

Année 2018/2019

Thèse

Pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'État

Par

Marine Guichard

Née le 09 mai 1989 à Chartres (28)

Identification de biomarqueurs métabolomiques dans le Trouble Déficit de l'Attention avec ou sans Hyperactivité : données expérimentales.

Présentée et soutenue publiquement le **30 octobre 2019** devant un jury composé de :

Président du Jury : Professeur Christian ANDRES, Biochimie et Biologie Moléculaire, PU-PH, CHRU & Faculté de Médecine – Tours

Membres du Jury :

Professeur François LABARTHE, Pédiatrie, PU-PH, CHRU & Faculté de Médecine – Tours

Docteur Patrick EMOND, Médecine Nucléaire In Vivo, PU-PH, CHRU & Faculté de Médecine – Tours

Docteur Annie-Laure SUC, Pédiatrie, PH, CHRU – Tours

Docteur Julie CHANTREUIL, Pédiatrie, PH, CHRU – Tours

Directeur de thèse : Professeur Pierre THOMAS-CASTELNAU, Pédiatrie, PU-PH – CHRU & Faculté de Médecine - Tours.

UNIVERSITE DE TOURS
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN

Pr Patrice DIOT

VICE-DOYEN

Pr Henri MARRET

ASSESSEURS

Pr Denis ANGOULVANT, Pédagogie
Pr Mathias BUCHLER, Relations internationales
Pr Theodora BEJAN-ANGOULVANT, Moyens – relations avec l'Université
Pr Clarisse DIBAO-DINA, Médecine générale
Pr François MAILLOT, Formation Médicale Continue
Pr Patrick VOUREC'H, Recherche

RESPONSABLE ADMINISTRATIVE

Mme Fanny BOBLETER

DOYENS HONORAIRES

Pr Emile ARON (†) – 1962-1966
Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962
Pr Georges DESBUQUOIS (†) - 1966-1972
Pr André GOUAZE - 1972-1994
Pr Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004
Pr Dominique PERROTIN – 2004-2014

PROFESSEURS EMERITES

Pr Daniel ALISON
Pr Philippe ARBEILLE
Pr Catherine BARTHELEMY
Pr Gilles BODY
Pr Jacques CHANDENIER
Pr Alain CHANTEPIE
Pr Pierre COSNAY
Pr Etienne DANQUECHIN-DORVAL
Pr. Dominique GOGA
Pr Alain GOUDEAU
Pr Anne-Marie LEHR-DRYLEWICZ
Pr Gérard LORETTE
Pr Roland QUENTIN
Pr Elie SALIBA

PROFESSEURS HONORAIRES

P. ANTHONIOZ – A. AUDURIER – A. AUTRET – P. BAGROS – P. BARDOS – J.L. BAULIEU – C. BERGER – J.C. BESNARD – P. BEUTTER – C. BONNARD – P. BONNET – P. BOUGNOUX – P. BURDIN – L. CASTELLANI – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – T. CONSTANS – C. COUET – L. DE LA LANDE DE CALAN – J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P. GAILLARD – G. GINIES – A. GOUAZE – J.L. GUILMOT – N. HUTEN – M. JAN – J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE – Y. LANSON – O. LE FLOCH – Y. LEBRANCHU – E. LECA – P. LECOMTE – E. LEMARIE – G. LEROY – M. MARCHAND – C. MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C. MORAIN – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – L. POURCELOT – P. RAYNAUD – D. RICHARD-LENOBLE – A. ROBIER – J.C. ROLLAND – D. ROYERE – A. SAINDELLE – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – D. SIRINELLI – B. TOUMIEUX – J. WEILL

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

ANDRES Christian.....	Biochimie et biologie moléculaire
ANGOULVANT Denis	Cardiologie
AUPART Michel.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BABUTY Dominique	Cardiologie
BAKHOS David.....	Oto-rhino-laryngologie
BALLON Nicolas.....	Psychiatrie ; addictologie
BARILLOT Isabelle	Cancérologie ; radiothérapie
BARON Christophe	Immunologie
BEJAN-ANGOULVANT Théodora	Pharmacologie clinique
BERNARD Anne	Cardiologie
BERNARD Louis	Maladies infectieuses et maladies tropicales
BLANCHARD-LAUMONNIER Emmanuelle	Biologie cellulaire
BLASCO Hélène.....	Biochimie et biologie moléculaire
BONNET-BRILHAULT Frédérique	Physiologie
BRILHAULT Jean.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BRUNEREAU Laurent	Radiologie et imagerie médicale
BRUYERE Franck.....	Urologie
BUCHLER Matthias.....	Néphrologie
CALAIS Gilles.....	Cancérologie, radiothérapie
CAMUS Vincent.....	Psychiatrie d'adultes
COLOMBAT Philippe	Hématologie, transfusion
CORCIA Philippe.....	Neurologie
COTTIER Jean-Philippe	Radiologie et imagerie médicale
DE TOFFOL Bertrand	Neurologie
DEQUIN Pierre-François.....	Thérapeutique
DESOUBEAUX Guillaume.....	Parasitologie et mycologie
DESTRIEUX Christophe	Anatomie
DIOT Patrice.....	Pneumologie
DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague	Anatomie & cytologie pathologiques
DUCLUZEAU Pierre-Henri	Endocrinologie, diabétologie, et nutrition
DUMONT Pascal.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
EL HAGE Wissam.....	Psychiatrie adultes
EHRMANN Stephan	Réanimation
FAUCHIER Laurent	Cardiologie
FAVARD Luc.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
FOUGERE Bertrand	Gériatrie
FOUQUET Bernard.....	Médecine physique et de réadaptation
FRANCOIS Patrick.....	Neurochirurgie
FROMONT-HANKARD Gaëlle	Anatomie & cytologie pathologiques
GAUDY-GRAFFIN Catherine.....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOUPILLE Philippe	Rhumatologie
GRUEL Yves.....	Hématologie, transfusion
GUERIF Fabrice	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
GUYETANT Serge	Anatomie et cytologie pathologiques
GYAN Emmanuel.....	Hématologie, transfusion
HAILLOT Olivier.....	Urologie
HALIMI Jean-Michel.....	Thérapeutique
HANKARD Régis.....	Pédiatrie
HERAULT Olivier	Hématologie, transfusion
HERBRETEAU Denis	Radiologie et imagerie médicale
HOURIOUX Christophe.....	Biologie cellulaire
LABARTHE François	Pédiatrie
LAFFON Marc	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
LARDY Hubert.....	Chirurgie infantile
LARIBI Saïd.....	Médecine d'urgence
LARTIGUE Marie-Frédérique	Bactériologie-virologie
LAURE Boris.....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
LECOMTE Thierry.....	Gastroentérologie, hépatologie
LESCANNE Emmanuel.....	Oto-rhino-laryngologie
LINASSIER Claude	Cancérologie, radiothérapie
MACHET Laurent	Dermato-vénéréologie
MAILLOT François	Médecine interne
MARCHAND-ADAM Sylvain	Pneumologie
MARRET Henri	Gynécologie-obstétrique

MARUANI Annabel	Dermatologie-vénéréologie
MEREGHETTI Laurent	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MITANCHEZ Delphine	Pédiatrie
MORINIERE Sylvain	Oto-rhino-laryngologie
MOUSSATA Driffa	Gastro-entérologie
MULLEMAN Denis	Rhumatologie
ODENT Thierry	Chirurgie infantile
OUAÏSSI Mehdi	Chirurgie digestive
OULDAMER Lobna	Gynécologie-obstétrique
PAINTAUD Gilles	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PATAT Frédéric	Biophysique et médecine nucléaire
PERROTIN Dominique	Réanimation médicale, médecine d'urgence
PERROTIN Franck	Gynécologie-obstétrique
PISELLA Pierre-Jean	Ophtalmologie
PLANTIER Laurent	Physiologie
REMERAND Francis	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
ROINGEARD Philippe	Biologie cellulaire
ROSSET Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
RUSCH Emmanuel	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
SAINT-MARTIN Pauline	Médecine légale et droit de la santé
SALAME Ephrem	Chirurgie digestive
SAMIMI Mahtab	Dermatologie-vénéréologie
SANTIAGO-RIBEIRO Maria	Biophysique et médecine nucléaire
THOMAS-CASTELNAU Pierre	Pédiatrie
TOUTAIN Annick	Génétique
VAILLANT Loïc	Dermato-vénéréologie
VELUT Stéphane	Anatomie
VOURC'H Patrick	Biochimie et biologie moléculaire
WATIER Hervé	Immunologie

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

DIBAO-DINA Clarisse
LEBEAU Jean-Pierre

PROFESSEURS ASSOCIES

MALLET Donatien Soins palliatifs || POTIER Alain | Médecine Générale |
| ROBERT Jean | Médecine Générale |

PROFESSEUR CERTIFIE DU 2ND DEGRE

MC CARTHY Catherine Anglais |

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

BARBIER Louise	Chirurgie digestive
BERHOUEZ Julien	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BRUNAULT Paul	Psychiatrie d'adultes, addictologie
CAILLE Agnès	Biostat., informatique médicale et technologies de communication
CLEMENTY Nicolas	Cardiologie
DENIS Frédéric	Odontologie
DOMELIER Anne-Sophie	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
DUFOR Diane	Biophysique et médecine nucléaire
ELKRIEF Laure	Hépatologie – gastroentérologie
FAVRAIS Géraldine	Pédiatrie
FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie	Anatomie et cytologie pathologiques
GATAULT Philippe	Néphrologie
GOUILLEUX Valérie	Immunologie
GUILLON Antoine	Réanimation
GUILLON-GRAMMATICO Leslie	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
HOARAU Cyrille	Immunologie

IVANES Fabrice	Physiologie
LE GUELLEC Chantal.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
LEFORT Bruno.....	Pédiatrie
LEMAIGNEN Adrien	Maladies infectieuses
MACHET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques
MOREL Baptiste	Radiologie pédiatrique
PIVER Éric.....	Biochimie et biologie moléculaire
REROLLE Camille.....	Médecine légale
ROUMY Jérôme	Biophysique et médecine nucléaire
SAUTENET Bénédicte	Thérapeutique
TERNANT David.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
VUILLAUME-WINTER Marie-Laure.....	Génétique
ZEMMOURA Ilyess	Neurochirurgie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

AGUILLON-HERNANDEZ Nadia.....	Neurosciences
BOREL Stéphanie.....	Orthophonie
MONJAUZE Cécile	Sciences du langage – orthophonie
NICOGLOU Antonine	Philosophie – histoire des sciences et des techniques
PATIENT Romuald.....	Biologie cellulaire
RENOUX-JACQUET Cécile	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

RUIZ Christophe.....	Médecine Générale
SAMKO Boris.....	Médecine Générale

CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRA

BOUAKAZ Ayache	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
CHALON Sylvie	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
COURTY Yves	Chargé de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
DE ROCQUIGNY Hugues	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1259
ESCOFFRE Jean-Michel.....	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
GILLOT Philippe.....	Chargé de Recherche INRA – UMR INRA 1282
GOUILLEUX Fabrice	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7001
GOMOT Marie.....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
HEUZE-VOURCH Nathalie.....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
KORKMAZ Brice.....	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
LAUMONNIER Frédéric	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
MAZURIER Frédéric.....	Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS 7001
MEUNIER Jean-Christophe	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1259
PAGET Christophe	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
RAOUL William	Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS 7001
SI TAHAR Mustapha	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
WARDAK Claire.....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour l'Ecole d'Orthophonie

DELORE Claire	Orthophoniste
GOUIN Jean-Marie.....	Praticien Hospitalier

Pour l'Ecole d'Orthoptie

MAJZOUB Samuel.....	Praticien Hospitalier
---------------------	-----------------------

Pour l'Ethique Médicale

BIRMELE Béatrice.....	Praticien Hospitalier
-----------------------	-----------------------

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté,
de mes chers condisciples
et selon la tradition d'Hippocrate,
je promets et je jure 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 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 et reconnaissant 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 d'opprobre
et méprisé de mes confrères
si j'y manque.

