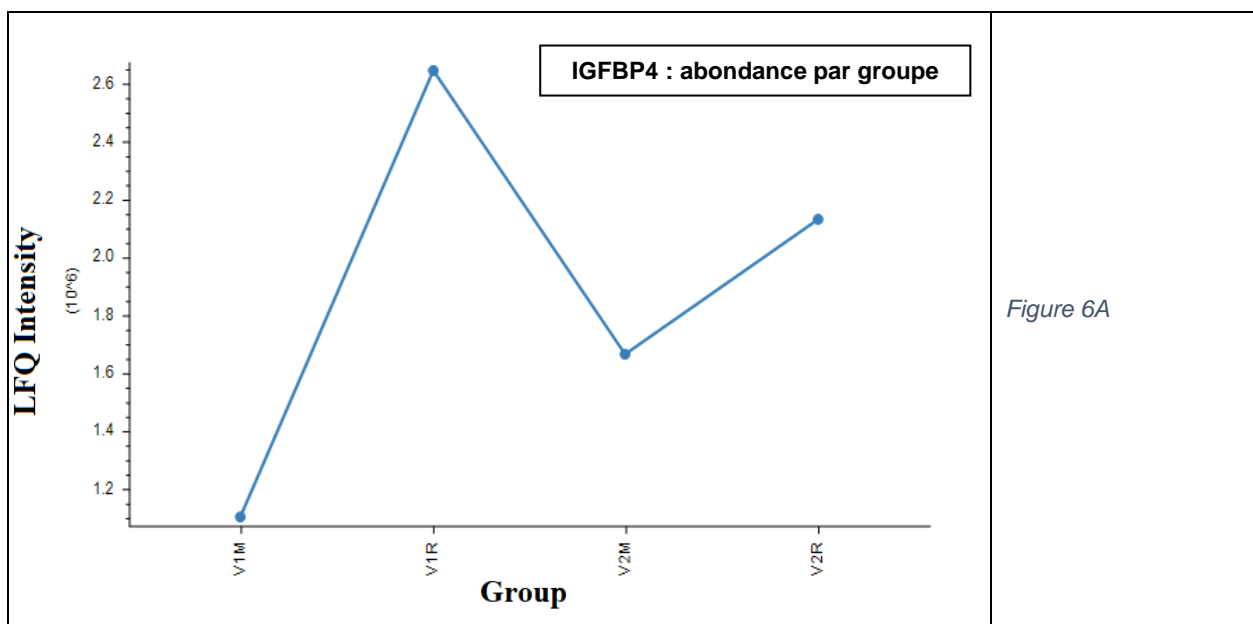
4.3.1. Protéine IGFBP4

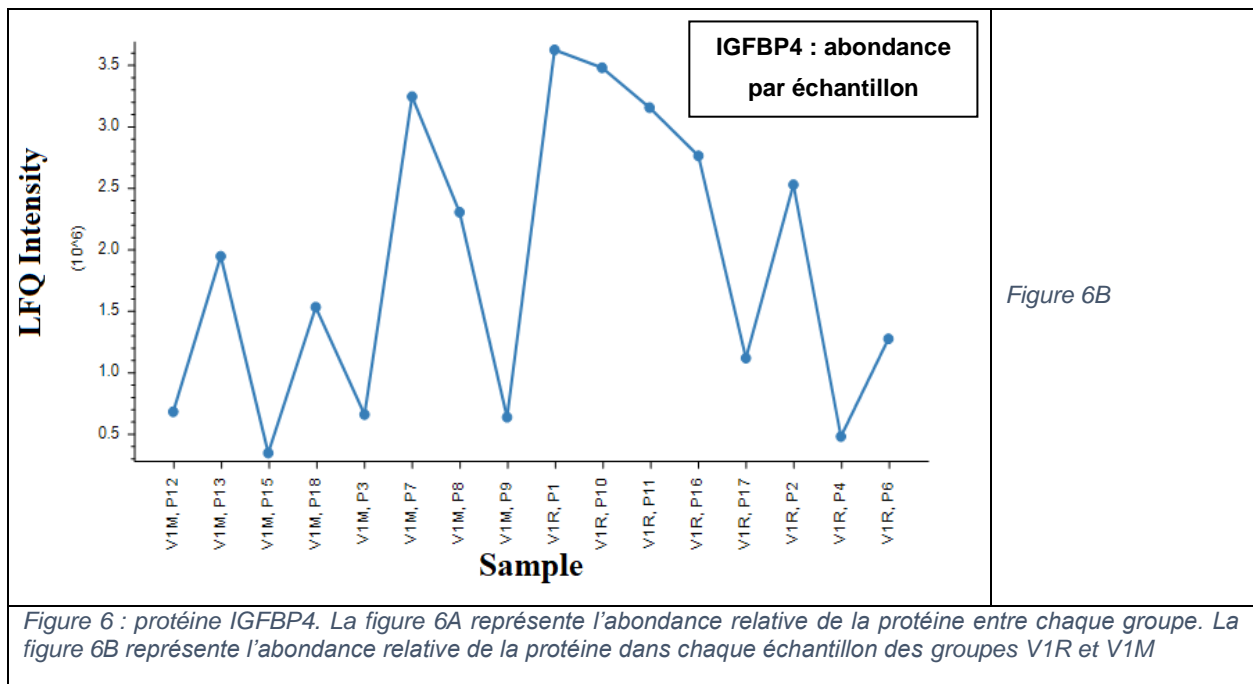
La protéine IGFBP4 est statistiquement retrouvée comme plus abondante dans le groupe V1R (Figure 5A et 5B). Elle a été identifiée de façon certaine (ou par un signal compatible) dans l'ensemble des échantillons, grâce à deux peptides uniques. Sa quantification est donc satisfaisante.

Dans le groupe V1R, on observe que la concentration est plus faible en P17 et P4 : il s'agit de deux patientes à la durée d'évolution des troubles les plus élevées. L'ensemble du groupe V1M a une durée d'évolution des troubles plus élevée que le groupe V1R.

À l'inverse, dans le groupe V1M, la concentration est plus élevée en P7 et P8, patientes à l'IMC le plus élevé. Dans l'ensemble, cette protéine présente de très fortes fluctuations de son abondance, quel que soit le groupe.

Une abondance plus élevée de cette protéine paraît être, entre autres, un témoin d'une courte durée d'évolution de la maladie et d'un IMC élevé, facteurs déjà connus comme étant de bon pronostic.



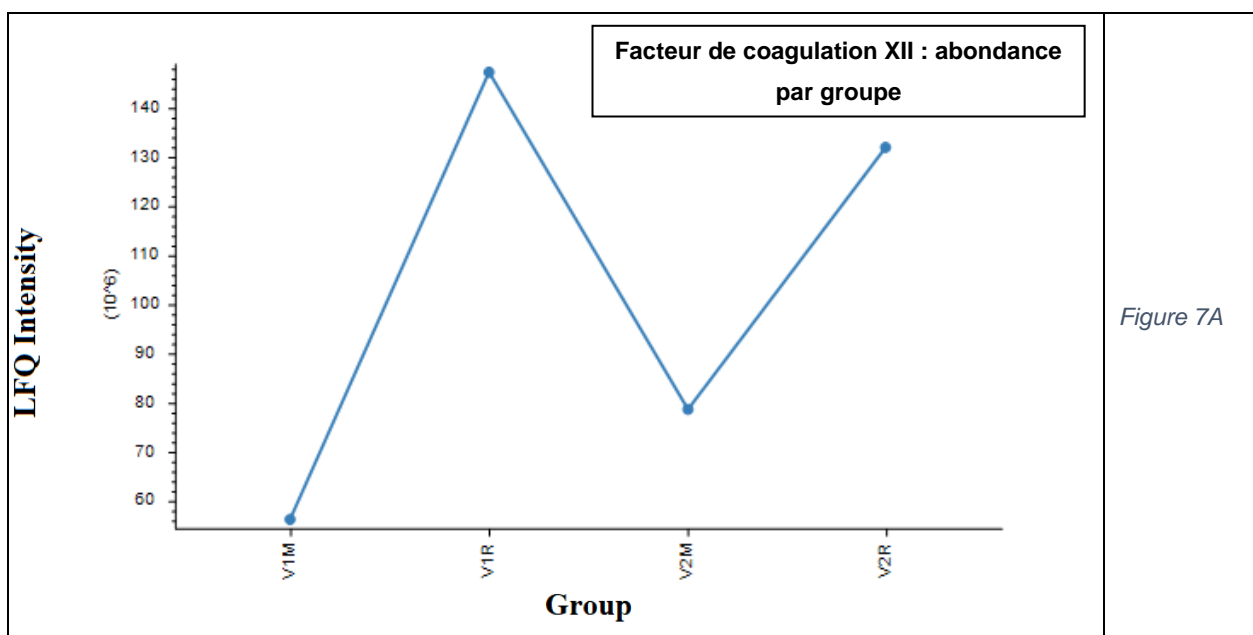


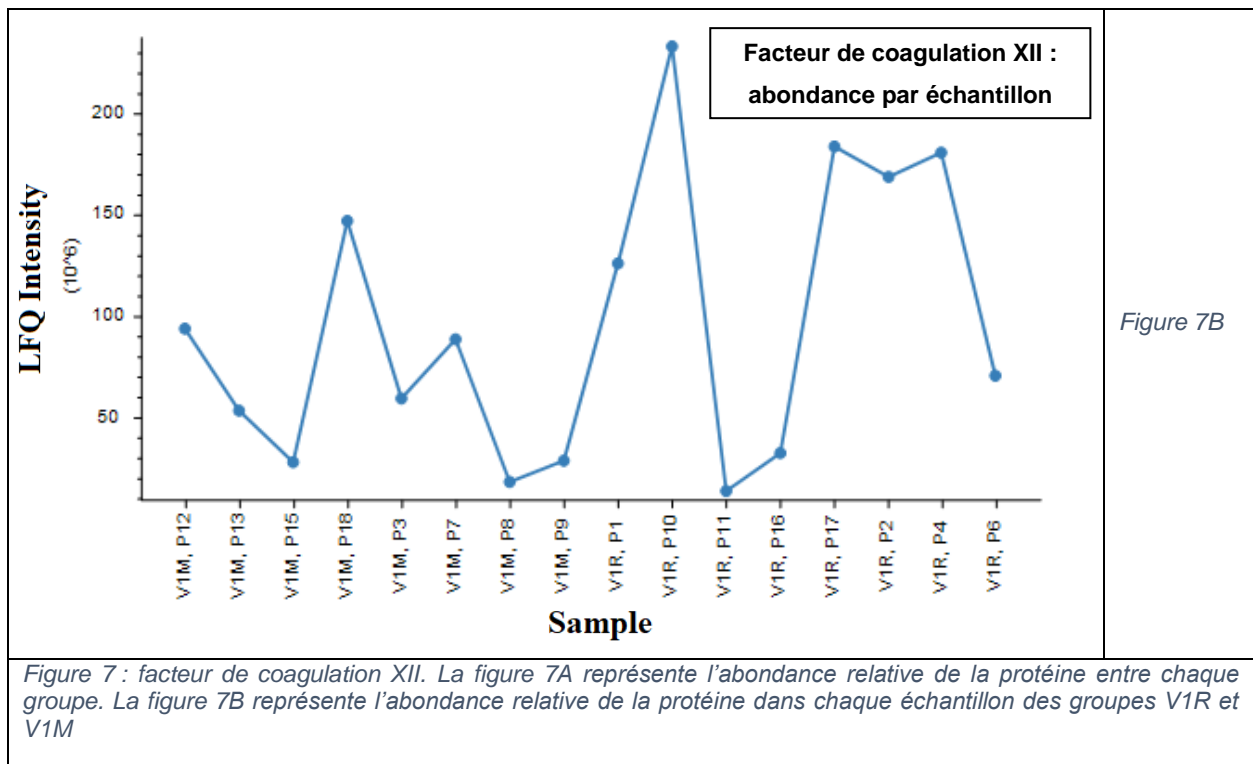
4.3.2. Facteur de coagulation XII

Cette protéine est retrouvée comme étant plus abondante dans le groupe V1R (Figure 6A). Elle a été identifiée de façon certaine dans l'ensemble des échantillons, grâce à 19 peptides uniques. Sa quantification est donc excellente.