Remerciements

A l'ensemble de mon jury de thèse

Au président, Monsieur le Professeur Christian Andres,

Vous me faites l'honneur de présider mon jury de thèse, je vous remercie de partager votre expertise sur le sujet.

A mon directeur de thèse, Monsieur le Professeur Pierre Thomas-Castelnau,

Vous m'aurez accompagné tout le long de mon parcours d'interne. Je vous remercie de m'avoir toujours soutenue dans mon projet d'être neuropédiatre.

Aux membres du jury,

Merci d'avoir accepté d'être présents ce mercredi matin afin de juger mon travail de thèse.

A toutes les personnes qui ont participé activement à ce travail,

A Camille D., merci de m'avoir tant aidé dans ce travail pré clinique pour lequel j'étais complètement perdu au départ. Merci pour ta gentillesse et ta disponibilité. Merci de ta patience pour m'initier aux bases informatiques.

A Bobo, Cécile et toute l'équipe 3 de l'unité INSERM U1253, merci de votre accueil durant six mois.

Aux équipes médicales et paramédicales qui m'ont accompagnée au cours de mon internat,

Au Docteur Emmanuelle Lagrue, merci de ton soutien sans faille durant ces cinq dernières années. Merci pour ta bienveillance, ton encadrement, ta disponibilité et tes conseils avisés durant tout notre travail de mémoire.

A l'équipe de neurologie pédiatrique du CHRU de Tours,

Aux médecins (Emmanuelle, Marie-Anne, Elisabeth, Maximilien et Pr Castelnau), merci de votre confiance afin de venir poursuivre ma formation à vos côtés.

A l'équipe paramédicale, merci de votre soutien dans mes débuts en tant que jeune interne dans le service.

Merci à tous de votre passion qui n'a fait que confirmer mon envie de devenir neuropédiatre.

A l'équipe de réanimation pédiatrique du CHRU de Tours,

Aux médecins (Julie, Claire, Charlotte, Nicolas et Nadine), merci de m'avoir fait très tôt confiance. Merci de m'avoir donné la chance de faire des gardes seniorisées depuis juillet 2017. Merci de m'avoir tant appris et de m'avoir fait grandir et murir en tant que futur médecin.

A toute l'équipe, merci pour votre bonne humeur inébranlable, merci pour vos fous sourires, merci pour vos notations de prescriptions (certes sévères), merci de commander le Midazolam sur Amazon et de rendre ainsi nos gardes aussi sympas... Merci pour votre soutien et vos encouragements, même dans les moments difficiles.

Aux médecins neurochirurgiens pédiatriques, à Nadine et à Antoine, merci de m'avoir accueilli au sein d'un service de chirurgie dans lequel je n'avais aucune expérience. Merci de m'avoir permis de découvrir le cerveau « de l'intérieur ». Merci à tous les deux pour votre gentillesse.

A l'équipe de SSR pédiatrique, A Annie-Laure, merci de m'avoir fait confiance et tant appris durant ces six mois au SSR. *Aux équipes paramédicales*, merci de votre accueil et de vos sourires quotidiens.

A l'équipe de réanimation néonatale et SAMU, merci de m'avoir permis de visiter des endroits dont je ne connaissais même pas les noms dans la région centre voire même plus loin... Merci pour votre confiance et vos encouragements.

A mes co-internes (Mathilde, Jérôme, Julien, Caro), ce fut un plaisir de vous croiser pour un papotage ou un café. *A Chloé*, merci pour tous ces moments partagés ensemble. *A Léa*, merci pour les débriefings de garde et pour ta réassurance.

A mes amis,

A mes copines d'amour,

A Aude, Camille, Céline et Marion, merci de m'avoir toujours encouragé, soutenu, écouté dans les bons et les mauvais moments. Merci de toujours croire en moi, même quand je n'y crois plus moi-même. Merci de me supporter, moi et mon obstination aux nuits blanches.

A toutes, à Aude, Camille, Céline, Marion, Anne, Audrey, Coco, Lanlan, Laura, et Pia, merci bien sûr pour nos fous rires, pour nos soirées mémorables, pour nos apéros vovray qui parfois entraînent quelques maux de crânes légers...

A tous, à ce groupe si bien nommé La Famille,

A Geo, Ram, Jo, Baf, Manu, Greg, Tata, Boj, Vince, Teuf, Kiki, Aurélie et Morgane, merci de me tolérer même si je sais au combien parfois c'est dur. Merci de toujours être là.

A Bastos, merci d'avoir mis tes talents de grand historien à mon service et d'avoir relu mon manuscrit même si tu n'y as rien compris.

A mes co externes devenus mes amis expatriés à Bordeaux ou pire,

A Benou, merci de m'avoir soutenu en sabordant ta troisième année de médecine. Merci pour ces heures à la BU accompagnées de parties de tarot qui s'éternisaient parfois.

A Toto, merci pour ces délicieux repas à base de restes de frigo lors des colles pré ecn. Merci pour ton énergie, même tard le soir.

A Tantris, merci d'avoir relevé le niveau et de nous avoir montré le chemin. En revanche, je ne te remercie pas d'avoir entraîné les autres en Gironde.

A ma famille,

A mes parents, merci d'avoir soutenu ce projet fou de faire 12 ans d'études et de m'avoir tant appris au fil des années.

A mon bisou, merci d'essayer de combattre ta phobie de la prise de tension artérielle et du sang en général pour m'écouter.

A ma mimi, merci de toujours être là en cas de besoin, de loin ou de près.

A ma tata, merci de m'avoir accueilli pendant ces longs mois et de m'avoir permis de poursuivre ma formation à Necker.

A mes grands-parents, Michel, Christine, Sylvie, Pascal, à tous, merci de votre soutien.

A Véro et Jean Jacques, merci de m'avoir accueilli au sein de votre belle famille.

A Quentin, je ne pourrais jamais assez te remercier car, grâce à toi, je vais être pédiatre. Merci de m'écouter (ou pas parfois d'ailleurs) pendant des heures, merci d'avoir mis de côté pour moi ta haine des conversations téléphoniques, merci de croire en moi à chaque instant depuis plus de dix ans, merci d'avoir appris la patience pour me supporter. Merci.

A Romain, à Lisa, à Abir, à Maé,

Merci de votre courage, ainsi qu'à vos parents admirables.

Merci de faire de ce métier le plus beau métier du monde.

Liste des abréviations

CRTLA : Centre de Référence des Troubles du Langage et des Apprentissages
DMN : Réseau du Mode par Défaut (Default Mode Network)
DSM-V: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th edition
GABA : Acide Gamma Amino Butyrique
HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance
HRMS : Spectromètre de masse à haute résolution
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
MPH : Méthylphénidate
PCA : Analyse en Composante Principale
QC : Contrôle Qualité
QIT : Quotient intellectuel Total
SHR/NCrl : Spontaneously Hypertensive Rats ; Charles River Allemagne
TDAH : Trouble de Déficit d'Attention avec ou sans Hyperactivité
TEP : Tomographie par Emission de Positons
WKY/NHsd ; Wistar Kyoto, Envigo Royaume-Uni
5 HIAA : Acide 5 hydroxy Indole Acétique
3MeOTyramine : 3-MétoxyTyramine

REMERCIEMENTS.....	7
LISTE DES ABREVIATIONS.....	11
I. INTRODUCTION.....	13
1. TROUBLE DE DEFICIT DE L'ATTENTION AVEC OU SANS HYPERACTIVITE (TDAH)	13
a. Généralités.....	13
b. Diagnostic du TDAH	13
c. Ressources thérapeutiques du TDAH	14
2. ETIOLOGIES DU TDAH	14
a. Génétique et Environnement.....	14
b. Théories Neuropsychologiques	15
c. Anomalies neurobiologiques	16
3. MODELES ANIMAUX DU TDAH	17
II. OBJECTIFS	18
III. MATERIELS ET METHODES.....	19
1. MODELE ANIMAL	19
2. PREPARATION DES ECHANTILLONS	19
3. ANALYSE METABOLOMIQUE CIBLEE.....	21
4. ANALYSE STATISTIQUE.....	21
IV. RESULTATS	22
1. HIPPOCAMPE	22
2. AMYGDALE	22
3. STRIATUM VENTRAL	22
4. STRIATUM DORSAL.....	22
5. CORTEX ORBITO-FRONTAL	23
6. CORTEX PRE-LIMBIQUE.....	23
7. CORTEX MOTEUR	23
8. CORTEX PARIETAL	23
9. CERVELET	23
V. DISCUSSION.....	30
1. DE NOMBREUSES ALTERATIONS NEUROTRANSMISSIONNELLES	30
a. Catécholamines.....	30
b. Acétylcholine.....	30
c. Sérotonine	31
d. GABA.....	31
2. DYSREGULATION AU SEIN DES RESEAUX	31
3. LIMITES DE NOTRE ETUDE	32
4. ETUDE CLINIQUE.....	33
5. CONCLUSION.....	33
ANNEXES	34
BIBLIOGRAPHIE.....	41

I. Introduction

1. Trouble de Déficit de l'Attention avec ou sans Hyperactivité (TDAH)

a. Généralités

Le Trouble de Déficit de l'Attention avec ou sans Hyperactivité (TDAH) est une pathologie du neurodéveloppement très hétérogène sur le plan clinique, mais aussi sur le plan étiologique (1). Ce trouble a été décrit pour la première fois par un physicien Allemand, Melchior Adam Weikard, en 1775. En 1937, l'efficacité de l'amphétamine sur les symptômes est découverte. Ce n'est que dans les années 1940 que des altérations neurobiologiques sont associées à des symptômes semblables à ceux du TDAH. En 1980, le premier outil diagnostic opérationnel est créé (le Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM) III publie une nouvelle dénomination « déficit de l'attention »). Il permet un développement considérable des recherches fondamentales et cliniques sur cette pathologie qui, progressivement, est considérée comme un trouble sérieux, persistant, induit par des mécanismes complexes et présentant une prévalence importante (2).

Le TDAH touche environ 5 à 7 % des enfants en âge scolaire et persiste dans 60 % des cas à l'âge adulte (3). Il se caractérise par trois symptômes majeurs regroupés en deux sphères phénotypiques : le déficit en attention et l'hyperactivité/impulsivité (DSM-V, 2013) (4). L'inattention se traduit chez les patients par une incapacité à (i) soutenir son attention ou à persister dans une activité, (ii) à se rappeler et suivre des instructions pour la réalisation d'une tâche, et (iii) à résister à la distraction pendant la réalisation d'une tâche. L'hyperactivité/impulsivité est caractérisée par une activité excessive, des actions impulsives, des difficultés à attendre son tour et à ne pas interrompre les activités des autres.

b. Diagnostic du TDAH

Il n'existe aucune mesure biologique ou d'imagerie objective pour le diagnostic du TDAH. Celui-ci se fait donc par l'entretien clinique et l'identification des facteurs comportementaux posant problème.

Au niveau international, deux nomenclatures de critères diagnostiques sont actuellement utilisées de façon courante : les critères DSM (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) qui définissent le TDAH et les critères de la CIM-10 (International Classification of Diseases, OMS) aboutissant au diagnostic de trouble hyperkinétique. Les troubles doivent être présents depuis au moins 6 mois et avoir un retentissement dans plusieurs domaines de la vie du patient (scolarité, activités sociales, domicile, relations familiales et sociales etc.), sans pour autant être lié à une autre maladie psychiatrique. Le DSM-V définit deux échelles comportementales à 9 items évaluant l'inattention et l'hyperactivité/impulsivité. Le patient doit correspondre à, au moins, 6 items sur 9 pour être

catégorisé inattentif et/ou hyperactif/impulsif (Annexe 1). Dans de nombreux pays, ces critères sont complétés par des questionnaires type Conners soumis à la famille et aux enseignants (Annexe 2 et 3). En France, le diagnostic inclut aussi une évaluation neuropsychologique ayant pour but de mettre en évidence des troubles de l'attention et des fonctions exécutives. Ce bilan comprend toujours dans sa globalité : (i) un entretien d'anamnèse avec le patient ainsi que ses parents. Cet entretien revient sur les données médicales, le comportement, la sociabilité, la scolarité, le monde du travail, les loisirs et (ii) la passation de plusieurs batteries de tests normés en fonction de l'âge du patient. Le WISC-V permet d'évaluer l'efficacité intellectuelle, le TEA-Ch (Test of Everyday Attention for Children) permet d'évaluer les capacités attentionnelles ainsi que différents tests permettant d'évaluer les fonctions exécutives telles que la planification, la flexibilité mentale, l'inhibition et la mémoire de travail. Le Tea-CH évalue l'attention sélective (subtest recherche dans le ciel, carte géographique), l'attention soutenue (subtest coups de fusil) et l'attention divisée (subtest écouter et faire deux choses à la fois).

Selon ces critères, le TDAH est un trouble hétérogène qui peut être subdivisé en trois sous-types : (i) des patients purement inattentifs, (ii) des patients surtout hyperactifs/impulsifs ou (iii) des patients présentant tous les symptômes appartenant au sous-type combiné (DSM-V, 2013).

c. Ressources thérapeutiques du TDAH

Des psychothérapies cognitivo-comportementales sont mises en place afin de stabiliser la situation dans l'enfance puis pour rétablir l'estime de soi à partir de la préadolescence. Un traitement pharmacologique psychostimulant, le méthylphénidate (MPH), permet de diminuer les symptômes des patients avec une efficacité démontrée et peu d'effets secondaires décrits après ajustement du traitement (5). Le MPH agit comme un agoniste indirect des systèmes catécholaminergiques en bloquant les transporteurs de la dopamine et de la noradrénaline (6) (7).

Ces deux approches permettent d'assurer la meilleure scolarisation possible pour les enfants TDAH. Le traitement pharmacologique est diminué jusqu'à son arrêt dès que l'enfant a un projet scolaire bien engagé.

2. Etiologies du TDAH

a. Génétique et Environnement

L'étiologie du TDAH demeure inconnue et serait multifactorielle, impliquant à la fois des prédispositions génétiques et des facteurs environnementaux. En effet, il a été démontré une forte héritabilité (0,77) dans le TDAH selon de nombreuses études relatives aux jumeaux (3). La génétique contribuerait à 76% des cas de TDAH selon les études (8). Des gènes codant des protéines synaptiques et des protéines engagées dans les systèmes de

neurotransmissions monoaminergiques (Tableau I) seraient impliqués dans le développement de la maladie.

Cependant, le polymorphisme de ces gènes n'est pas la seule cause des symptômes du TDAH, l'environnement interviendrait aussi dans le développement de la maladie. En effet, des données suggèrent qu'une exposition prénatale à diverses substances toxiques, telles que la nicotine, la cocaïne ou l'alcool serait des conditions favorables au développement du TDAH (9) (10).

Gène impliqués dans la neurotransmission et la neuroplasticité	Gènes impliqués dans les neurotransmissions monoaminergiques		
	Gènes DA	Gènes NE	Gènes 5-HT
SNAP25			
CHRNA4			
NMDA	DDR4	NET1/SLC6A2	5-HTT/SLC6A4
BDNF	DDR5	ADRA2A	HTR1B
NGF	DAT1/SLC6A3	ADRA2C	HTR2A
NTF3	DBH		TPH2
NTF4/5	DDC		
GDNF			

TABEAU I: LISTE DES GENES IMPLIQUES DANS LE TDAH, CODANT DES PROTEINES SYNAPTIQUES (DE LA NEUROTRANSMISSION ET DE LA NEUROPLASTICITE) ET DES PROTEINES DE LA NEUROTRANSMISSION MONOAMINERGIQUE (MICK ET AL., 2008).

b. Théories Neuropsychologiques

En parallèle des études génétiques et environnementales, des théories neuropsychologiques ont aussi été proposées. L'une des premières théories modernes du TDAH a été établie par Barkley en 1997. Elle proposait le déficit d'inhibition comportementale comme étant à l'origine des troubles observés chez les patients. L'inhibition comportementale est un processus cognitif qui permet de résister aux interférences et de renoncer à tout comportement inadapté ou automatique. Ce modèle théorique met en relation le dysfonctionnement de 4 types de fonctions exécutives à la suite du défaut d'inhibition comportementale : la mémoire de travail, l'internalisation du langage, l'autorégulation de l'affect, de la motivation et de l'éveil et la reconstitution (11) (Annexe 4). Des anomalies de ces différentes fonctions seraient à l'origine de dysfonction d'inhibition comportementale, et donc

peut-être à l'origine des symptômes du TDAH : le patient TDAH serait incapable d'inhiber une réponse habituelle face à un événement, ni d'arrêter une réponse en cours autorisant un délai de réflexion, ni de contrôler les interférences en raison des déficits observés dans chacune de ces fonctions exécutives suite à leur défaut d'inhibition comportementale.

Une deuxième théorie très influente à l'heure actuelle est la théorie à deux voies de Sonuga-Barke qui implémente la théorie de Barkley en y ajoutant une valence motivationnelle à la composante de l'aversion au délai. Ces comportements seraient provoqués par des dysfonctions du système de contrôle exécutif et du circuit de la récompense (Annexe 5). Les systèmes de contrôle exécutif et de la récompense étant innervés par les voies dopaminergiques mésocorticale et nigrostriée, ainsi que par la voie dopaminergique mésolimbique. Sonuga-Barke souligne le fait que les symptômes du TDAH pourraient être dus à une altération d'une de ces voies dopaminergiques, voire des trois, dans le cas d'un patient présentant les 3 symptômes associés (impulsivité, hyperactivité et inattention).

c. Anomalies neurobiologiques

Ces hypothèses neuropsychologiques ont été testées par de nombreuses études de neuro-imagerie clinique afin de mieux comprendre les bases neurobiologiques du TDAH. Des études structurales et fonctionnelles montrent la présence d'altérations des réseaux du système exécutif, du circuit de la motivation et de la récompense, et du réseau du mode par défaut (Default Mode Network, DMN) chez les patients TDAH enfants et adultes (12) (1) (13) (Annexe 6). Le réseau du mode par défaut implique des régions cérébrales qui sont activées lorsque la personne n'est engagée dans aucune fonction cognitive. Chez les patients TDAH, ce réseau serait plus activé et aurait des difficultés à se désactiver.

Le TDAH a toujours été considéré comme une maladie provenant d'altérations neurotransmissionnelles. D'autres études ont essayé de comprendre les modifications neurotransmissionnelles à l'origine des dysfonctionnements de ces réseaux, notamment en imagerie utilisant des traceurs radioactifs. Les catécholamines ont été largement impliquées dans la physiopathologie du TDAH de par le mécanisme d'action du MPH (7).

Sur la base du mécanisme d'action du MPH, des chercheurs ont suggéré que les patients TDAH pourraient présenter une densité trop élevée de transporteurs de la dopamine (DAT) et de la noradrénaline (NET). Les études en Tomographie par Émission de Positons (TEP) réalisées jusqu'à maintenant montrent soit une augmentation, soit une diminution, soit aucun changement de la densité en DAT des patients TDAH par rapport aux témoins (14) (15) (16). Aucune étude n'a été réalisée pour quantifier le transporteur de la noradrénaline chez ces patients par manque de traceur radioactif le ciblant.

A ce jour, aucune réponse claire ni consensuelle n'a été identifiée quant à l'implication d'un système de neurotransmission dans la physiopathologie du TDAH.

3. Modèles animaux du TDAH

Le rat SHR (Spontaneously Hypertensive Rat) est le modèle le plus utilisé dans les études précliniques du TDAH (17). Les souches SHR utilisées en tant que modèle des symptômes du TDAH proviennent de l'élevage des laboratoires Charles River Laboratory (CrI). Ils sont donc appelés SHR/NCrI et sont des descendants des rats Wistar Kyoto (WKY) initialement élevés à l'école de médecine de Kyoto (18). Ces rats SHR/NCrI ont la particularité de présenter les 3 caractéristiques phénotypiques du TDAH proches de ce qui est observé en clinique (bonne validité de ressemblance), c'est-à-dire : de mauvaises performances d'attention soutenue, une hyperactivité constitutive et une impulsivité qui n'est pas dépendante de la nouveauté d'un environnement. Ces caractéristiques ont été déterminées par des tests comportementaux (19). D'un point de vue génétique, l'insertion de 160 paires de base dans l'exon 3 du gène codant le transporteur de la dopamine observée en clinique est aussi retrouvée chez les rats SHR/NCrI (20) ce qui va dans le sens d'une bonne validité de construction. La validité prédictive est l'objet d'une controverse. Certaines études montrent des effets du méthylphénidate sur les symptômes des rats, quand d'autres ne voient aucun effet (21) (22). Néanmoins, le méthylphénidate entraîne une augmentation de libération de dopamine dans le striatum dorsal et ventral des rats SHR/NCrI en comparaison aux témoins (23) comme observé en clinique (24).