Une analyse plus fine des concentrations de cette protéine (Figure 6B) montre une très forte variabilité de sa concentration, quel que soit le groupe. Il ne semble pas non plus y avoir de lien avec l'IMC, l'âge ou la durée d'évolution de la maladie.

Son abondance paraît être influencée par d'autres facteurs, non contrôlés ici, que le pronostic.



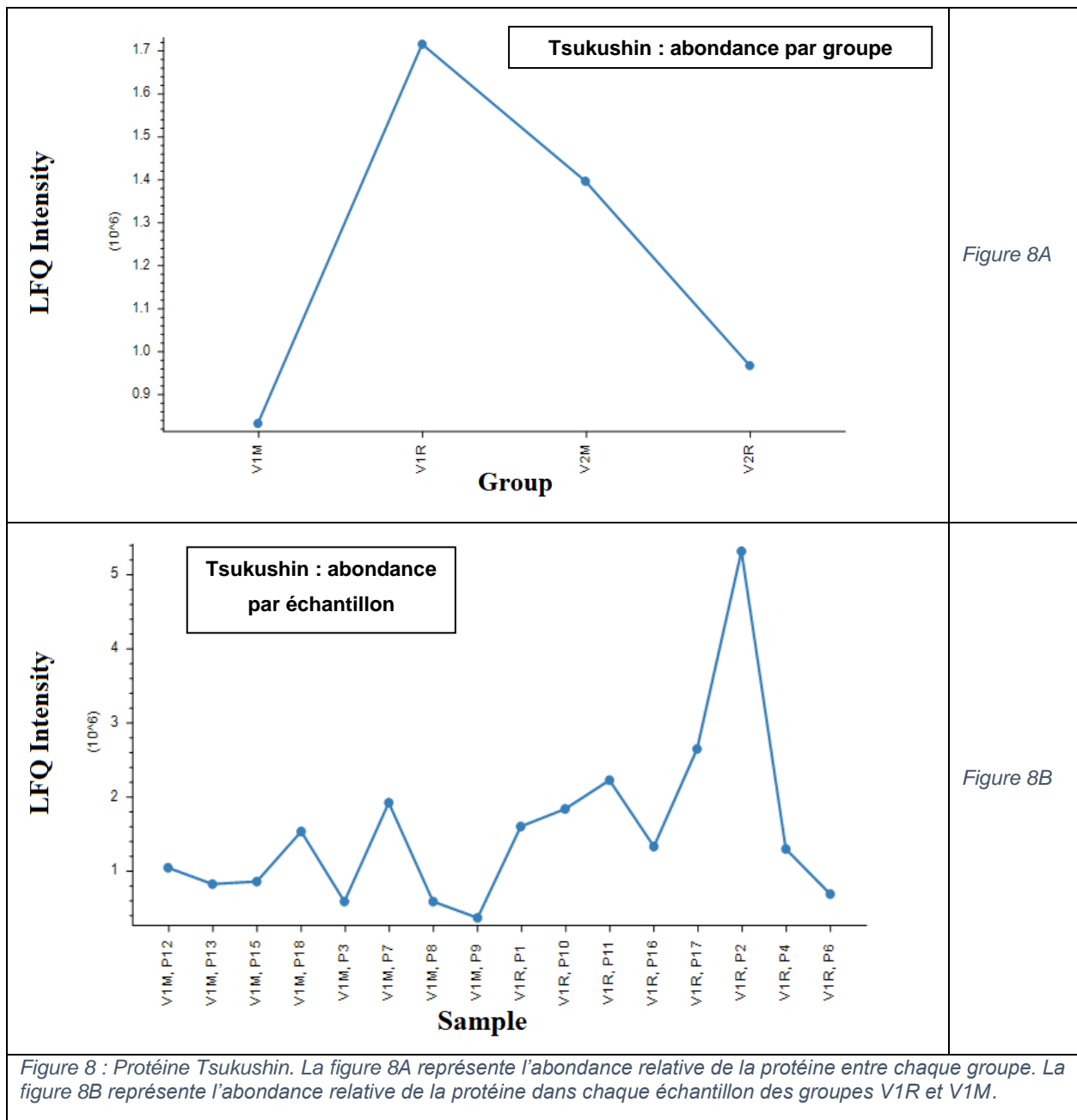


4.3.3. Tsukushin

Cette protéine est retrouvée comme étant plus abondante dans le groupe V1R (Figure 7B). Elle a été identifiée de façon certaine (ou par un signal compatible) dans l'ensemble des échantillons sauf P2 du groupe V2R, grâce à deux peptides uniques. Sa quantification est donc satisfaisante, surtout dans les groupes V1R et V1M.

À l'exception de P7 et P18 du groupe V1M, cette protéine semble effectivement être plus présente dans le groupe V1R. Ces deux échantillons ne semblent pas présenter de trait commun sur le plan de l'IMC, de l'âge ou de la durée d'évolution des troubles.

Dans l'ensemble, la protéine Tsukushin paraît être effectivement plus présente chez les patientes dont l'évolution des troubles sera favorable ; néanmoins, d'autres facteurs semblent influencer son abondance.

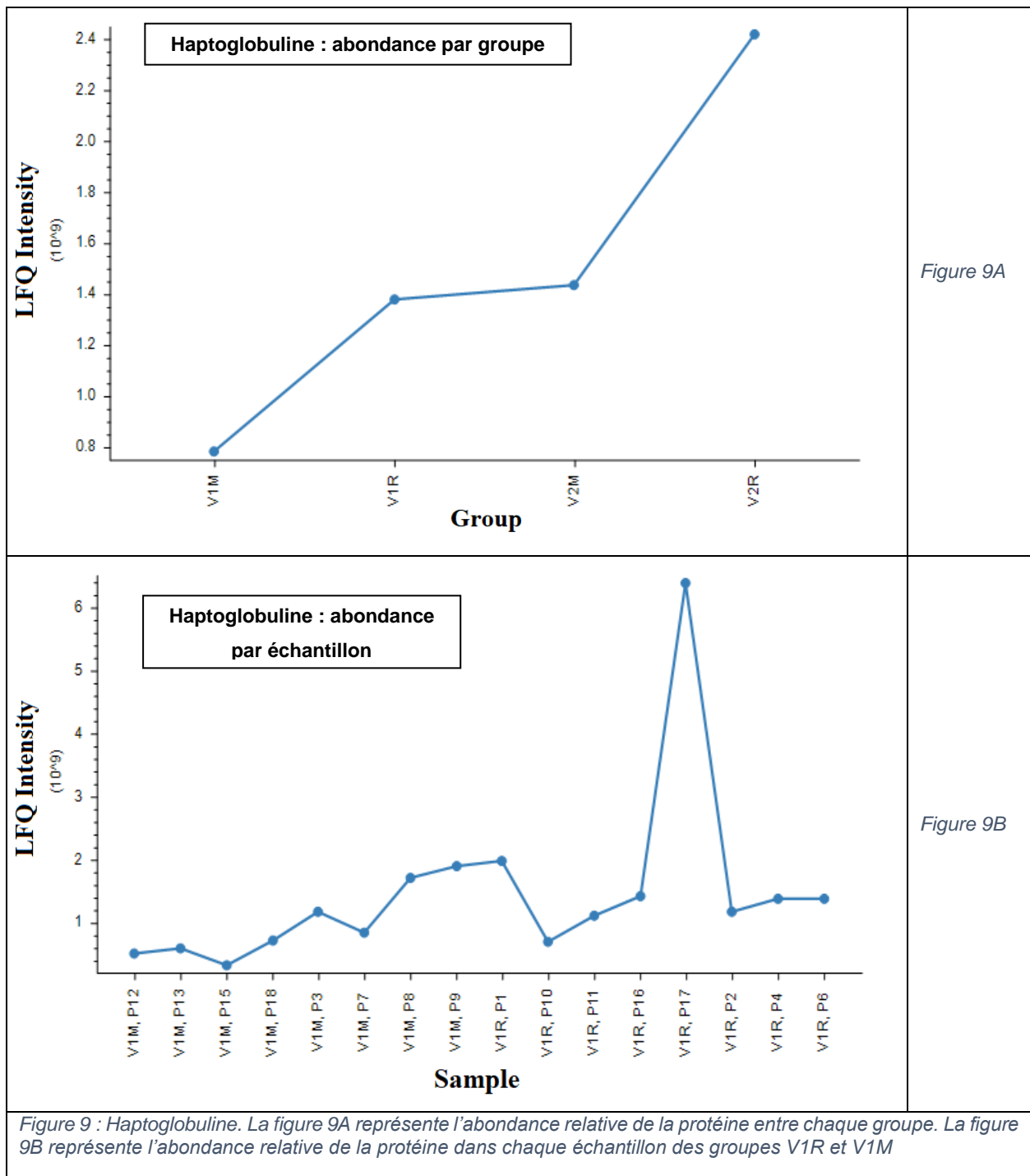


4.3.4. Haptoglobuline

L'haptoglobuline paraît être plus présente dans le groupe V1R par rapport au groupe V1M (Figure 8A). Elle a été identifiée de façon certaine dans l'ensemble des échantillons, grâce à 32 peptides uniques. Sa quantification est donc excellente.

Néanmoins, une analyse plus précise de l'abondance de cette protéine (Figure 8B) met en évidence des concentrations similaires entre chaque groupe, et une très forte présence dans l'échantillon 17 induisant un fort déséquilibre.

L'abondance de l'haptoglobuline ne semble pas être corrélée au pronostic des patientes.



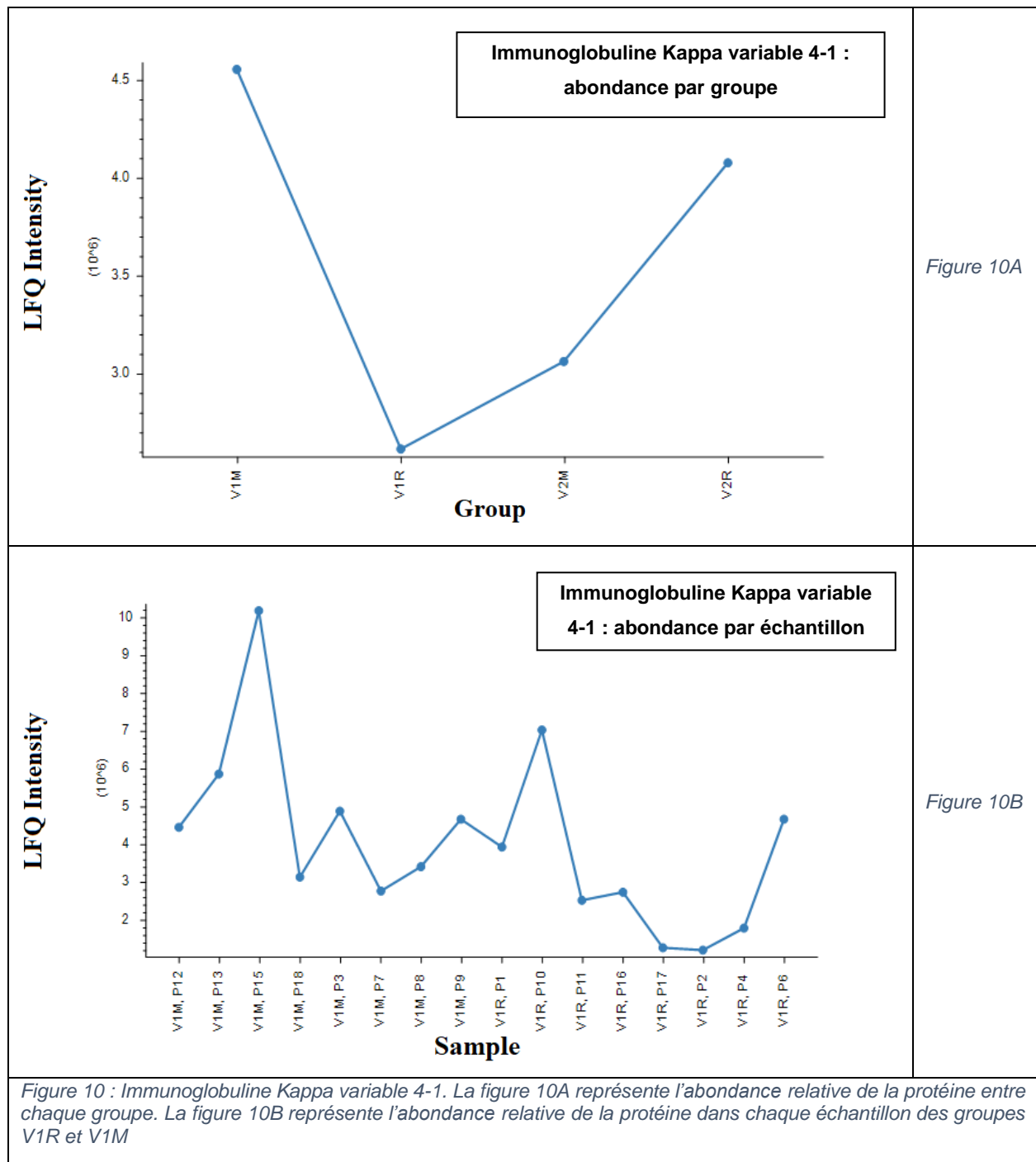
4.3.5. Immunoglobuline Kappa variable 4-1

L'abondance de cette immunoglobuline paraît être plus faible chez les patientes du groupe V1R (Figure 9A). Elle a été identifiée de façon certaine (ou par un signal compatible) dans l'ensemble des échantillons, grâce à trois peptides uniques. Sa quantification est donc satisfaisante.