Les études menées sur ce modèle animal suggèrent que les rats SHR présenteraient une perturbation de la balance dopamine/noradrénaline dans différentes régions cérébrales, notamment au niveau du cortex pré-frontal et du striatum (20)(25)(26)(27). Toutes ces études ont été conduites avant la description du modèle de rats TDAH faite en 2009 par Sagvolden et ses collaborateurs. Cette dernière étude montre que seuls les rats SHR provenant de l'élevage Charles River en Allemagne (SHR/NCrI) présentent des troubles attentionnels ainsi qu'une hyperactivité/impulsivité similaires à celles rencontrées en clinique (17). Il est nécessaire de les comparer à des WKY provenant de l'élevage Harlan en Angleterre (WKY/NHsd) afin d'avoir les meilleurs rats contrôles. En effet, selon la provenance du rat WKY, il existe des différences de fond génétique qui occasionnent des difficultés à interpréter les résultats des études.

II. Objectifs

L'objectif principal de l'étude préclinique est de mieux comprendre la présence de modifications neurotransmissionnelles des catécholamines dans le TDAH. Notre hypothèse est qu'il existe une hypodopaminergie impliqué dans la physiopathologie du TDAH.

L'objectif secondaire est d'étudier la présence d'anomalies d'autres neurotransmetteurs dans différentes régions cérébrales chez des rats SHR/NCrl, considérés modèle de TDAH par comparaison à des rats WKY/NHsd, considérés comme témoins.

L'objectif de l'étude clinique est d'identifier des marqueurs métabolomiques communs chez des enfants avec TDAH non traité en comparaison avec des enfants témoins.

III. MATERIELS ET METHODES

1. Modèle animal

Les animaux utilisés dans cette étude sont des rats mâles de souche SHR/ NCrI (n=8; Charles River, Allemagne) et des rats mâles de souche Wistar Kyoto WKY/NHsd (n=8; Harlan, Royaume-Uni). Huit rats de chaque groupe sont reçus à six semaines et sont hébergés par deux, en présence d'un enrichissement comprenant un tunnel en plastique et une feuille de sopalin, avec l'eau et la nourriture disponible à volonté. La température de la salle est maintenue autour de 21°C, l'humidité est contrôlée et le cycle de lumière est conservée (obscurité 19h-7h, lumière 7h-19h). Les rats arrivent une semaine avant le début des expériences afin de leur laisser le temps de s'acclimater à l'environnement et pour diminuer le stress.

2. Préparation des échantillons

Les rats sont mis à mort par décapitation pour prélever le cerveau et disséquer dix régions d'intérêt. Les structures sont disséquées, prélevées sur glace et incluent 10 régions cérébrales : le cortex orbito-frontal, le cortex pré-limbique, le cortex moteur, le cortex pariétal, le striatum dorsal, le striatum ventral, l'amygdale, l'hippocampe, le cervelet limbique et cognitif (Figure 1). Les échantillons sont stockés dans des tubes eppendorff puis congelés à -80°.

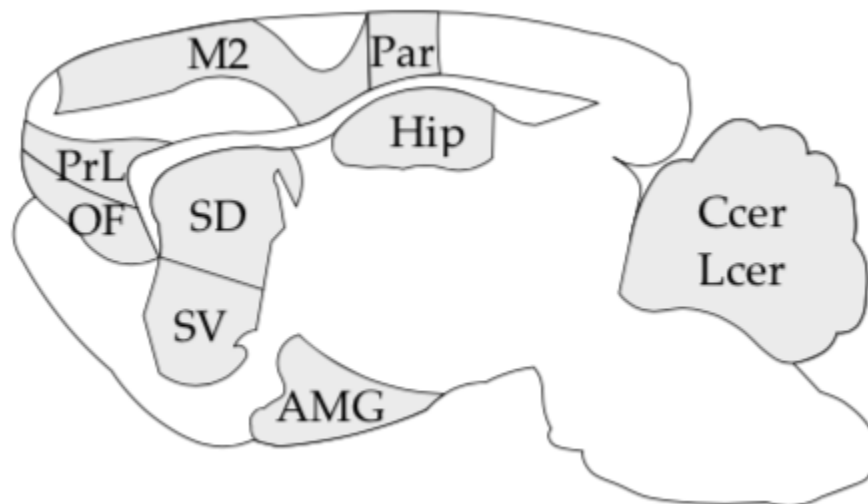


Figure 1 – régions prélevées, coupe sagittale de cerveau de rats (paxinos et Watson, Rat Brain Atlas, 2008).

Après prélèvements des structures d'intérêt (Figure 2), la première étape de la préparation des échantillons est la lyophilisation pendant 48h afin d'éliminer l'eau des structures et obtenir une masse sèche d'échantillon (FreeZone® Freezer Dry Systems 4.5, Labcon®, États-Unis). La lyophilisation permet de retirer l'eau de notre structure solide grâce à la surgélation qui sublime

l'eau passant de l'état solide à l'état gazeux, puis grâce à une évaporation sous vide. Pour chaque région, 3mg de matière sèche sont pesés et stockés dans d'autres tubes eppendorff. Lors de cette étape, des Contrôles Qualités (QC) de 3 mg chacun sont préparés. Ces QC viennent de deux cervelets de rats témoins prévus en plus qui sont extraits de la même manière que les échantillons de l'étude en ajoutant une quantité connue en métabolites. Une fois les QC analysés, la quantité calculée est comparée à la quantité ajoutée. Cela permet ainsi de valider le bon déroulement de la série de dosage.

L'étape suivante est une extraction pour séparer les protéines des métabolites afin de ne récupérer que les métabolites. Cela consiste en une précipitation protéique lente par ajout de 400µL d'une solution composée d'eau et d'acétonitrile (60/40). On ajoute à cette préparation 100µL d'une solution d'étalon interne. Le dosage par étalonnage interne repose sur l'ajout en quantité parfaitement connue et unique, dans tous les échantillons, d'une molécule qui sert de référence (étalon interne) durant les phases du dosage (extraction et analyse par spectrométrie de masse). Les intensités des molécules sont divisées par l'intensité de l'étalon interne pour obtenir un ratio et cela permet de tracer une courbe d'étalonnage : $\text{Ratio} = f(\text{Concentration})$.

Après précipitation protéique lente (les échantillons sont agités à 4°C pendant 30 minutes), le précipité alors formé est séparé du surnageant par centrifugation (Thermo multifuge X1R, Thermo Fisher, Etats-Unis) à 5000 RPM à 4°C pendant 20min.

Le surnageant est ensuite repris pour être évaporé à l'aide d'un Speedvac (Savant SPD 111v, SpeedVac, Thermo Scientific, Etats-Unis) à 40°C pendant 3h30.

L'extrait sec de l'échantillon obtenu est enfin dissout dans une solution de 100µL d'acétonitrile et d'eau (90/10) puis est transvasé dans un vial avec insert. 5 µL de cet extrait sont analysés.

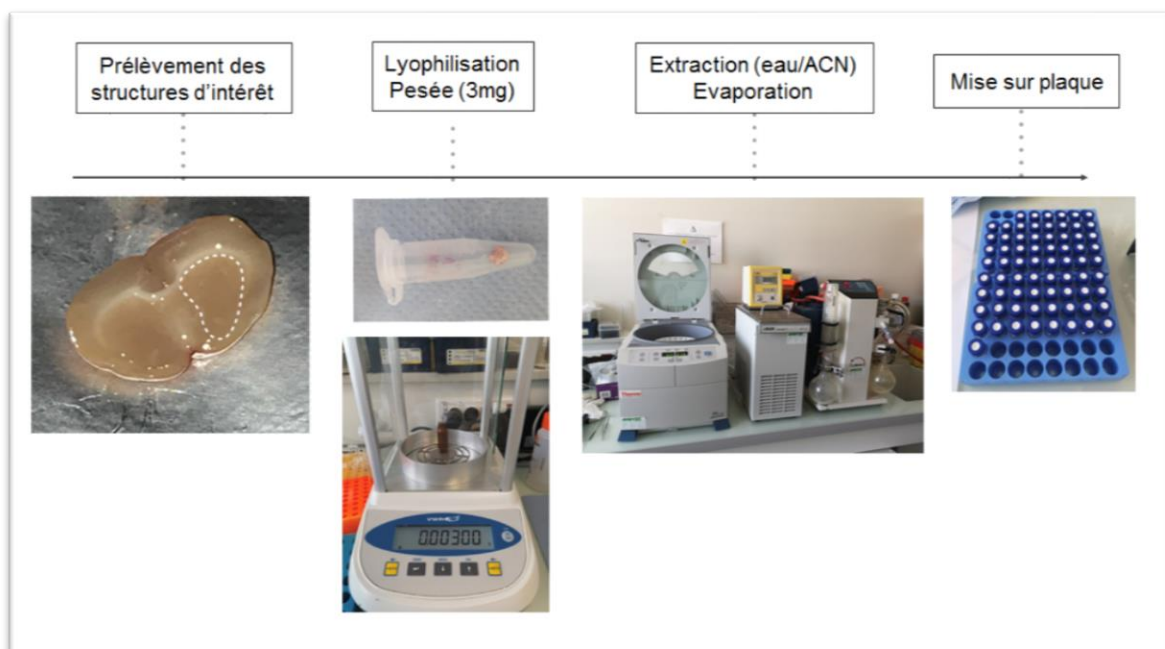


Figure 2 – protocole de traitement des échantillons

3. Analyse métabolomique ciblée

La métabolomique désigne l'approche intégrative consistant à analyser de façon globale l'ensemble des petites molécules (métabolites) d'un système biologique (appelé «métabolome»). L'approche ciblée, utilisée depuis de nombreuses années, s'intéresse à des familles particulières de métabolites. Des méthodes analytiques robustes et sensibles ont été développées pour caractériser et quantifier chaque famille de métabolites par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée à la spectrométrie de masse (28).

La chromatographie est une technique analytique permettant la séparation de composés en fonction de leurs propriétés physico-chimiques. Cette technique est basée sur les différences d'affinités entre la substance à analyser et deux phases, l'une stationnaire (la colonne), l'autre mobile (l'éluant). L'échantillon traverse la colonne poussé par la phase mobile. La détection des composés séparés est représentée par un chromatogramme caractérisé par un ensemble de pics gaussiens.

Plusieurs types de phase stationnaire existent en HPLC : les phases à polarité inverse (apolaires et hydrophobes) et les phases à polarité normale (polaires et hydrophiles). Chacune de ces phases est utilisée en fonction de la nature des composés à séparer. Dans notre étude, la colonne en phase inverse est plus adaptée aux neurotransmetteurs.

La phase inverse est composée de particules de silice (groupe silanols Si-OH) sur lesquelles sont greffées des chaînes alkyles à 8 ou 18 atomes de carbones.

La spectrométrie de masse permet de transformer des molécules de leur état naturel en ions à l'état gazeux. L'ion est mesuré en fonction de son rapport masse sur charge électrique (m/z), où m est l'unité de masse atomique et z le nombre de charges portées par l'ion. L'unité de mesure de m/z est le Thomson (Th).

Nous utilisons dans cette étude une spectrométrie de masse triple quadripôle pour une quantification précise des métabolites.

Les métabolites dosés sont : (i) dans la voie catécholaminergique, la tyrosine, la 3-méthoxytyramine, la tyramine, la L DOPA, la dopamine, la noradrénaline et l'adrénaline ; (ii) dans la voie sérotoninergique, le 5 Hydroxy Indole Acétique acide (5HIAA) et la sérotonine ; (iii) dans la voie glutamatergique, la glutamine, le glutamate et le GABA ; (iv) l'acétylcholine.

4. Analyse statistique

Les moyennes entre les groupes sont évaluées par un test de Wilcoxon-Mann-Whitney. Il s'agit d'un test statistique non paramétrique permettant de comparer les moyennes entre des groupes. Le seuil de significativité est fixé à $p < 0,05$.

IV. RESULTATS

Les résultats sont présentés par région cérébrale et par voie de neurotransmetteurs.

1. Hippocampe

Les seuls résultats significatifs concernent les catécholamines. Les rats SHR/NCrI ont une augmentation significative de la L dopa en comparaison avec les rats témoins ($p=0,039$) ; de même, les rats SHR/NCrI ont une diminution significative de noradrénaline par rapport aux rats témoins ($p=0,0078$) (Figure 3).

Il n'y a pas de différence significative dans les voies glutamatergique et sérotoninergique.

2. Amygdale

Par comparaison avec les animaux témoins, les rats SHR/NCrI ont une augmentation statistiquement significative de dopamine ($p=0,0391$).

Les rats SHR/NCrI ont une diminution statistiquement significative de glutamate en comparaison avec les rats WKY/NHsd ($p=0,0078$). En revanche, les rats SHR/NCrI ont une augmentation statistiquement significative de GABA en comparaison avec les témoins ($p=0,0179$) (figure 4).

Il n'y a pas de différence significative dans la voie sérotoninergique.

3. Striatum ventral

Concernant les catécholamines, en comparant aux animaux témoins, les rats SHR/NCrI ont une diminution statistiquement significative de dopamine ($p=0,0078$). De même, ils ont une diminution statistiquement significative d'acétylcholine en comparaison avec les rats témoins ($p=0,0234$).

Pour la voie glutamatergique, les rats SHR/NCrI ont une augmentation statistiquement significative de GABA en comparaison avec les témoins ($p=0,0391$) (Figure 5).

La voie sérotoninergique n'est pas significativement différente chez les rats SHR/NCrI et les témoins.

4. Striatum dorsal

Concernant les catécholamines, aucune différence significative n'est observée entre les rats SHR/NCrI et les témoins.

En comparaison aux rats témoins, les rats SHR/NCrI ont une diminution statistiquement significative d'acétylcholine ($p=0,0234$).

La voie sérotoninergique n'est pas statistiquement différente entre les rats SHR/NCrl et les témoins.

En comparaison aux rats témoins, les rats SHR/NCrl ont une diminution statistiquement significative de glutamine et de glutamate (respectivement $p=0,015$ et $p=0,031$). Ils ont une augmentation statistiquement significative de GABA par rapport aux rats témoins ($p=0,04$) (Figure 6).

5. Cortex orbito-frontal

Concernant les catécholamines, en comparant aux animaux témoins, les rats SHR/NCrl ont une augmentation significative de L-DOPA ($p=0,039$). De plus, ils ont une diminution statistiquement significative de noradrénaline par rapport aux témoins ($p=0,007$) (Figure 7).

Pour la voie sérotoninergique, les rats SHR/NCrl ont une diminution statistiquement significative de sérotonine par rapport aux rats témoins ($p=0,008$).

Aucune différence significative n'est mise en évidence dans la voie sérotoninergique.

6. Cortex pré-limbique

Dans le cortex pré-limbique, les rats SHR/NCrl ont une diminution statistiquement significative de sérotonine en comparaison aux témoins ($p=0,007$) (figure 8).

Il n'y aucune différence significative pour les autres métabolites entre les rats SHR/NCrl et les rats témoins.

7. Cortex moteur

Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les rats SHR/NCrl et les rats témoins (Annexe 7).

8. Cortex pariétal

De même que dans le cortex moteur, aucune différence significative n'a été trouvée entre les rats SHR/NCrl et les rats témoins dans le cortex pariétal (Annexe 8).

9. Cervelet

Le cervelet a été divisé en cervelet cognitif (PV) et limbique (V). Aucune différence significative n'a été montrée entre les rats SHR/NCrl et les rats témoins dans ces deux régions (Annexe 9).

HIPPOCAMPE

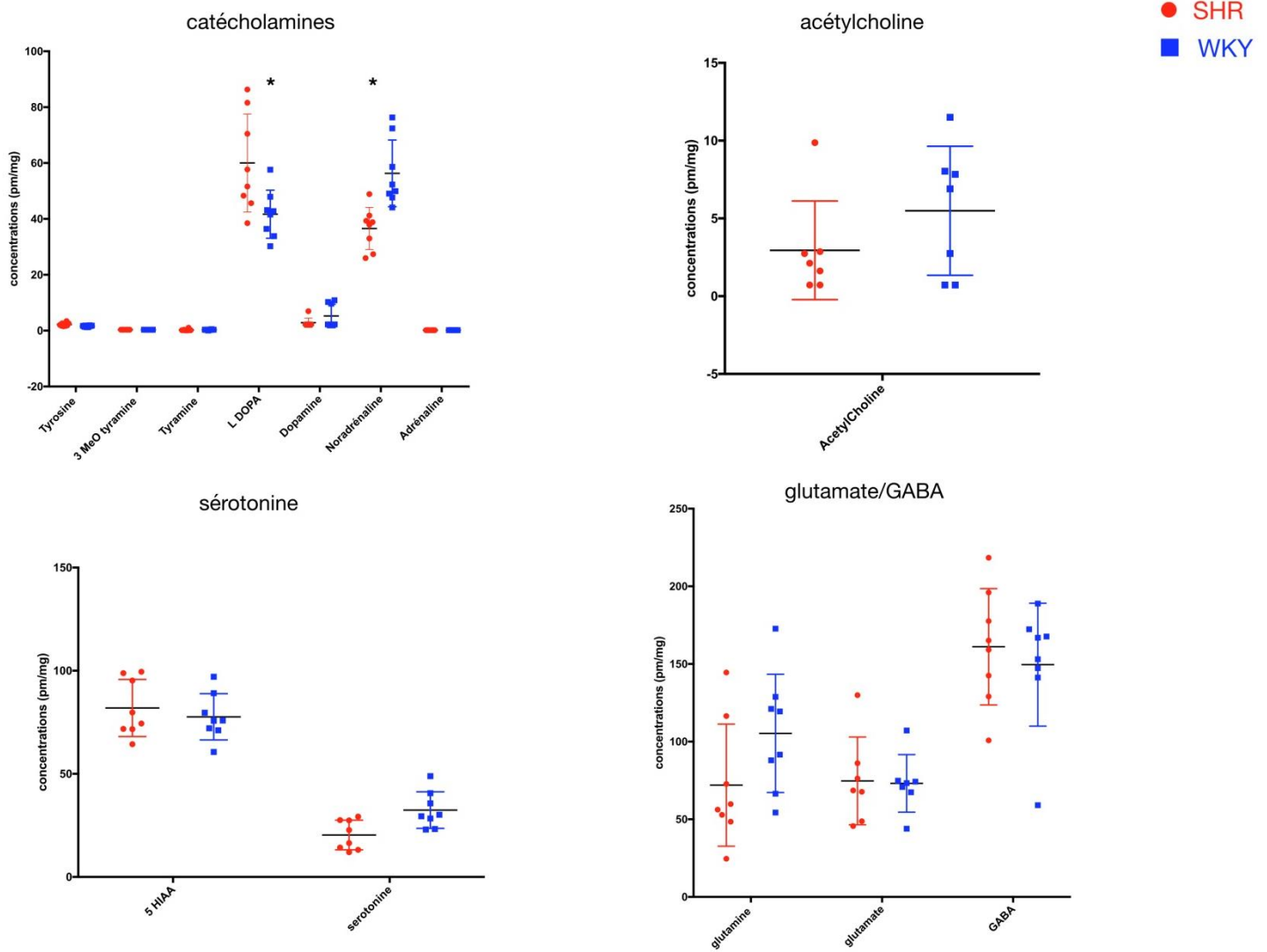


Figure 3 : Graphique représentant la comparaison des métabolites entre les rats SHR/NCrl (en rouge) vs. Les témoins WKY/NHsd (en bleu) dans l'hippocampe. Les * correspondent aux différences significatives ayant une valeur p. value < 0,05