Avec une analyse plus détaillée de son abondance dans chaque échantillon (Figure 9B) on met principalement en évidence de très fortes fluctuations, qui ne semblent

pas être liées au pronostic des patientes. La différence provient de trois patientes pour lesquelles l'immunoglobuline est présente en très faible quantité.

Son abondance paraît être influencée par d'autres facteurs, non contrôlés ici, que le pronostic.



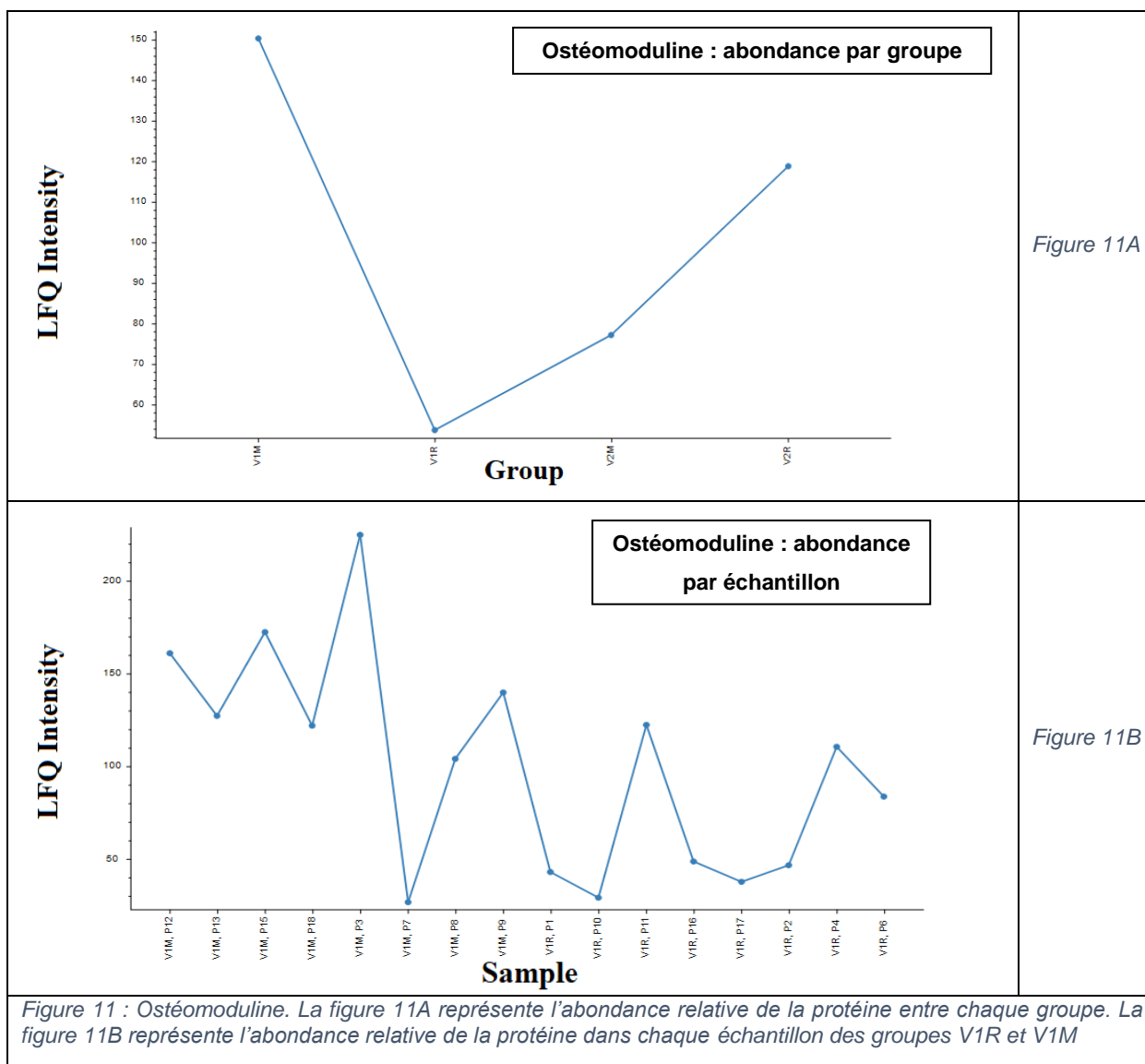
4.3.6. Ostéomoduline

Cette protéine a tendance à être moins présente dans le groupe V1R par rapport au groupe V1M (figure 10A). Le résultat n'est plus significatif après correction pour tests

multiples. Elle a été identifiée de façon certaine (ou par un signal compatible) dans l'ensemble des échantillons sauf deux (P10 et P17 du groupe V1R), grâce à trois peptides uniques. Sa quantification est donc satisfaisante.

Avec une analyse plus détaillée de l'abondance de cette protéine dans chaque échantillon, on repère son absence dans chez la patiente P7 du groupe V1M. Elle a parmi les IMC les plus élevés avec P8, est la patiente la plus âgée avec P3, P12 et P15 et a la durée d'évolution des troubles la plus élevée avec P15 ; néanmoins, l'abondance de cette protéine est similaire chez ces autres patientes. Dans le groupe V1R, les patientes P4 et P11 ont les IMC les plus élevés avec P10.

Au total, il est possible que cette protéine soit moins présente dans le groupe V1R. La protéine étant moins présente dans ce groupe, ce défaut d'identification va dans le même sens, mais néanmoins biaiser l'analyse statistique en faveur de V1R.

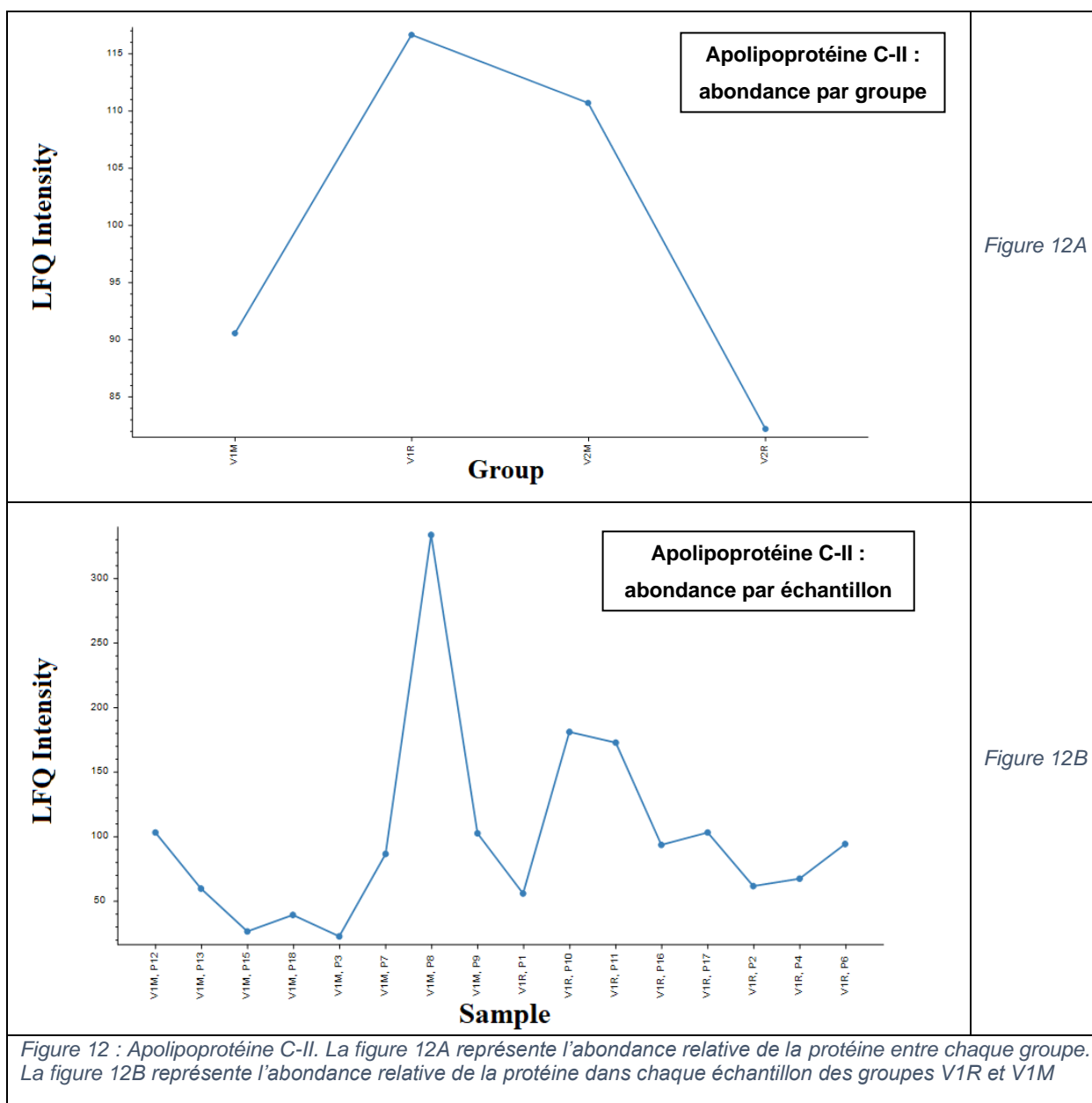


4.3.7. Apolipoprotéine C-II

Cette protéine a tendance à être plus présente dans le groupe V1R par rapport au groupe V1M (figure 11A). Elle a été identifiée de façon certaine (ou par un signal compatible) dans l'ensemble des échantillons, grâce à quatre peptides uniques. Sa quantification est donc très satisfaisante.

En analysant en détail les fluctuations d'abondance, il semble se détacher une influence de l'IMC dans les résultats : la patiente P8 est celle présentant l'IMC le plus élevé du groupe V1M, la patiente P7 arrivant en deuxième. Dans le groupe V1R, les patientes P10 et P11 sont celles à l'IMC le plus élevé.

Il semble au total que les fluctuations de l'apolipoprotéine C-II soient un témoin de l'IMC (lui-même corrélé au pronostic des patientes).



4.3.8. Autres

La protéine Ataxin-2-like est statistiquement moins abondante dans le groupe V1R. Néanmoins, elle n'a été quantifiée qu'avec l'aide d'un seul peptide unique, sa quantification manque donc de fiabilité. Elle a été identifiée dans 4 échantillons du groupe V1M, et dans 3 échantillons du groupe V1R.

La protéine fructose-bisphosphate aldolase C est statistiquement moins abondante dans le groupe V1R. Néanmoins, elle n'a été quantifiée qu'avec l'aide d'un seul peptide unique, sa quantification manque aussi de fiabilité. Elle a été identifiée dans 6 échantillons du groupe V1M, et dans seulement 2 échantillons du groupe V1R.

Au total, leur identification repose sur trop peu d'information, et la fluctuation qui en résulte rend le résultat peu fiable.

5. Discussion

5.1. Interprétation des résultats

Les résultats ont permis de valider le protocole expérimental utilisé pour l'étude du protéome plasmatique de patientes souffrant d'anorexie mentale. Les kits d'immunodéplétion et de digestion ont démontré une excellente efficacité et reproductibilité dans le traitement des échantillons.

Les groupes formés ont montré une comparabilité initiale acceptable de l'ensemble des caractéristiques : il n'est pas retrouvé de différence statistiquement significative. Néanmoins, l'analyse en détail montre que le groupe V1R a tendance à être plus jeune, avoir une maladie évoluant depuis moins de temps et avoir des résultats à l'EDI plus faibles que le groupe V1M. Ce sont des facteurs déjà montrés comme influençant le pronostic des patientes souffrant d'anorexie mentale (27,28), et induisant de fait un biais de confusion.

Un certain nombre de protéines ont montré une abondance relative différente entre les groupes V1R et V1M. Néanmoins, l'analyse en détail montre d'importantes fluctuations en fonction des échantillons qui empêchent d'interpréter correctement les différences observées. C'est par exemple le cas de l'**haptoglobuline**, du **facteur de coagulation XII** et de l'**immunoglobuline Kappa variable 4-1** : les différences observées sont liées à d'autres facteurs que leur potentiel caractère pronostique de l'évolution de la maladie. L'abondance de l'haptoglobuline est trop fluctuante, une unique valeur extrême déséquilibre l'analyse du facteur de coagulation et enfin il existe un

manque de fiabilité dans la quantification des immunoglobulines par spectrométrie de masse. **Il s'agit ici de faux positifs, où les résultats statistiquement significatifs sont liés à des artefacts d'identification, ou à valeurs extrêmes ou de trop grande variabilité.**

La protéine **IGFBP-4** présente une abondance plus élevée lorsque l'IMC est haut, et à l'inverse plus faible lorsque la durée d'évolution des troubles est élevée. Elle semble être un témoin biologique de marqueurs pronostiques cliniques déjà connus qu'est la durée d'évolution des troubles avant prise en charge et sévérité des troubles (22,27,28).

Sa concentration ne semble pas modifiée entre les patients souffrant d'anorexie mentale et les sujets sains (127). Cette protéine (128) se lie à l'Insulin Growth Factor 1 (IGF-I) et inhibe son action. IGFBP4 est sensible à la protéolyse par la protéine pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A), ce qui augmente l'IGF-I durant la grossesse. Ses liens avec l'hormone de croissance GH sont encore en pleine investigation (129). IGF-I est impliquée dans l'anabolisme osseux : une augmentation de l'abondance d'IGFBP4 induirait une baisse de l'IGF-I, ayant pour conséquence une moindre formation osseuse (130).

Les taux en hormone de croissance GH et en IGF-I sont perturbés dans l'anorexie mentale : la concentration en GH est augmentée, et celle en IGF-I est diminuée (130,131). La dénutrition présente dans l'anorexie mentale induit une résistance périphérique à la GH. Celle-ci conduit à un défaut de sécrétion d'IGF-I et de son rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de GH : la concentration en GH augmente.

Au total, l'implication de la protéine IGFBP4 dans cet axe dérégulé est encore en pleine investigation.

L'abondance en IGFBP-4 paraît être un témoin biologique de la présence de facteurs pronostics cliniques. Il s'agit ici d'une première mise en évidence d'une corrélation entre IGFBP-4 et la durée de la maladie. Son lien entre sa forte abondance et un IMC élevé paraît contraire aux mécanismes physiopathologiques connus, et se doit d'être confirmé puis investigué.

La protéine **Tsukushin** paraît être plus présente chez les patientes dont le pronostic est bon. Il s'agit d'une protéine connue pour être impliquée, au stade embryonnaire, dans le développement de multiples organes dans les modèles animaux (132) : crête neurale, œil, poils ou encore la commissure cérébrale antérieure.

Elle est aussi impliquée dans les processus de somitogénèse, de chondrogénèse ou encore la cicatrisation.

Son rôle à l'âge adulte n'a été que très récemment mis en évidence. Tsukushin est une hépatokine dont sa production et sa sécrétion par le foie sont conditionnées par un statut inflammatoire hépatique ou un stress du réticulum endoplasmique ; notamment en présence d'une stéatose hépatique (133–135). Son action est, elle, plus débattue. Une équipe (133,134) affirme qu'en réponse à une stéatose hépatique et/ou une obésité, Tsukushin est synthétisée, sécrétée et agit au niveau des adipocytes en inhibant la néo-innervation sympathique du tissu adipeux brun et empêchant ainsi leur action de thermogénèse. Un knock-out de Tsukushin protègerait de l'apparition d'une stéatose hépatique et d'une obésité suite à un régime hypercalorique. Aucun de ces résultats n'a été répliqué par une seconde équipe (136), qui met en cause leur modèle murin. Ils observent (135) qu'en réponse à un stress hépatique et/ou à une augmentation des triglycérides sanguins (obtenue notamment par lipolyse), Tsukushin baisse la quantité de lipides HDL, empêchant la réentrée d'acides gras au niveau hépatique et leur conversion en acide biliaire.

On peut ainsi supposer que chez les patientes souffrant d'anorexie mentale avec bon pronostic, la lipolyse accrue (notamment par l'action de la GH) stimule la synthèse de **Tsukushin qui aura une action de conservation énergétique : en empêchant la conversion des acides gras en acides biliaires et/ou en limitant la thermogénèse du tissu adipeux brun**. L'absence d'augmentation de la protéine Tsukushin serait anormale, et donc de mauvais pronostic. **Les résultats concernant les fluctuations cette protéine sont donc prometteurs, et nécessitent validation.**

La protéine **ostéomoduline** semble être moins abondante chez les patientes dont le pronostic est favorable. Il s'agit d'une protéine impliquée dans la formation osseuse (137). Très récemment, une étude du protéome plasmatique de patients souffrant d'athérosclérose aortique a montré une corrélation entre une faible abondance d'ostéomoduline et la présence d'un diabète de type 2, quel que soit le statut d'athérosclérose (138). Une seconde étude a déterminé le protéome plasmatique de patients souffrant de maladie de Parkinson dans l'objectif de mettre en évidence des biomarqueurs diagnostiques (139) ; une forte abondance d'ostéomoduline, entre autres, a le potentiel d'être un biomarqueur diagnostique de la maladie.

L'ostéomoduline semble montrer des fluctuations liées à des pathologies tant métaboliques que neurologiques : elle pourrait donc avoir un authentique intérêt dans l'anorexie mentale.

L'apolipoprotéine C-II paraît être plus abondante chez les patientes avec un bon pronostic, et paraît liée à l'IMC. Il s'agit d'une protéine impliquée dans le métabolisme des triglycérides, et peut être la cause d'hypertriglycéridémies familiales si son gène est muté (140). **Il n'a jamais été mis en évidence de lien avec une pathologie psychiatrique, mais son implication dans le métabolisme énergétique peut la lier à la physiopathologie de l'anorexie mentale, et notamment ses connexions avec l'IMC.**

La protéine **ataxin-2-like** serait moins abondante chez les patientes avec un bon pronostic. Néanmoins, les données permettant sa correcte quantification dans l'ensemble des échantillons manquent, et de fait les résultats sont trop incertains. Il s'agirait d'une protéine impliquée dans la régulation du poids, et la diminution de son expression dans un modèle animal de régime limiterait leur perte de poids (141). Des variants du gène de cette protéine sont associés à l'obésité (142,143). **S'agissant d'une protéine associée aux mécanismes de régulation du poids, elle peut potentiellement être impliquée dans l'anorexie mentale.**

Tout comme la protéine ataxin-2-like, la protéine **fructose-bisphosphate aldolase C** paraît être moins abondante dans le groupe V1R, mais son identification et sa quantification repose sur une trop faible quantité de données. Il s'agit d'une protéine impliquée dans la glycolyse. Il s'agit de la protéine la plus souvent retrouvée comme différentiellement exprimée dans le protéome cérébral des patients souffrant de schizophrénie, le sens de variation dépendant de la zone cérébrale étudiée (144). Son expression diffère aussi chez les patients souffrant de trouble bipolaire, ou de trouble dépressif (144). **Il s'agit ainsi d'une protéine déjà connue comme impliquée dans d'autres troubles psychiatriques, et pourrait être le témoin d'une anomalie centrale chez toutes ou une partie des patientes.**

Le protocole expérimental a montré sa fiabilité concernant son efficacité et sa reproductibilité.

Sans que les différences soient significatives, les groupes sont déséquilibrés sur l'âge, la durée d'évolution et la sévérité de la maladie : l'ensemble crée un biais de confusion non négligeable.

Les fluctuations protéiques témoignent de la présence de ces biais de confusion. Néanmoins, quelques protéines sont vues différemment dans le groupe V1R de façon significative, et montrent un intérêt sur le plan physiopathologique : Tsukushin, IGFBP-4 et Ostéomoduline.

5.2. Forces et faiblesses

Il y a plusieurs facteurs qu'il a fallu prendre en considération pour limiter des biais dans ce protocole, tant sur le recrutement clinique que sur la préparation des échantillons (145).

Le nombre de sujets par groupe est faible (neuf patientes par groupe). Il ne s'agit néanmoins là pas d'une limite dans ce type de protocole : nous avons réalisé une étude protéomique pilote de découverte, dont le nombre de sujets requis par groupe est d'une dizaine (124).

Nous avons sélectionné des patients souffrant d'anorexie mentale sans switch diagnostic ni comorbidité psychiatrique, dans l'objectif de ne pas mettre en évidence des différences de protéome liées à d'autres pathologies. Les patients souffrant par exemple de dépression présentent un protéome plasmatique différent des sujets contrôle (146). Les patients souffrant d'anorexie mentale sans comorbidité ni variabilité diagnostique représentent une minorité de patients avec un trouble du comportement alimentaire (147) ; l'objectif de ce travail était néanmoins de s'affranchir de différences qui pouvaient être liées aux comorbidités.

Nous avons ici comparé le protéome de patientes au pronostic différent, mais aussi le protéome des patientes à deux visites différentes. Il a été montré une variabilité inter- et intra-individuelle du protéome plasmatique (148). La construction de cette étude a permis de limiter la variabilité interindividuelle.

Les deux groupes ont été appariés sur différents facteurs pour limiter les biais différentiels. L'appariement sur l'âge permet d'éviter des différences de protéome lié à la vieillesse (148). L'appariement sur l'IMC initial et la durée des troubles permet d'éviter de mettre en évidence des différences liées à un état de dénutrition plus long et/ou plus

sévère. Enfin, l'appariement sur la durée de congélation des tubes a permis d'éviter un biais différentiel de perte d'information protéique lié à une longue congélation. **Néanmoins, les patientes du groupe Rémission V1 sont plus jeunes, ont une durée d'évolution plus courte et un EDI plus faible que les patientes du groupe Malade V1, ce qui représente un réel biais.**

L'étude actuelle analyse le plasma des patients et non le sérum, comme recommandé (149). La méthode de prélèvement puis de préparation du plasma a pu affecter l'intégrité et l'abondance des protéines (145,150). Néanmoins, la méthode de prélèvement est protocolisée lors de l'admission dans la cohorte, et l'ensemble des échantillons ont été préparés de façon équivalente.

La durée de congélation et le nombre de cycles de congélation-décongélation sont à prendre en considération (151). Il est montré qu'une congélation de 4 ans impacte faiblement l'intensité et le nombre de pics, contrairement au nombre de cycles congélation/décongélation. Dans le protocole actuel, chaque échantillon a subi un seul cycle : lors de l'alicotage. On peut ainsi estimer que la perte d'information est minime (152). De plus, l'ensemble des échantillons ont subi le même traitement, il s'agirait ainsi d'un biais non différentiel. Un dosage de la delta-S-Cys-Albumine aurait pu être réalisé pour estimer la durée de dégel de chaque échantillon et s'assurer de leur comparabilité (153).

L'efficacité et la reproductibilité du protocole expérimental ont été validées à chaque étape. Le kit d'immunodéplétion a été choisi pour ses excellentes performances face à d'autres matériels (118) ; les contrôles ont montré son efficacité et sa reproductibilité dans la simplification de l'échantillon. Il est néanmoins possible que des protéines liées à l'albumine aient été ainsi déplétées. La digestion trypsique sur colonne (comparée à la digestion sur gel) permettait de réduire le nombre de manipulations à réaliser et ainsi diminuer la variabilité interéchantillon ; les contrôles ont permis de s'assurer de ses excellentes performances en termes de reproductibilité et de profondeur d'analyse.