AMYGDALÉ

● SHR
■ WKY

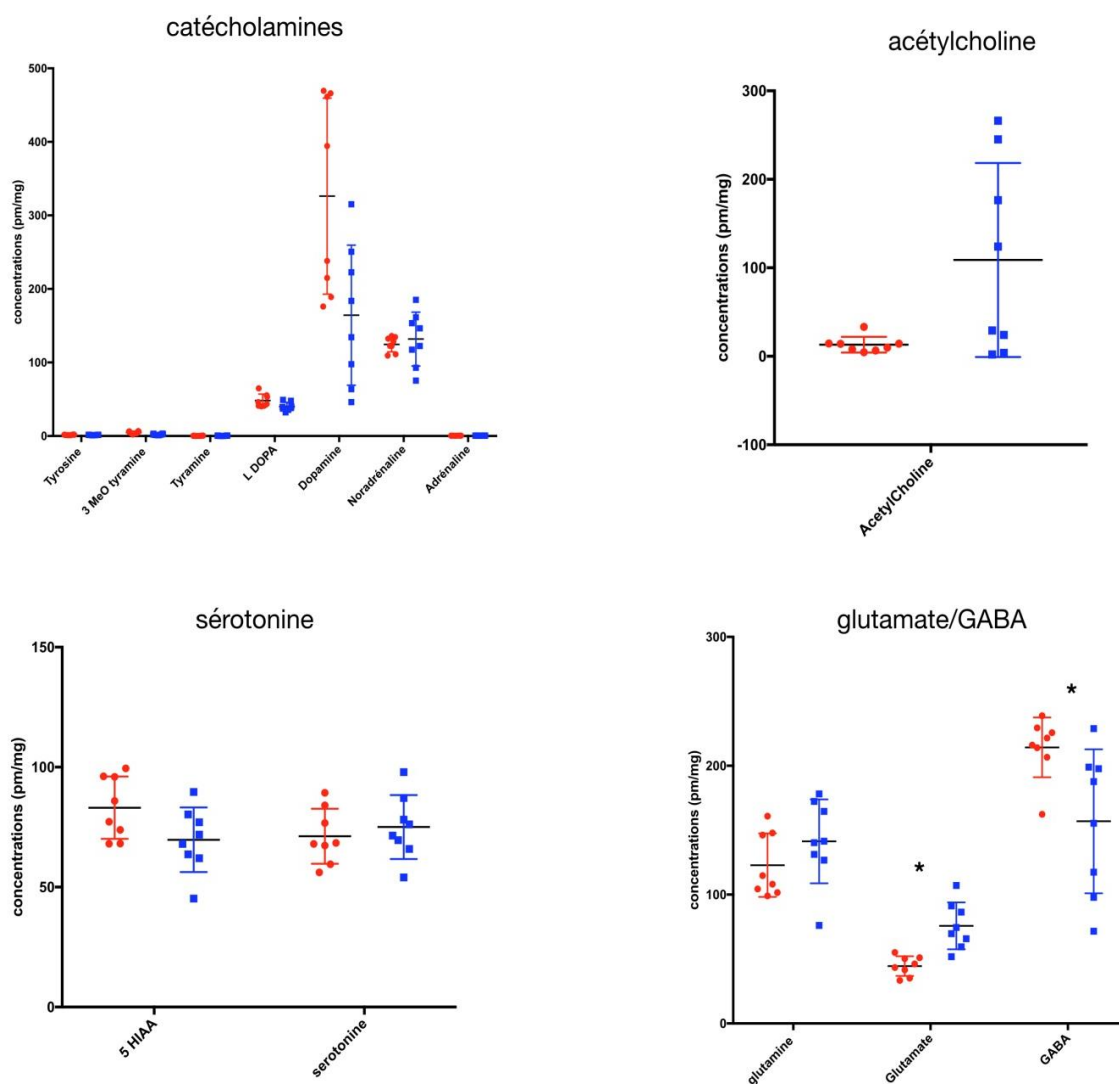


Figure 4 : Graphique représentant la comparaison des métabolites entre les rats SHR/NCrl (en rouge) vs. Les témoins WKY/NHsd (en bleu) dans l'amygdale. Les * correspondent aux différences significatives ayant une valeur p . value < 0,05.

STRIATUM VENTRAL

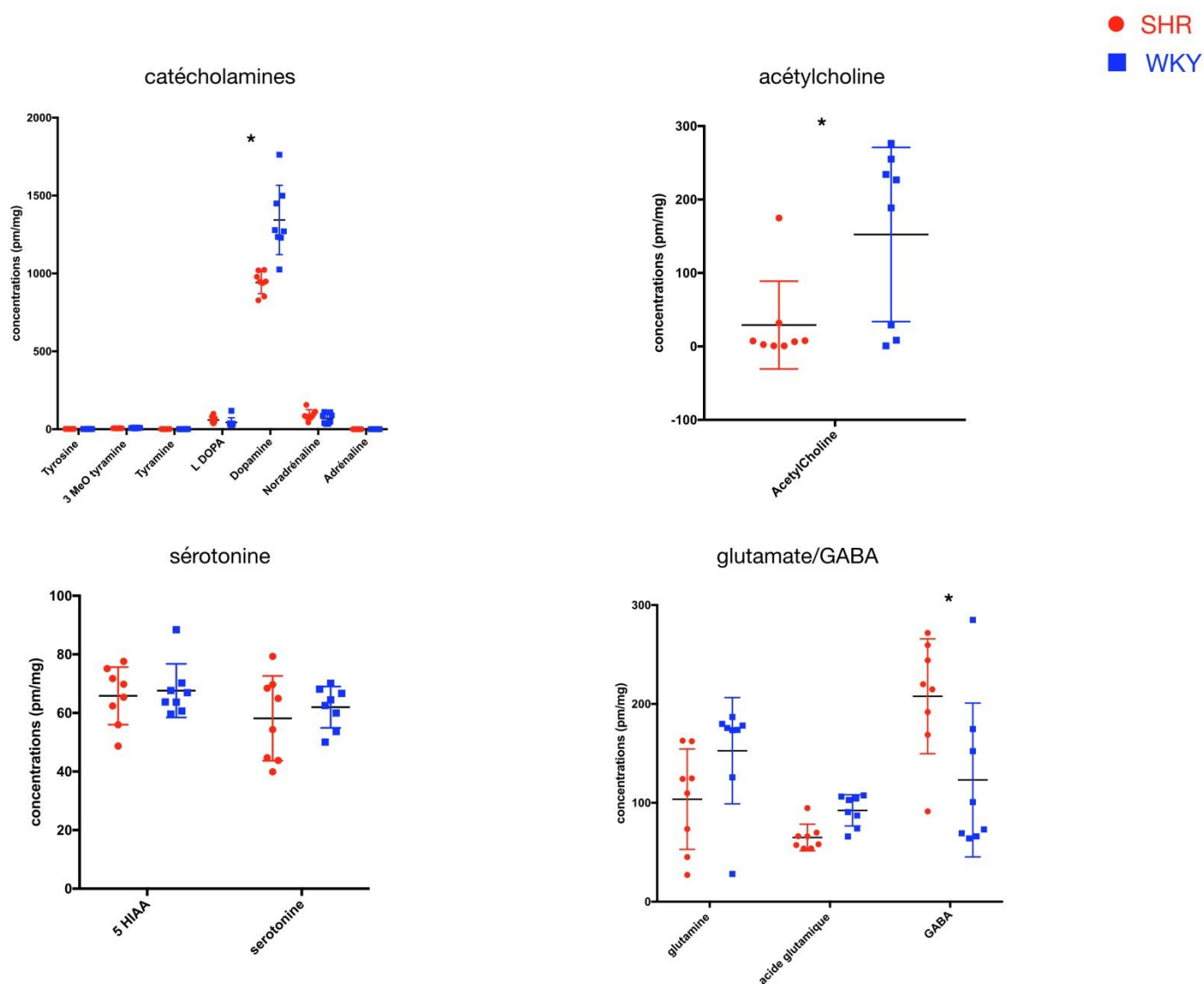


Figure 5 : Graphique représentant la comparaison des métabolites entre les rats SHR/NCrl (en rouge) vs. Les témoins WKY/NHsd (en bleu) dans le striatum ventral. Les * correspondent aux différences significatives ayant une valeur p . value < 0,05.

STRIATUM DORSAL

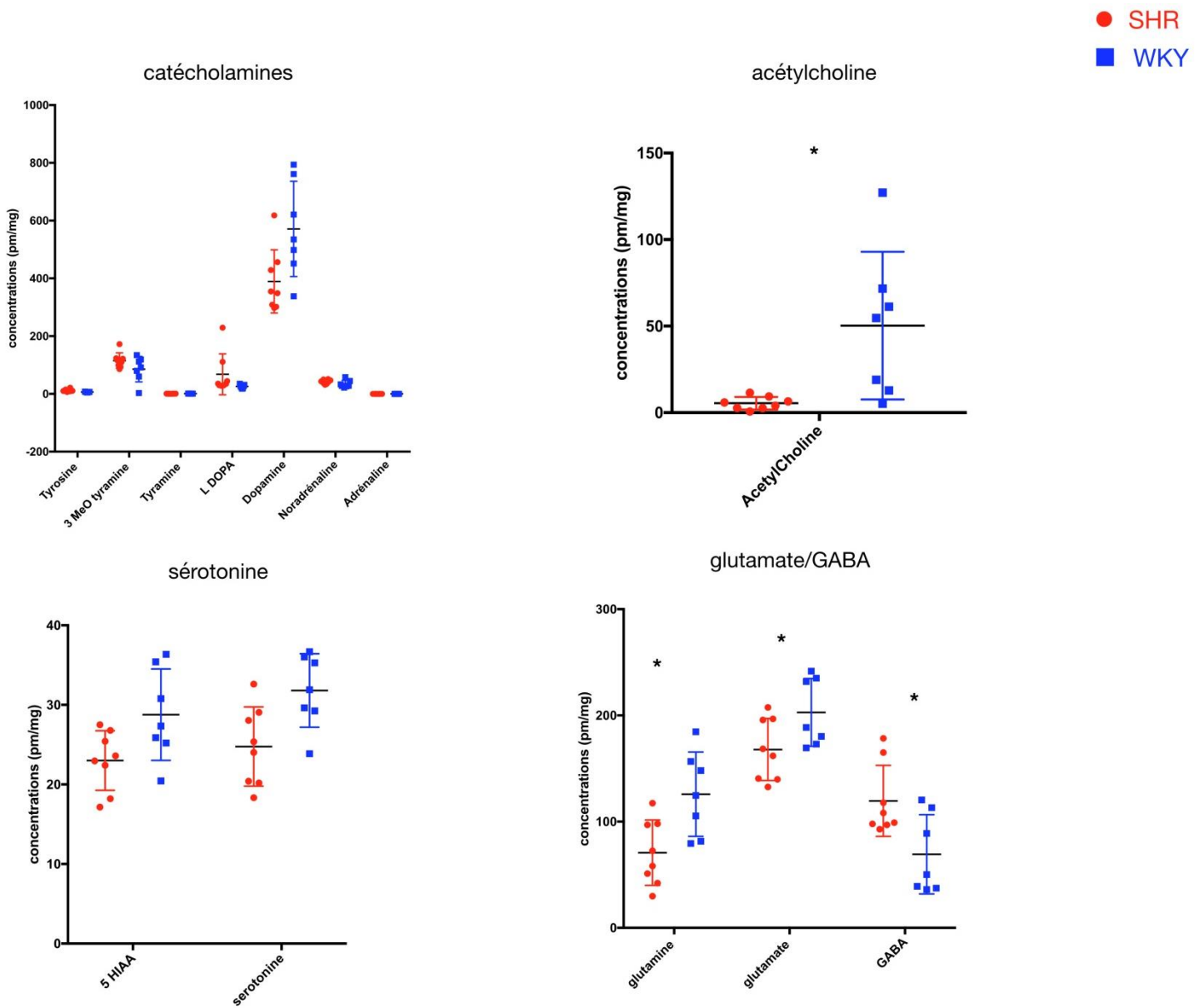


Figure 6 : Graphique représentant la comparaison des métabolites entre les rats SHR/NCrl (en rouge) vs. Les témoins WKY/NHsd (en bleu) dans le striatum dorsal. Les * correspondent aux différences significatives ayant une valeur p . value < 0,05.