La quantification a été réalisée sans marquage (« Label-free ») avec la méthode de compte de spectre (« spectral counting method ») : la quantité relative de chaque protéine est estimée par le nombre de peptides détectés qui lui sont assignés. Cette méthode permet une semblable voire meilleure précision que la quantification par marquage (154).

L'analyse des données a été réalisée par le logiciel MaxQuant (126). Les spectres obtenus ont été comparés aux spectres protéiques théoriques de la base de données UniProtKB (v2020 02), regroupant TrEMBL (base de données générée automatiquement) et Swiss-Prot (base de données annotée générée manuellement) avec un total de 74.823 entrées. Ce très grand nombre de protéines référencées permet de rendre négligeable la possibilité d'obtenir un spectre expérimental qui ne correspond à aucun spectre théorique.

Les différents contrôles expérimentaux ont permis de valider l'efficacité et la reproductibilité du protocole.

Néanmoins, malgré l'attention particulière qui leur a été portée, il a persisté un trop grand nombre de biais de confusion dans la formation des groupes. Ceux-ci ont majoré les fluctuations d'abondance protéique déjà majeure dans un fluide biologique tel que le plasma.

Les résultats concernant les protéines Tsukushin, IGFBP-4 et Ostéomoduline sont encourageants, mais nécessitent validation et reproduction.

5.3. Perspectives

Les résultats actuels, notamment concernant la protéine Tsukushin et son rôle physiopathologique supposé, sont encourageants. Afin de valider son abondance différentielle entre les patientes à bon et mauvais pronostic, il est prévu de valider ces résultats. Dans un premier temps, un dosage de la protéine Tsukushin sera réalisé dans les échantillons utilisés dans cette étude, par ELISA. Si les résultats d'une concentration différentielle entre les deux groupes se confirment, un dosage par ELISA de cette protéine sera effectué sur un plus grand nombre d'échantillons ; ceux-ci proviendront aussi de la biobanque du service des Troubles du Comportement Alimentaire de l'hôpital Lapeyronie.

Les variations d'abondance des autres protéines sont impactées par un manque d'homogénéisation des groupes initiaux sur des facteurs de confusion potentiels. Il est ainsi nécessaire de valider ces résultats par une seconde étude protéomique utilisant le même protocole expérimental. Une attention particulière sera portée dans la comparabilité des groupes sur : l'âge, l'IMC, la durée d'évolution de la maladie et la sévérité des troubles évaluée par une échelle telle que l'EDI. Les patientes auront

toujours un diagnostic d'anorexie mentale sans comorbidité ni switch diagnostic vers un autre trouble du comportement alimentaire ; le recrutement se fera à partir d'une cohorte prospective, afin de réduire la durée de congélation des tubes.

Enfin, la mise en évidence de protéines liées au pronostic de l'évolution de la pathologie renforce l'idée d'une évolution de l'anorexie mentale par « stages » (155). Cette approche heuristique peut s'appliquer à l'anorexie mentale :

- 1) Il existe des preuves de formes prodromiques de l'anorexie mentale, et d'une trajectoire longitudinale de la maladie
- 2) Il existe des preuves d'une progression neurobiologique de la maladie : par exemple, des traits neuropsychologiques initiaux peuvent influencer le parcours de la maladie (156), des carences en Oméga 3 et 6 favorisent les symptômes dépressifs (157) et la durée de la maladie est associée à une atrophie cérébrale (158).
- 3) Des prises en charge ne sont efficaces que si effectuées dans des phases précises de la maladie.

Le concept de stages découpe l'anorexie mentale en 4 phases (Figure 13). Les patients à haut risque ne présentent que des facteurs de risque. Les patients en phase précoce présentent une combinaison de facteurs de risque et de symptômes sans forcément avoir l'ensemble des caractéristiques du trouble du comportement alimentaire. En phase syndromique, l'ensemble des symptômes sont présents et il se met en place une plasticité cérébrale et métabolique aberrante en réponse à la dénutrition chronique. Les patients en phase tardive présentent principalement les conséquences des

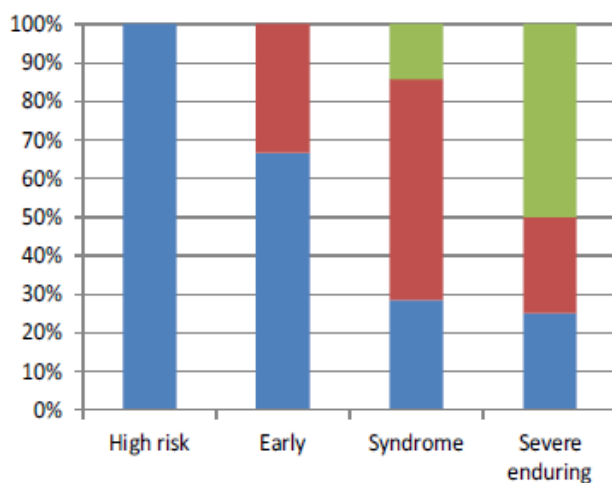


Figure 13, tirée de (157) : Classification de l'anorexie en 4 stages. En bleu est représentée la part que prennent les facteurs prédisposants. En rouge, les symptômes. En vert, les adaptations neuro-métaboliques

modifications neuro-métaboliques de la maladie, en interaction avec leurs symptômes et prédispositions.

La réaction de la protéine Tsukushin pourrait n'être présente que chez les patientes en phase précoce, et sa disparition faire partie de l'adaptation neuro-métabolique de la phase syndromique. Les résultats de l'analyse protéomique présentée ici s'intègrent entièrement dans une catégorisation par « stages » de l'anorexie mentale : les modifications du protéome seraient liées à l'avancement de la maladie à travers ces stages.

La mise en évidence de biomarqueurs permettrait d'affiner le pronostic des patientes. Avec une telle information, les prises en charge pourraient être adaptées, avec des accompagnements personnalisés en accord avec le profil clinique et pronostic du patient pris en considération. L'analyse fine du protéome de patientes pourrait aussi permettre de mieux catégoriser les patientes, où l'anorexie mentale serait le phénotype clinique d'altérations biologiques bien distinctes, au pronostic et aux soins requis différents. Enfin, la mise en évidence de voies biologiques modifiées dans l'anorexie mentale permettrait d'ouvrir des opportunités thérapeutiques, telles de nouvelles cibles biologiques à moduler sur le plan médicamenteux.

C. Bibliographie

1. Micali N, Hagberg KW, Petersen I, Treasure JL. The incidence of eating disorders in the UK in 2000-2009: findings from the General Practice Research Database. *BMJ Open*. 28 mai 2013;3(5).
2. Serpell L, Treasure J, Teasdale J, Sullivan V. Anorexia nervosa: friend or foe? *Int J Eat Disord*. mars 1999;25(2):177-86.
3. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders [Internet]. Fifth Edition. American Psychiatric Association; 2013 [cité 1 févr 2019]. Disponible sur: <https://psychiatryonline.org/doi/book/10.1176/appi.books.9780890425596>
4. Call C, Walsh BT, Attia E. From DSM-IV to DSM-5: changes to eating disorder diagnoses. *Curr Opin Psychiatry*. nov 2013;26(6):532-6.
5. Attia E, Roberto CA. Should amenorrhea be a diagnostic criterion for anorexia nervosa? *Int J Eat Disord*. nov 2009;42(7):581-9.
6. Garfinkel PE, Lin E, Goering P, Spegg C, Goldbloom D, Kennedy S, et al. Should amenorrhoea be necessary for the diagnosis of anorexia nervosa? Evidence from a Canadian community sample. *Br J Psychiatry*. avr 1996;168(4):500-6.
7. Crisp AH. Evolution of Psychosomatic Concepts. *Anorexia Nervosa: A Paradigm*. Eds. M. Ralph Kaufman and Marcel Heiman. London: The Hogarth Press and the Institute of Psychoanalysis, 1965. Pp. 399. Price 63 s. *Br J Psychiatry*. févr 1966;112(483):217-8.
8. Konstantakopoulos G, Tchanturia K, Surguladze SA, David AS. Insight in eating disorders: clinical and cognitive correlates. *Psychol Med*. sept 2011;41(9):1951-61.
9. Swanson SA, Aloisio KM, Horton NJ, Sonnevile KR, Crosby RD, Eddy KT, et al. Assessing eating disorder symptoms in adolescence: is there a role for multiple informants? *Int J Eat Disord*. juill 2014;47(5):475-82.
10. Swanson SA, Brown TA, Crosby RD, Keel PK. What are we missing? The costs versus benefits of skip rule designs. *Int J Methods Psychiatr Res*. déc 2014;23(4):474-85.
11. Thornton C, Russell J, Hudson J. Does the Composite International Diagnostic Interview underdiagnose the eating disorders? *Int J Eat Disord*. avr 1998;23(3):341-5.
12. Treasure J, Claudino AM, Zucker N. Eating disorders. *Lancet*. 13 févr 2010;375(9714):583-93.
13. Preti A, Girolamo G de, Vilagut G, Alonso J, Graaf R de, Bruffaerts R, et al. The epidemiology of eating disorders in six European countries: results of the ESEMeD-WMH project. *J Psychiatr Res*. sept 2009;43(14):1125-32.
14. Stice E, Marti CN, Shaw H, Jaconis M. An 8-year longitudinal study of the natural history of threshold, subthreshold, and partial eating disorders from a community sample of adolescents. *J Abnorm Psychol*. août 2009;118(3):587-97.
15. Swanson SA, Crow SJ, Le Grange D, Swendsen J, Merikangas KR. Prevalence and Correlates of Eating Disorders in Adolescents. *Arch Gen Psychiatry*. juill 2011;68(7):714-23.
16. Smink FRE, van Hoeken D, Oldehinkel AJ, Hoek HW. Prevalence and severity of DSM-5 eating disorders in a community cohort of adolescents. *Int J Eat Disord*. sept 2014;47(6):610-9.
17. Nicholls DE, Lynn R, Viner RM. Childhood eating disorders: British national surveillance study. *Br J Psychiatry*. avr 2011;198(4):295-301.

18. Smink FRE, van Hoeken D, Hoek HW. Epidemiology of eating disorders: incidence, prevalence and mortality rates. *Curr Psychiatry Rep.* août 2012;14(4):406-14.
19. Keski-Rahkonen A, Hoek HW, Susser ES, Linna MS, Sihvola E, Raevuori A, et al. Epidemiology and course of anorexia nervosa in the community. *Am J Psychiatry.* août 2007;164(8):1259-65.
20. Fichter MM, Quadflieg N, Crosby RD, Koch S. Long-term outcome of anorexia nervosa: Results from a large clinical longitudinal study. *Int J Eat Disord.* 2017;50(9):1018-30.
21. Mustelin L, Raevuori A, Bulik CM, Rissanen A, Hoek HW, Kaprio J, et al. Long-term outcome in anorexia nervosa in the community. *Int J Eat Disord.* nov 2015;48(7):851-9.
22. Steinhausen H-C. The outcome of anorexia nervosa in the 20th century. *Am J Psychiatry.* août 2002;159(8):1284-93.
23. Dobrescu SR, Dinkler L, Gillberg C, Råstam M, Gillberg C, Wentz E. Anorexia nervosa: 30-year outcome. *Br J Psychiatry.* 22 mai 2019;1-8.
24. Hudson JI, Hiripi E, Pope HG, Kessler RC. The prevalence and correlates of eating disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Biol Psychiatry.* 1 févr 2007;61(3):348-58.
25. Keshaviah A, Edkins K, Hastings ER, Krishna M, Franko DL, Herzog DB, et al. Re-examining premature mortality in anorexia nervosa: a meta-analysis redux. *Compr Psychiatry.* nov 2014;55(8):1773-84.
26. Franko DL, Keshaviah A, Eddy KT, Krishna M, Davis MC, Keel PK, et al. A longitudinal investigation of mortality in anorexia nervosa and bulimia nervosa. *Am J Psychiatry.* août 2013;170(8):917-25.
27. Jagielska G, Kacperska I. Outcome, comorbidity and prognosis in anorexia nervosa. *Psychiatr Pol.* 30 avr 2017;51(2):205-18.
28. Keel PK, Brown TA. Update on course and outcome in eating disorders. *Int J Eat Disord.* avr 2010;43(3):195-204.
29. Strober M, Freeman R, Morrell W. The long-term course of severe anorexia nervosa in adolescents: survival analysis of recovery, relapse, and outcome predictors over 10-15 years in a prospective study. *Int J Eat Disord.* déc 1997;22(4):339-60.
30. Papadopoulos FC, Ekblom A, Brandt L, Ekselius L. Excess mortality, causes of death and prognostic factors in anorexia nervosa. *Br J Psychiatry.* janv 2009;194(1):10-7.
31. Tozzi F, Sullivan PF, Fear JL, McKenzie J, Bulik CM. Causes and recovery in anorexia nervosa: the patient's perspective. *Int J Eat Disord.* mars 2003;33(2):143-54.
32. Wentz E, Gillberg IC, Anckarsäter H, Gillberg C, Råstam M. Adolescent-onset anorexia nervosa: 18-year outcome. *Br J Psychiatry.* févr 2009;194(2):168-74.
33. Ackard DM, Richter S, Egan A, Cronmeyer C. Poor outcome and death among youth, young adults, and midlife adults with eating disorders: an investigation of risk factors by age at assessment. *Int J Eat Disord.* nov 2014;47(7):825-35.
34. Schalla MA, Stengel A. The Role of Ghrelin in Anorexia Nervosa. *Int J Mol Sci.* 20 juill 2018;19(7).
35. Tolle V, Kadem M, Bluet-Pajot M-T, Frere D, Foulon C, Bossu C, et al. Balance in ghrelin and leptin plasma levels in anorexia nervosa patients and constitutionally thin women. *J Clin Endocrinol Metab.* janv 2003;88(1):109-16.
36. Germain N, Galusca B, Le Roux CW, Bossu C, Ghatei MA, Lang F, et al. Constitutional thinness and lean anorexia nervosa display opposite concentrations of peptide YY, glucagon-like peptide 1, ghrelin, and leptin. *Am J Clin Nutr.* avr 2007;85(4):967-71.

37. Soriano-Guillén L, Barrios V, Campos-Barros A, Argente J. Ghrelin levels in obesity and anorexia nervosa: effect of weight reduction or recuperation. *J Pediatr.* janv 2004;144(1):36-42.
38. Schorr M, Miller KK. The endocrine manifestations of anorexia nervosa: mechanisms and management. *Nat Rev Endocrinol.* mars 2017;13(3):174-86.
39. Estour B, Marouani N, Sigaud T, Lang F, Fakra E, Ling Y, et al. Differentiating constitutional thinness from anorexia nervosa in DSM 5 era. *Psychoneuroendocrinology.* oct 2017;84:94-100.
40. Exner C, Hebebrand J, Remschmidt H, Wewetzer C, Ziegler A, Herpertz S, et al. Leptin suppresses semi-starvation induced hyperactivity in rats: implications for anorexia nervosa. *Mol Psychiatry.* sept 2000;5(5):476-81.
41. Ilyas A, Hübel C, Stahl D, Stadler M, Ismail K, Breen G, et al. The metabolic underpinning of eating disorders: A systematic review and meta-analysis of insulin sensitivity. *Mol Cell Endocrinol.* 28 oct 2018;
42. Duncan L, Yilmaz Z, Gaspar H, Walters R, Goldstein J, Anttila V, et al. Significant Locus and Metabolic Genetic Correlations Revealed in Genome-Wide Association Study of Anorexia Nervosa. *Am J Psychiatry.* 01 2017;174(9):850-8.
43. Aksenova MV, Aksenov MY, Mactutus CF, Booze RM. Cell culture models of oxidative stress and injury in the central nervous system. *Curr Neurovasc Res.* janv 2005;2(1):73-89.
44. Moyano D, Sierra C, Brandi N, Artuch R, Mira A, García-Tornel S, et al. Antioxidant status in anorexia nervosa. *Int J Eat Disord.* janv 1999;25(1):99-103.
45. Solmi M, Veronese N, Manzato E, Sergi G, Favaro A, Santonastaso P, et al. Oxidative stress and antioxidant levels in patients with anorexia nervosa: A systematic review and exploratory meta-analysis. *Int J Eat Disord.* nov 2015;48(7):826-41.
46. Solmi M, Veronese N, Luchini C, Manzato E, Sergi G, Favaro A, et al. Oxidative Stress and Antioxidant Levels in Patients with Anorexia Nervosa after Oral Re-alimentation: A Systematic Review and Exploratory Meta-analysis. *Eur Eat Disord Rev.* mars 2016;24(2):101-5.
47. Lichtblau N, Schmidt FM, Schumann R, Kirkby KC, Himmerich H. Cytokines as biomarkers in depressive disorder: current standing and prospects. *Int Rev Psychiatry.* oct 2013;25(5):592-603.
48. Müller N, Weidinger E, Leitner B, Schwarz MJ. The role of inflammation in schizophrenia. *Front Neurosci.* 2015;9:372.
49. Dalton B, Bartholdy S, Robinson L, Solmi M, Ibrahim MAA, Breen G, et al. A meta-analysis of cytokine concentrations in eating disorders. *J Psychiatr Res.* 2018;103:252-64.
50. Dalton B, Campbell IC, Chung R, Breen G, Schmidt U, Himmerich H. Inflammatory Markers in Anorexia Nervosa: An Exploratory Study. *Nutrients.* 24 oct 2018;10(11).
51. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest.* août 2000;118(2):503-8.
52. Fonseka TM, Müller DJ, Kennedy SH. Inflammatory Cytokines and Antipsychotic-Induced Weight Gain: Review and Clinical Implications. *Mol Neuropsychiatry.* mai 2016;2(1):1-14.
53. Himmerich H, Sheldrick AJ. TNF-alpha and ghrelin: opposite effects on immune system, metabolism and mental health. *Protein Pept Lett.* févr 2010;17(2):186-96.
54. Andréasson A, Arborelius L, Erlanson-Albertsson C, Lekander M. A putative role for cytokines in the impaired appetite in depression. *Brain Behav Immun.* févr 2007;21(2):147-52.
55. Donaldson AA, Gordon CM. Skeletal Complications of Eating Disorders. *Metabolism.* sept 2015;64(9):943-51.

56. Fichter MM, Pirke KM, Holsboer F. Weight loss causes neuroendocrine disturbances: experimental study in healthy starving subjects. *Psychiatry Res.* janv 1986;17(1):61-72.
57. Monteleone P, Luisi M, Colurcio B, Casarosa E, Monteleone P, Iorio R, et al. Plasma levels of neuroactive steroids are increased in untreated women with anorexia nervosa or bulimia nervosa. *Psychosom Med.* févr 2001;63(1):62-8.
58. Culbert KM, Racine SE, Klump KL. Hormonal Factors and Disturbances in Eating Disorders. *Curr Psychiatry Rep.* juill 2016;18(7):65.
59. Monteleone AM, Monteleone P, Serino I, Amodio R, Monaco F, Maj M. Underweight subjects with anorexia nervosa have an enhanced salivary cortisol response not seen in weight restored subjects with anorexia nervosa. *Psychoneuroendocrinology.* 2016;70:118-21.
60. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, et al. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell.* 20 févr 1998;92(4):573-85.
61. Haynes AC, Chapman H, Taylor C, Moore GBT, Cawthorne MA, Tadayyon M, et al. Anorectic, thermogenic and anti-obesity activity of a selective orexin-1 receptor antagonist in ob/ob mice. *Regul Pept.* 15 mars 2002;104(1-3):153-9.
62. Marcus JN, Aschkenasi CJ, Lee CE, Chemelli RM, Saper CB, Yanagisawa M, et al. Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain. *J Comp Neurol.* 18 juin 2001;435(1):6-25.
63. YOSHIDA K, McCORMACK S, ESPAÑA RA, CROCKER A, SCAMMELL TE. Afferents to the Orexin Neurons of the Rat Brain. *J Comp Neurol.* 10 févr 2006;494(5):845-61.
64. Korotkova TM, Sergeeva OA, Eriksson KS, Haas HL, Brown RE. Excitation of ventral tegmental area dopaminergic and nondopaminergic neurons by orexins/hypocretins. *J Neurosci.* 1 janv 2003;23(1):7-11.
65. Bronsky J, Nedvidkova J, Krasnicanova H, Vesela M, Schmidtova J, Koutek J, et al. Changes of orexin A plasma levels in girls with anorexia nervosa during eight weeks of realimentation. *Int J Eat Disord.* sept 2011;44(6):547-52.
66. Sauchelli S, Jiménez-Murcia S, Sánchez I, Riesco N, Custal N, Fernández-García JC, et al. Orexin and sleep quality in anorexia nervosa: Clinical relevance and influence on treatment outcome. *Psychoneuroendocrinology.* mars 2016;65:102-8.
67. Abbott CR, Small CJ, Kennedy AR, Neary NM, Sajedi A, Ghatei MA, et al. Blockade of the neuropeptide Y Y2 receptor with the specific antagonist BIIIE0246 attenuates the effect of endogenous and exogenous peptide YY(3-36) on food intake. *Brain Res.* 10 mai 2005;1043(1-2):139-44.
68. le Roux CW, Bloom SR. Why do patients lose weight after Roux-en-Y gastric bypass? *J Clin Endocrinol Metab.* janv 2005;90(1):591-2.
69. Batterham RL, Cowley MA, Small CJ, Herzog H, Cohen MA, Dakin CL, et al. Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature.* 8 août 2002;418(6898):650-4.
70. Batterham RL, Ffytche DH, Rosenthal JM, Zelaya FO, Barker GJ, Withers DJ, et al. PYY modulation of cortical and hypothalamic brain areas predicts feeding behaviour in humans. *Nature.* 1 nov 2007;450(7166):106-9.
71. De Silva A, Salem V, Long CJ, Makwana A, Newbould RD, Rabiner EA, et al. The gut hormones PYY 3-36 and GLP-1 7-36 amide reduce food intake and modulate brain activity in appetite centers in humans. *Cell Metab.* 2 nov 2011;14(5):700-6.
72. Misra M, Miller KK, Tsai P, Gallagher K, Lin A, Lee N, et al. Elevated peptide YY levels in adolescent girls with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab.* mars 2006;91(3):1027-33.

73. Germain N, Galusca B, Grouselle D, Frere D, Billard S, Epelbaum J, et al. Ghrelin and obestatin circadian levels differentiate bingeing-purging from restrictive anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab.* juin 2010;95(6):3057-62.
74. Fernández-Aranda F, Agüera Z, Fernández-García JC, Garrido-Sanchez L, Alcaide-Torres J, Tinahones FJ, et al. Smell-taste dysfunctions in extreme weight/eating conditions: analysis of hormonal and psychological interactions. *Endocrine.* févr 2016;51(2):256-67.
75. Eddy KT, Lawson EA, Meade C, Meenaghan E, Horton SE, Misra M, et al. Appetite regulatory hormones in women with anorexia nervosa: binge-eating/purging versus restricting type. *J Clin Psychiatry.* janv 2015;76(1):19-24.
76. Gendall KA, Kaye WH, Altemus M, McConaha CW, La Via MC. Leptin, neuropeptide Y, and peptide YY in long-term recovered eating disorder patients. *Biol Psychiatry.* 15 juill 1999;46(2):292-9.
77. Westmoreland P, Krantz MJ, Mehler PS. Medical Complications of Anorexia Nervosa and Bulimia. *Am J Med.* janv 2016;129(1):30-7.
78. Gibson D, Workman C, Mehler PS. Medical Complications of Anorexia Nervosa and Bulimia Nervosa. *Psychiatr Clin North Am.* 2019;42(2):263-74.
79. Gravina G, Milano W, Nebbiai G, Piccione C, Capasso A. Medical Complications in Anorexia and Bulimia Nervosa. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2018;18(5):477-88.
80. Norris ML, Harrison ME, Isserlin L, Robinson A, Feder S, Sampson M. Gastrointestinal complications associated with anorexia nervosa: A systematic review. *Int J Eat Disord.* mars 2016;49(3):216-37.
81. Nagata JM, Golden NH, Peebles R, Long J, Leonard MB, Chang AO, et al. Assessment of sex differences in bone deficits among adolescents with anorexia nervosa. *Int J Eat Disord.* avr 2017;50(4):352-8.
82. Sachs KV, Harnke B, Mehler PS, Krantz MJ. Cardiovascular complications of anorexia nervosa: A systematic review. *Int J Eat Disord.* mars 2016;49(3):238-48.
83. Spaulding-Barclay MA, Stern J, Mehler PS. Cardiac changes in anorexia nervosa. *Cardiol Young.* avr 2016;26(4):623-8.
84. Kimmel MC, Ferguson EH, Zerwas S, Bulik CM, Meltzer-Brody S. Obstetric and Gynecologic Problems Associated with Eating Disorders. *Int J Eat Disord.* mars 2016;49(3):260-75.
85. Hütter G, Ganepola S, Hofmann W-K. The hematology of anorexia nervosa. *Int J Eat Disord.* mai 2009;42(4):293-300.
86. Gardini Gardenghi G, Boni E, Todisco P, Manara F, Borghesi A, Tantucci C. Respiratory function in patients with stable anorexia nervosa. *Chest.* nov 2009;136(5):1356-63.
87. Forney KJ, Buchman-Schmitt JM, Keel PK, Frank GKW. The medical complications associated with purging. *Int J Eat Disord.* mars 2016;49(3):249-59.
88. Lock J, Le Grange D, Agras WS, Moye A, Bryson SW, Jo B. Randomized clinical trial comparing family-based treatment with adolescent-focused individual therapy for adolescents with anorexia nervosa. *Arch Gen Psychiatry.* oct 2010;67(10):1025-32.
89. Zipfel S, Wild B, Groß G, Friederich H-C, Teufel M, Schellberg D, et al. Focal psychodynamic therapy, cognitive behaviour therapy, and optimised treatment as usual in outpatients with anorexia nervosa (ANTOP study): randomised controlled trial. *Lancet.* 11 janv 2014;383(9912):127-37.
90. Carter FA, Jordan J, McIntosh VVW, Luty SE, McKenzie JM, Frampton CMA, et al. The long-term efficacy of three psychotherapies for anorexia nervosa: a randomized, controlled trial. *Int J Eat Disord.* nov 2011;44(7):647-54.