CORTEX ORBITO-FRONTAL

● SHR
■ WKY

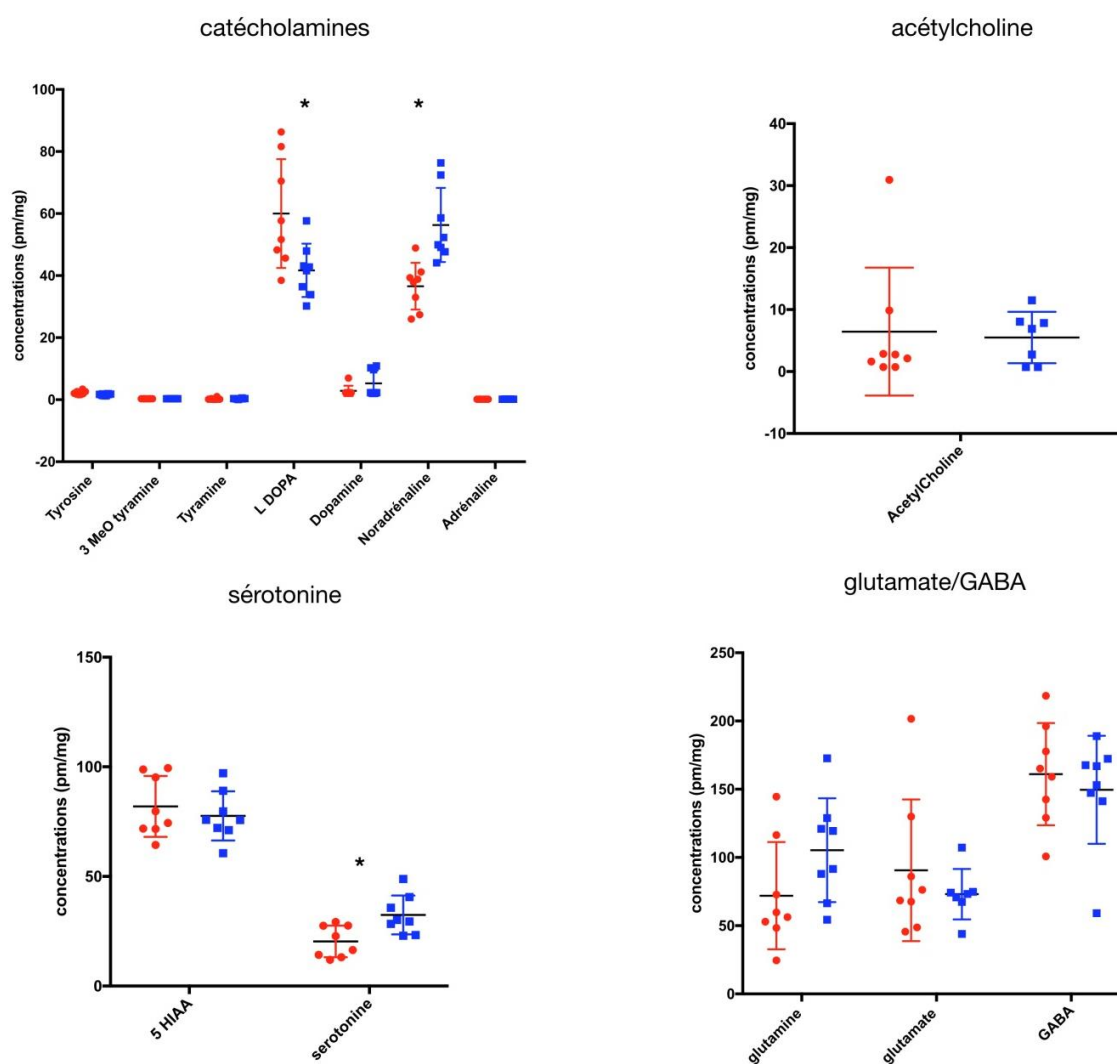


Figure 7 : Graphique représentant la comparaison des métabolites entre les rats SHR/NCrl (en rouge) vs. Les témoins WKY/NHsd (en bleu) dans le cortex orbito-frontal. Les * correspondent aux différences significatives ayant une valeur $p.value < 0,05$.

CORTEX PRE-LIMBIQUE

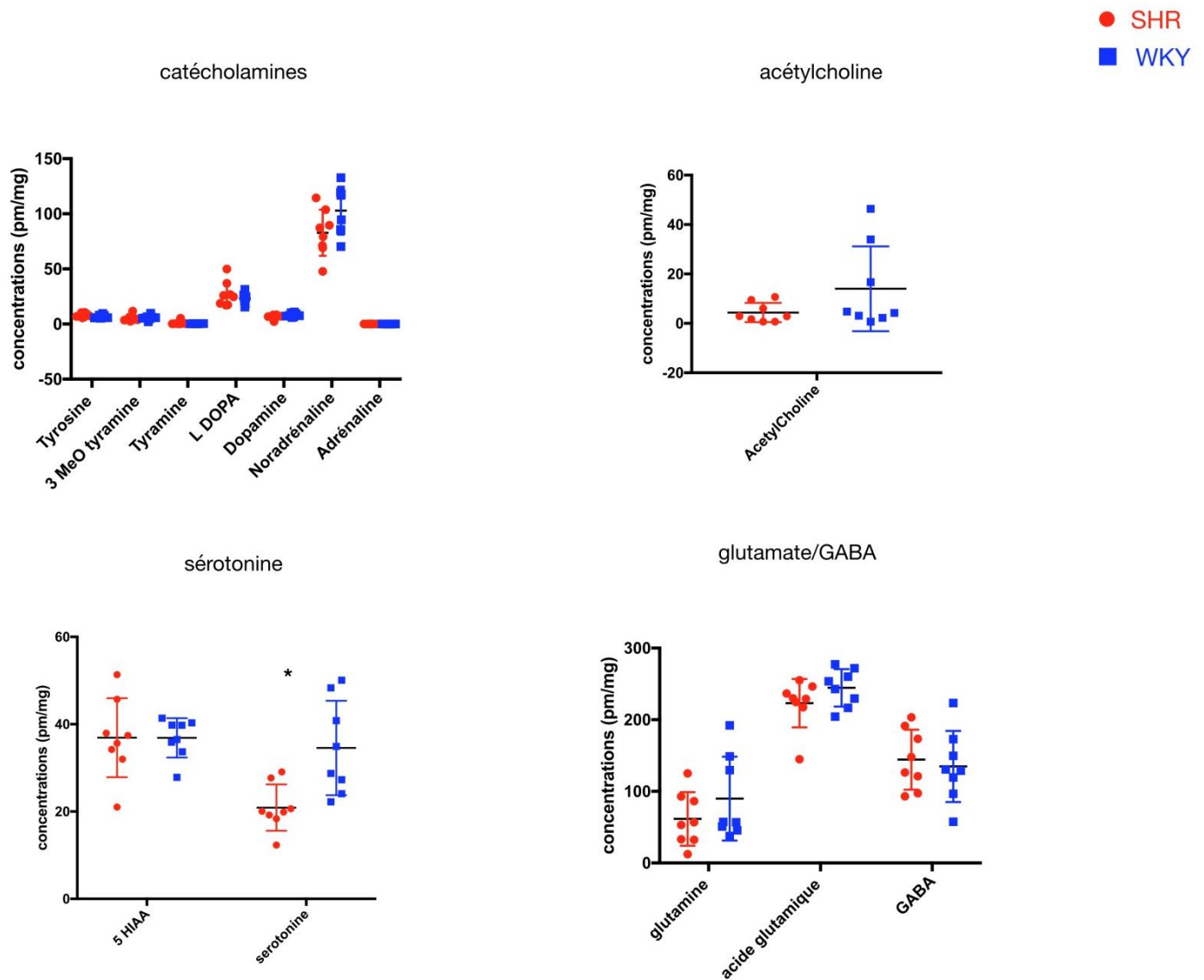


Figure 8 : Graphique représentant la comparaison des métabolites entre les rats SHR/NCrl (en rouge) vs. Les témoins WKY/NHsd (en bleu) dans le cortex prélimbique. Les * correspondent aux différences significatives ayant une valeur

V. DISCUSSION

L'objectif de notre étude était de comparer par analyse métabolomique quantitative les métabolites d'intérêt dans différentes régions cérébrales chez des rats SHR/NCrl, considérés comme modèle de TDAH, et des rats WKY/NHsd, considérés comme témoins.

Les données obtenues suggèrent que les rats SHR/NCrl par rapport aux rats témoins présentent des modifications de fonctionnement des systèmes catécholaminergiques, comme cela est suggéré en clinique chez l'homme, mais aussi au niveau d'autres systèmes de neurotransmission.

Dans la suite de la discussion nous aborderons l'analyse des résultats par famille de métabolites puis selon les différentes régions cérébrales et les réseaux d'intérêt supposés.

1. De nombreuses altérations neurotransmissionnelles

a. Catécholamines

Dans le cortex orbito-frontal et l'hippocampe, la noradrénaline est significativement diminuée chez les rats SHR/NCrl par rapport aux rats témoins. En accord avec nos résultats, Arnsten et al. a montré dans le même modèle que le blocage des récepteurs α -2-adrénérique de la noradrénaline dans le cortex frontal mimait les troubles attentionnels chez les animaux (29). De même Bari et al. démontre que la stimulation des α 2-adrénocepteurs améliore l'attention soutenue, alors que les antagonistes des récepteurs adrénergiques ont perturbé les performances (30). Ces deux études renforcent l'hypothèse d'une baisse de noradrénaline dans le TDAH.

Dans l'amygdale, la dopamine est significativement augmentée chez les rats SHR/NCrl alors qu'elle est significativement diminuée dans le striatum ventral. À l'heure actuelle, les données précliniques et cliniques suggèrent qu'une hypodopaminergie serait impliquée dans la physiopathologie du TDAH(1) (20). Ce qu'on observe dans le striatum ventral est en accord avec la littérature. Concernant l'amygdale, on pourrait imaginer une anomalie de neurotransmission dopaminergique entre l'amygdale et le striatum ventral, ce qui pourrait expliquer l'hyperdopaminergie amygdalienne.

b. Acétylcholine

Dans nos conditions expérimentales, l'acétylcholine est significativement diminuée chez les rats SHR/NCrl par rapport aux rats témoins dans les deux striata (ventral et dorsal). Il existe très peu de données dans la littérature sur l'implication de l'acétylcholine dans le TDAH. Cependant, des liens entre l'acétylcholine et la dopamine sont prouvés. D'après Collins et al., le blocage des récepteurs de l'acétylcholine (nicotinique et muscarinique) entraîne une baisse

de la dopamine dans le noyau accumbens, associée à une diminution de la motivation lors de tests comportementaux chez le rat (31).