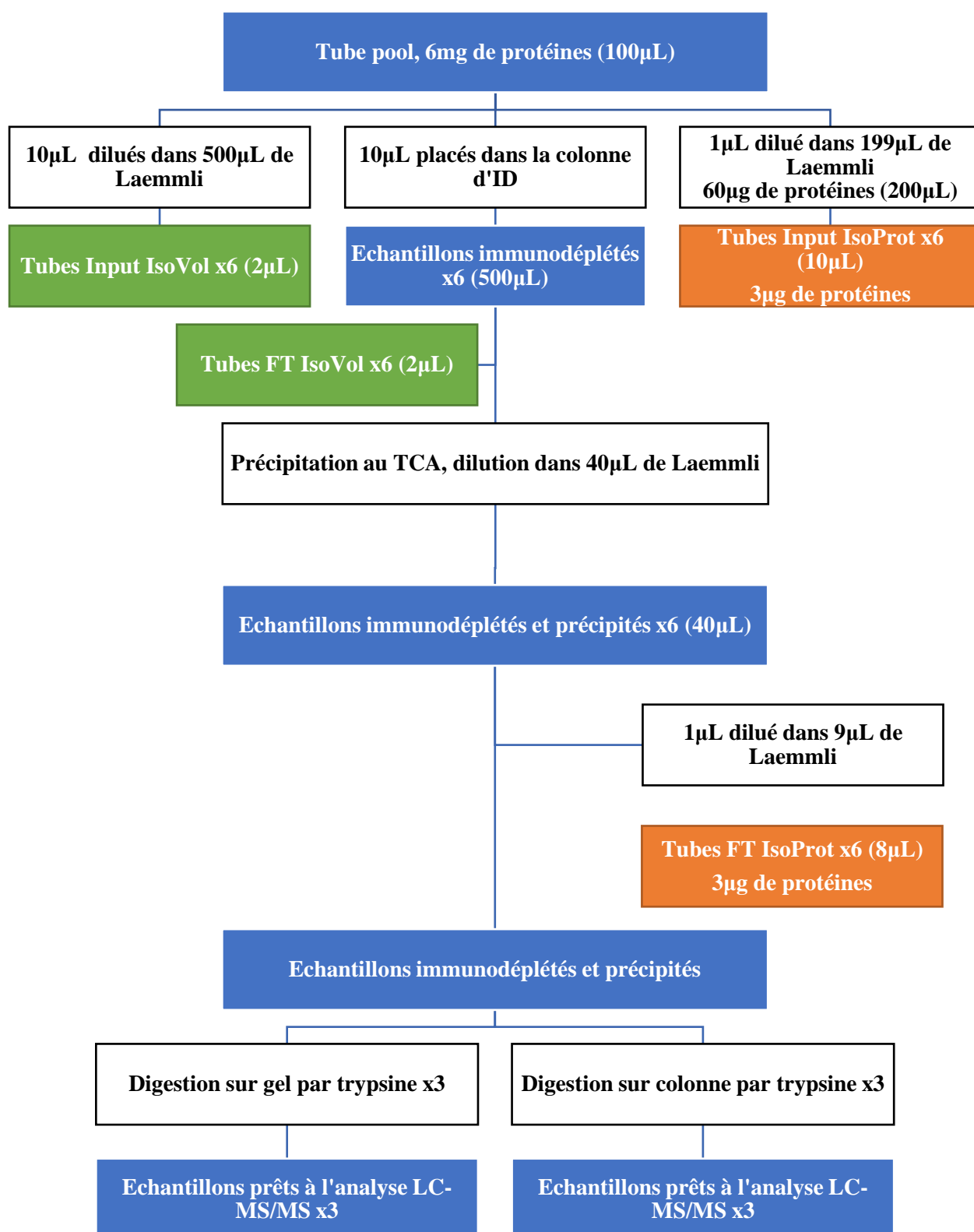
91. Hay PJ, Claudino AM, Touyz S, Abd Elbaky G. Individual psychological therapy in the outpatient treatment of adults with anorexia nervosa. *Cochrane Database Syst Rev.* 27 juill 2015;(7):CD003909.
92. Tchanturia K, Lounes N, Holtum S. Cognitive remediation in anorexia nervosa and related conditions: a systematic review. *Eur Eat Disord Rev.* nov 2014;22(6):454-62.
93. Aigner M, Treasure J, Kaye W, Kasper S, WFSBP Task Force On Eating Disorders. World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) guidelines for the pharmacological treatment of eating disorders. *World J Biol Psychiatry.* sept 2011;12(6):400-43.
94. Hay P, Chinn D, Forbes D, Madden S, Newton R, Sugenor L, et al. Royal Australian and New Zealand College of Psychiatrists clinical practice guidelines for the treatment of eating disorders. *Aust N Z J Psychiatry.* nov 2014;48(11):977-1008.
95. Noor E, Cherkaoui S, Sauer U. Biological insights through omics data integration. *Current Opinion in Systems Biology.* 1 juin 2019;15:39-47.
96. Steinhausen H-C, Jakobsen H, Helenius D, Munk-Jørgensen P, Strober M. A nation-wide study of the family aggregation and risk factors in anorexia nervosa over three generations. *Int J Eat Disord.* janv 2015;48(1):1-8.
97. Yilmaz Z, Hardaway JA, Bulik CM. Genetics and Epigenetics of Eating Disorders. *Adv Genomics Genet.* 2015;5:131-50.
98. Dellava JE, Thornton LM, Lichtenstein P, Pedersen NL, Bulik CM. Impact of broadening definitions of anorexia nervosa on sample characteristics. *J Psychiatr Res.* mai 2011;45(5):691-8.
99. Klump KL, Suisman JL, Burt SA, McGue M, Iacono WG. Genetic and environmental influences on disordered eating: An adoption study. *J Abnorm Psychol.* nov 2009;118(4):797-805.
100. Boraska V, Franklin CS, Floyd J a. B, Thornton LM, Huckins LM, Southam L, et al. A genome-wide association study of anorexia nervosa. *Mol Psychiatry.* oct 2014;19(10):1085-94.
101. Watson HJ, Yilmaz Z, Thornton LM, Hübel C, Coleman JRI, Gaspar HA, et al. Genome-wide association study identifies eight risk loci and implicates metabo-psychiatric origins for anorexia nervosa. *Nat Genet.* août 2019;51(8):1207-14.
102. Bulik-Sullivan B, Finucane HK, Anttila V, Gusev A, Day FR, Loh P-R, et al. An atlas of genetic correlations across human diseases and traits. *Nat Genet.* nov 2015;47(11):1236-41.
103. Tremolizzo L, Conti E, Bomba M, Uccellini O, Rossi MS, Marfone M, et al. Decreased whole-blood global DNA methylation is related to serum hormones in anorexia nervosa adolescents. *World J Biol Psychiatry.* mai 2014;15(4):327-33.
104. Booij L, Casey KF, Antunes JM, Szyf M, Joobor R, Israël M, et al. DNA methylation in individuals with anorexia nervosa and in matched normal-eater controls: A genome-wide study. *Int J Eat Disord.* nov 2015;48(7):874-82.
105. Frieling H, Gozner A, Römer KD, Lenz B, Bönsch D, Wilhelm J, et al. Global DNA hypomethylation and DNA hypermethylation of the alpha synuclein promoter in females with anorexia nervosa. *Mol Psychiatry.* mars 2007;12(3):229-30.
106. Monteleone P, Monteleone AM, Troisi J, Dalle Grave R, Corrivetti G, Calugi S, et al. Metabolomics signatures of acutely ill and short-term weight recovered women with anorexia nervosa. *Mol Psychiatry.* 7 nov 2019;
107. Nobis S, Achamrah N, Goichon A, L'Huillier C, Morin A, Guérin C, et al. Colonic Mucosal Proteome Signature Reveals Reduced Energy Metabolism and Protein Synthesis but Activated Autophagy during Anorexia-Induced Malnutrition in Mice. *Proteomics.* 2018;18(15):e1700395.

108. Nobis S, Goichon A, Achamrah N, Guérin C, Azhar S, Chan P, et al. Alterations of proteome, mitochondrial dynamic and autophagy in the hypothalamus during activity-based anorexia. *Sci Rep.* 08 2018;8(1):7233.
109. Nobis S, Morin A, Achamrah N, Belmonte L, Legrand R, Chan P, et al. Delayed gastric emptying and altered antrum protein metabolism during activity-based anorexia. *Neurogastroenterol Motil.* 2018;30(7):e13305.
110. Harvald EB, Sprenger RR, Dall KB, Ejsing CS, Nielsen R, Mandrup S, et al. Multi-omics Analyses of Starvation Responses Reveal a Central Role for Lipoprotein Metabolism in Acute Starvation Survival in *C. elegans*. *Cell Syst.* 26 2017;5(1):38-52.e4.
111. Aebersold R, Mann M. Mass-spectrometric exploration of proteome structure and function. *Nature.* 15 2016;537(7620):347-55.
112. Dunn MJ, Kraus H-J. PROTEOMICS: The first 15 years. *Proteomics Clin Appl.* janv 2016;10(1):1-3.
113. Wasinger VC, Cordwell SJ, Cerpa-Poljak A, Yan JX, Gooley AA, Wilkins MR, et al. Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium*. *Electrophoresis.* juill 1995;16(7):1090-4.
114. Apweiler R, Aslanidis C, Deufel T, Gerstner A, Hansen J, Hochstrasser D, et al. Approaching clinical proteomics: current state and future fields of application in fluid proteomics. *Clin Chem Lab Med.* 2009;47(6):724-44.
115. Cox J, Mann M. Quantitative, high-resolution proteomics for data-driven systems biology. *Annu Rev Biochem.* 2011;80:273-99.
116. Nesvizhskii AI, Vitek O, Aebersold R. Analysis and validation of proteomic data generated by tandem mass spectrometry. *Nat Methods.* oct 2007;4(10):787-97.
117. Nesvizhskii AI. A survey of computational methods and error rate estimation procedures for peptide and protein identification in shotgun proteomics. *J Proteomics.* 10 oct 2010;73(11):2092-123.
118. Pisanu S, Biossa G, Carcangiu L, Uzzau S, Pagnozzi D. Comparative evaluation of seven commercial products for human serum enrichment/depletion by shotgun proteomics. *Talanta.* 1 août 2018;185:213-20.
119. Dole M, Mack LL, Hines RL, Mobley RC, Ferguson LD, Alice MB. Molecular Beams of Macroions. *J Chem Phys.* 1 sept 1968;49(5):2240-9.
120. Michalski A, Damoc E, Hauschild J-P, Lange O, Wieghaus A, Makarov A, et al. Mass Spectrometry-based Proteomics Using Q Exactive, a High-performance Benchtop Quadrupole Orbitrap Mass Spectrometer. *Mol Cell Proteomics [Internet].* sept 2011 [cité 6 mars 2020];10(9). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3284220/>
121. Mueller LN, Brusniak M-Y, Mani DR, Aebersold R. An assessment of software solutions for the analysis of mass spectrometry based quantitative proteomics data. *J Proteome Res.* janv 2008;7(1):51-61.
122. Verheggen K, Martens L, Berven FS, Barsnes H, Vaudel M. Database Search Engines: Paradigms, Challenges and Solutions. *Adv Exp Med Biol.* 2016;919:147-56.
123. Hinsinger G, Galéotti N, Nabholz N, Urbach S, Rigau V, Demattei C, et al. Chitinase 3-like proteins as diagnostic and prognostic biomarkers of multiple sclerosis. *Mult Scler.* sept 2015;21(10):1251-61.
124. Geyer PE, Holdt LM, Teupser D, Mann M. Revisiting biomarker discovery by plasma proteomics. *Mol Syst Biol.* 26 2017;13(9):942.
125. Anderson NL. The clinical plasma proteome: a survey of clinical assays for proteins in plasma and serum. *Clin Chem.* févr 2010;56(2):177-85.

126. Cox J, Mann M. MaxQuant enables high peptide identification rates, individualized p.p.b.-range mass accuracies and proteome-wide protein quantification. *Nat Biotechnol.* déc 2008;26(12):1367-72.
127. Støving RK, Flyvbjerg A, Frystyk J, Fisker S, Hangaard J, Hansen-Nord M, et al. Low serum levels of free and total insulin-like growth factor I (IGF-I) in patients with anorexia nervosa are not associated with increased IGF-binding protein-3 proteolysis. *J Clin Endocrinol Metab.* avr 1999;84(4):1346-50.
128. Bach LA. Insulin-like growth factor binding proteins 4-6. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* oct 2015;29(5):713-22.
129. Hjortebjerg R, Berryman DE, Comisford R, List EO, Oxvig C, Bjerre M, et al. Depot-specific and GH-dependent regulation of IGF binding protein-4, pregnancy-associated plasma protein-A, and stanniocalcin-2 in murine adipose tissue. *Growth Horm IGF Res.* 2018;39:54-61.
130. Misra M, Klibanski A. Endocrine Consequences of Anorexia Nervosa. *Lancet Diabetes Endocrinol.* juill 2014;2(7):581-92.
131. Gianotti L, Lanfranco F, Ramunni J, Destefanis S, Ghigo E, Arvat E. GH/IGF-I axis in anorexia nervosa. *Eat Weight Disord.* juin 2002;7(2):94-105.
132. Ahmad SAI, Anam MB, Ito N, Ohta K. Involvement of Tsukushi in diverse developmental processes. *J Cell Commun Signal.* mars 2018;12(1):205-10.
133. Wang Q, Sharma VP, Shen H, Xiao Y, Zhu Q, Xiong X, et al. The hepatokine Tsukushi gates energy expenditure via brown fat sympathetic innervation. *Nat Metab.* févr 2019;1(2):251-60.
134. Xiong X, Wang Q, Wang S, Zhang J, Liu T, Guo L, et al. Mapping the molecular signatures of diet-induced NASH and its regulation by the hepatokine Tsukushi. *Mol Metab.* 2019;20:128-37.
135. Mouchiroud M, Camiré É, Aldow M, Caron A, Jubinville É, Turcotte L, et al. The hepatokine Tsukushi is released in response to NAFLD and impacts cholesterol homeostasis. *JCI Insight.* 08 2019;4(15).
136. Mouchiroud M, Camiré É, Aldow M, Caron A, Jubinville É, Turcotte L, et al. The Hepatokine TSK does not affect brown fat thermogenic capacity, body weight gain, and glucose homeostasis. *Mol Metab.* 2019;30:184-91.
137. Lin W, Gao L, Jiang W, Niu C, Yuan K, Hu X, et al. The role of osteomodulin on osteo/odontogenic differentiation in human dental pulp stem cells. *BMC Oral Health [Internet].* 22 janv 2019 [cité 26 août 2020];19. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6341608/>
138. Ferrannini G, Manca ML, Magnoni M, Andreotti F, Andreini D, Latini R, et al. Coronary Artery Disease and Type 2 Diabetes: A Proteomic Study. *Diabetes Care.* avr 2020;43(4):843-51.
139. Posavi M, Diaz-Ortiz M, Liu B, Swanson CR, Skrinak RT, Hernandez-Con P, et al. Characterization of Parkinson's disease using blood-based biomarkers: A multicohort proteomic analysis. *PLoS Med [Internet].* 11 oct 2019 [cité 26 août 2020];16(10). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6788685/>
140. Wolska A, Dunbar RL, Freeman LA, Ueda M, Amar MJ, Sviridov DO, et al. Apolipoprotein C-II: New findings related to genetics, biochemistry, and role in triglyceride metabolism. *Atherosclerosis.* déc 2017;267:49-60.
141. Bar DZ, Charar C, Dorfman J, Yadid T, Tafforeau L, Lafontaine DLJ, et al. Cell size and fat content of dietary-restricted *Caenorhabditis elegans* are regulated by ATX-2, an mTOR repressor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 09 2016;113(32):E4620-4629.
142. Dennis EL, Jahanshad N, Braskie MN, Warstadt NM, Hibar DP, Kohannim O, et al. Obesity gene NEGR1 associated with white matter integrity in healthy young adults. *Neuroimage.* 15 nov 2014;102 Pt 2:548-57.

143. Voisin S, Almén MS, Zheleznyakova GY, Lundberg L, Zarei S, Castillo S, et al. Many obesity-associated SNPs strongly associate with DNA methylation changes at proximal promoters and enhancers. *Genome Med.* 8 oct 2015;7:103.
144. Davaliev K, Maleva Kostovska I, Dwork AJ. Proteomics Research in Schizophrenia. *Front Cell Neurosci* [Internet]. 16 févr 2016 [cité 26 août 2020];10. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4754401/>
145. Ignjatovic V, Geyer PE, Palaniappan KK, Chaaban JE, Omenn GS, Baker MS, et al. Mass Spectrometry-Based Plasma Proteomics: Considerations from Sample Collection to Achieving Translational Data. *J Proteome Res.* 06 2019;18(12):4085-97.
146. Silva-Costa LC, Carlson PT, Guest PC, de Almeida V, Martins-de-Souza D. Proteomic Markers for Depression. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1118:191-206.
147. Fairburn CG, Harrison PJ. Eating disorders. *Lancet.* 1 févr 2003;361(9355):407-16.
148. Liu Y, Buil A, Collins BC, Gillet LCJ, Blum LC, Cheng L-Y, et al. Quantitative variability of 342 plasma proteins in a human twin population. *Mol Syst Biol.* 4 févr 2015;11(1):786.
149. Omenn GS, States DJ, Adamski M, Blackwell TW, Menon R, Hermjakob H, et al. Overview of the HUPO Plasma Proteome Project: results from the pilot phase with 35 collaborating laboratories and multiple analytical groups, generating a core dataset of 3020 proteins and a publicly-available database. *Proteomics.* août 2005;5(13):3226-45.
150. Geyer PE, Voytik E, Treit PV, Doll S, Kleinhempel A, Niu L, et al. Plasma Proteome Profiling to detect and avoid sample-related biases in biomarker studies. *EMBO Mol Med.* 07 2019;11(11):e10427.
151. Mitchell BL, Yasui Y, Li CI, Fitzpatrick AL, Lampe PD. Impact of freeze-thaw cycles and storage time on plasma samples used in mass spectrometry based biomarker discovery projects. *Cancer Inform.* 2005;1:98-104.
152. Hassis ME, Niles RK, Braten MN, Albertolle ME, Ewa Witkowska H, Hubel CA, et al. Evaluating the effects of preanalytical variables on the stability of the human plasma proteome. *Anal Biochem.* 1 juin 2015;478:14-22.
153. Jeffs JW, Jehanathan N, Thibert SMF, Ferdosi S, Pham L, Wilson ZT, et al. Delta-S-Cys-Albumin: A Lab Test that Quantifies Cumulative Exposure of Archived Human Blood Plasma and Serum Samples to Thawed Conditions. *Mol Cell Proteomics.* 2019;18(10):2121-37.
154. Latosinska A, Vougas K, Makridakis M, Klein J, Mullen W, Abbas M, et al. Comparative Analysis of Label-Free and 8-Plex iTRAQ Approach for Quantitative Tissue Proteomic Analysis. *PLoS ONE.* 2015;10(9):e0137048.
155. Treasure J, Stein D, Maguire S. Has the time come for a staging model to map the course of eating disorders from high risk to severe enduring illness? An examination of the evidence. *Early Interv Psychiatry.* juin 2015;9(3):173-84.
156. Anderluh M, Tchanturia K, Rabe-Hesketh S, Collier D, Treasure J. Lifetime course of eating disorders: design and validity testing of a new strategy to define the eating disorders phenotype. *Psychol Med.* janv 2009;39(1):105-14.
157. Allen KL, Mori TA, Beilin L, Byrne SM, Hickling S, Oddy WH. Dietary intake in population-based adolescents: support for a relationship between eating disorder symptoms, low fatty acid intake and depressive symptoms. *J Hum Nutr Diet.* oct 2013;26(5):459-69.
158. Fonville L, Giampietro V, Williams SCR, Simmons A, Tchanturia K. Alterations in brain structure in adults with anorexia nervosa and the impact of illness duration. *Psychol Med.* juill 2014;44(9):1965-75.

D. Annexes



Annexe 1 : Flowchart des expériences réalisées. Les tubes IsoProt contiennent la même quantité de protéines (3µg), avant (Input) et après (FT) immunodéplétion et précipitation. Les tubes IsoVol contiennent le même volume d'échantillon avant (Input) et après (FT) immunodéplétion : le kit d'immunodéplétion nécessite de mettre 10µL d'échantillon, qui est rendu immunodéplété dans une solution tampon de 500µL. LC-MS/MS : spectrométrie de masse en tandem ; FT : Flow through

SERMENT

- *En présence des Maîtres de cette école, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.*

- *Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.*

- *Admis (e) dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.*

- *Respectueux (se) et reconnaissant (e) envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.*

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

Résumé

L'anorexie mentale est une pathologie sévère qui touche des femmes jeunes. Pour apprécier le pronostic de la pathologie, nous n'avons à ce jour que deux facteurs cliniques : l'absence de comorbidité et la prise en charge rapide des troubles. Il n'existe aucun biomarqueur pronostique de l'évolution de la maladie.

L'étude du protéome vise à identifier l'ensemble des protéines d'un tissu ou d'un fluide biologique donné. Il n'existe aujourd'hui aucune étude protéomique dans l'anorexie mentale. La majorité des biomarqueurs utilisés en médecine sont des protéines provenant du plasma. Ce travail de thèse correspond à l'étude du protéome plasmatique pour mettre en évidence des biomarqueurs pronostiques de l'évolution de l'anorexie mentale, à partir d'une cohorte de patientes.

Deux groupes ont été formés : des patientes dont l'évolution est favorable, et celles dont l'évolution est chronique. Les échantillons de plasma ont été immunodéplétés, concentrés puis digérés par trypsine. Ils ont enfin été analysés par spectrométrie de masse.

La validation du protocole expérimental a permis de s'assurer de l'efficacité et de la reproductibilité de l'immunodéplétion par le kit Pierce™, et la digestion sur colonne S-Trap.

La formation des groupes n'a pas permis de contrôler des biais de confusion majeurs tels que l'âge des patientes, la durée d'évolution et la sévérité de leur trouble. Néanmoins, les patientes dont le pronostic est favorable ont une augmentation de Tsukushin et IGFBP-4, ainsi qu'une diminution de l'Ostéomoduline.

Au total, il convient de confirmer les résultats actuels sur une étude ultérieure avec un meilleur contrôle des biais de confusion.

Mots-cléfs : Anorexie mentale ; Protéomique ; Plasma ; Biomarqueur ; Pronostic ; Tsukushin