Nos données montrent une diminution de l'acétylcholine associée à une baisse de la dopamine ce qui suggère que l'acétylcholine pourrait jouer un rôle sous cortical important dans le TDAH.

c. Sérotonine

La sérotonine est significativement diminuée dans le cortex orbito-frontal et dans le cortex pré-limbique des rats SHR/NCrl en comparaison aux rats témoins. Il a été montré dans la littérature que la sérotonine régule les fonctions exécutives et qu'elle est impliquée dans un grand nombre de pathologies, telles que l'autisme ou la dépression (32). Hiraide et al. a testé la fluvoxamine (inhibitrice de la recapture de la sérotonine) lors de tests comportementaux attentionnels et d'hyperactivité chez le rat. Elle n'a pas eu d'effet sur l'attention mais a permis de réprimer de manière significative l'hyperactivité. En bloquant la recapture de la sérotonine, l'hyperactivité est moindre.

En clinique humaine, la sérotonine a été peu impliquée dans la physiopathologie du TDAH. Malgré des études génétiques montrant que des mutations de gènes impliqués dans le métabolisme de ce neurotransmetteur pourraient constituer des facteurs de risque de survenue de la maladie (33). Mais nos données montrent qu'il serait intéressant d'étudier ce neurotransmetteur.

d. GABA

Le GABA est significativement augmenté chez les rats SHR/NCrl par rapport aux témoins dans l'amygdale, le striatum dorsal et le striatum ventral. Ses précurseurs, la glutamine et le glutamate, sont significativement diminués dans le striatum dorsal.

De récentes études suggèrent que le GABA jouerait un rôle dans les symptômes d'hyperactivité et d'impulsivité du TDAH, résultat d'une modulation inappropriée des signaux glutamatergiques et GABAergiques (34). Nos données concordent avec les résultats de la littérature avec une régulation à la hausse du GABA, neurotransmetteur inhibiteur dans les striata chez les sujets TDAH. Le glutamate, neurotransmetteur exciteur, est lui diminué. Un déséquilibre de la balance inhibitrice-excitatrice pourrait avoir un rôle dans la physiopathologie du TDAH.

De plus, les études montrent que le gène GAD1 (codant pour une enzyme de la biosynthèse du GABA) serait associé à la susceptibilité de développer un TDAH.

2. Dysrégulation au sein des réseaux

D'après une étude précédemment réalisée au laboratoire en imagerie, les rats SHR/NCrl présentent des anomalies fonctionnelles au niveau du réseau dorsal (fonctions exécutives), du réseau

ventral (fonction limbique), et du réseau du mode par défaut (DMN), contrairement aux rats WKY/NHsd utilisés comme témoins.

Nos données montrent des altérations de l'acétylcholine et de la sérotonine dans le cortex prélimbique et le striatum dorsal (réseau dorsal). Ces deux neurotransmetteurs sont connus pour être impliqués dans les fonctions exécutives. Ceci renforce l'idée que le TDAH n'est pas uniquement lié aux catécholamines.

Dans le réseau ventral, nos données montrent des altérations principalement au niveau des catécholamines (noradrénaline et dopamine). Le réseau ventral est en rapport avec la motivation et la récompense. Dans le TDAH, une baisse de la motivation ainsi qu'une aversion à l'attente sont démontrées. Cette étude évoque un lien entre les catécholamines et la motivation. (Figure 9)

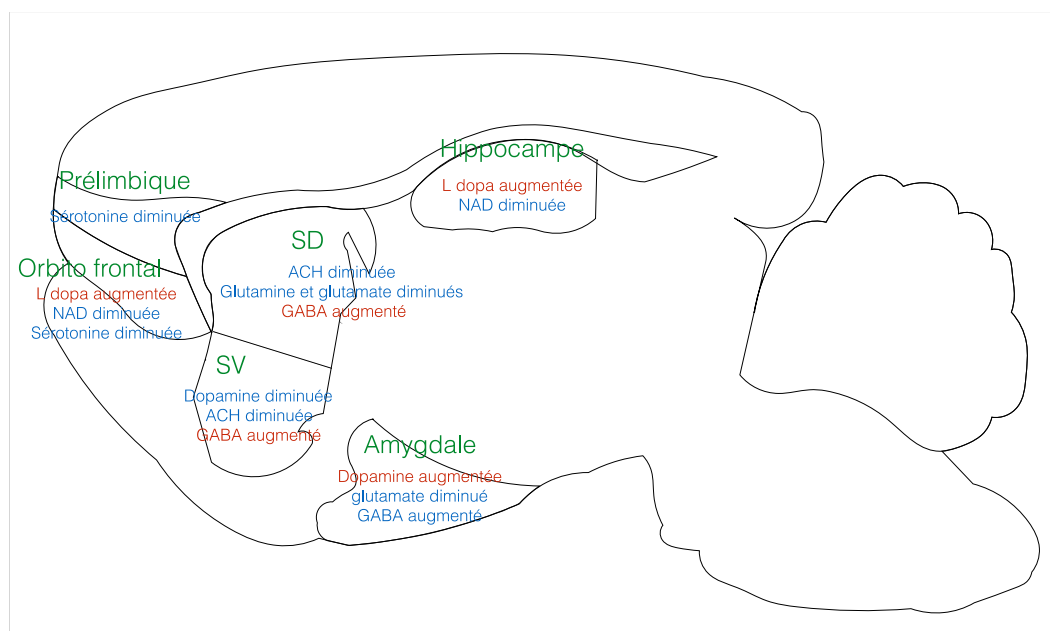


Figure 9 : Schéma représentant les régions cérébrales étudiées sur une coupe sagittale de cerveau de rat (Paxinos et Watson, 2008).

SD : Striatum dorsal. SV : Striatum ventral

3. Limites de notre étude

Le réseau du mode par défaut (DMN) est également présent chez le rat (36). Les régions impliquées dans le DMN chez le rat (cortex moteur et pariétal), ne montrent pas de différence métabolomique significative. Cependant en imagerie, l'étude suggère qu'il existe des différences d'activités entre les rats SHR/NCrl et les rats témoins. Le modèle de rat SHR/NCrl est connu comme modèle d'hypertension artérielle. Il a été montré que le développement de l'hypertension artérielle ne survient qu'à partir de 10 à 12 semaines. Or, les symptômes d'inattention, hyperactivité/impulsivité, sont décrits chez ces rats avant le développement de l'hypertension à environ 8 semaines (17). Il n'est donc pas exclu que des modifications liées au développement de l'hypertension chez ces animaux puisse influencer nos résultats. Mais, de façon intéressante, il a été récemment décrit que

l'hypertension artérielle pendant la grossesse pouvait être un facteur augmentant le risque de développement du TDAH pour l'enfant (37).

Comme dit précédemment, la validité prédictive de ce modèle reste aussi sujette à controverse, car les effets du méthylphénidate sur les symptômes n'ont pas été observés dans toutes les études comportementales (20). Cependant, ce modèle de TDAH demeure le plus caractérisé et le plus utilisé par la communauté scientifique (38).

Dans nos résultats, certains écarts types sont élevés en lien avec la variabilité interindividuelle. Il est difficile de s'affranchir de ce biais en travaillant avec du matériel *in vivo*.

4. Etude clinique

Une étude clinique a actuellement débuté au sein du CHRU de Tours. Il s'agit d'une étude de cohorte prospective mono centrique, réalisée au sein de l'hôpital pédiatrique Gatien de Clocheville au CHRU de Tours, et concernant les enfants suivis pour un trouble attentionnel au sein du centre de référence pour les troubles du langage et des apprentissages. Nous avons formé deux groupes : un groupe avec TDAH prouvé par screening cognitif (anamnèse, WISC IV et TeaCH) et un groupe d'enfants témoins avec troubles attentionnels sans TDAH vrai.

Les critères d'inclusions nécessaires sont : (i) l'âge de 6 à 15 ans, (ii) la présence de troubles attentionnels et / ou une hyperactivité, confirmé par le screening cognitif.

Les critères d'exclusion sont : (i) l'échec ou le refus de tout ou une partie de l'évaluation pluridisciplinaire, (ii) l'identification d'une condition intercurrente pouvant avoir un impact sur les analyses métabolomiques (infection aigue, fièvre...etc), (iii) une déficience intellectuelle (QIT < 70), (iv) l'opposition des responsables légaux. Cette étude a été acceptée par le Comité de Protection des Personnes.

Les premiers résultats métabolomiques non ciblés sur des échantillons périphériques (sang et urines) sont en cours et n'ont pas pu être intégrés dans ce manuscrit.

5. Conclusion

Les résultats de ce travail suggèrent que des modifications métabolomiques des catécholamines seraient impliquées dans le phénotype des rats SHR/NCrl, modèle animal de TDAH, comme suggérées chez l'homme.

Nos données sont également en faveur de l'implication d'autres neurotransmetteurs tels que la sérotonine au niveau cortical, le glutamate, le GABA et l'acétylcholine au niveau sous cortical.

Les résultats de l'étude clinique sont en cours d'analyse et pourraient établir un profil métabolomique distinct chez les enfants avec TDAH par rapport à des enfants témoins.

Annexes

Annexe 1 : questionnaire DSM

Critères DSM-IV des Troubles Déficitaires de l'Attention avec ou sans Hyperactivité

Vous êtes : ☐ le père ☐ la mère

NOM de l'enfant.....

Prénom de l'enfant.....

Date de naissance : __/__/__

Date de la visite : __/__/__

1. SYMPTOMES CLINIQUES D'INATTENTION

- | | Oui/Non |
|---|---|
| a. Souvent ne parvient pas à prêter attention aux détails ou fait des fautes d'étourderie dans les devoirs scolaires, le travail ou d'autres activités. | ☐ ☐ |
| b. A souvent du mal à soutenir son attention au travail, dans les jeux. | ☐ ☐ |
| c. Semble souvent ne pas écouter quand on lui parle personnellement. | ☐ ☐ |
| d. Souvent, ne se conforme pas aux consignes et ne parvient pas à mener à terme ses devoirs scolaires, ses tâches domestiques ou ses obligations professionnelles (cela n'est pas dû à un comportement d'opposition, ni à une incapacité à comprendre les consignes). | ☐ ☐ |
| e. A du mal à organiser ses travaux ou activités. | ☐ ☐ |
| f. Souvent, évite, a en aversion ou fait à contre-cœur les tâches qui nécessitent un effort mental soutenu (comme le travail à la maison). | ☐ ☐ |
| g. Perd souvent les objets nécessaires à son travail ou ses activités (jouets, cahiers, crayons, livres, outils...). | ☐ ☐ |
| h. Souvent, se laisse facilement distraire par des stimuli externes. | ☐ ☐ |
| i. A des oublis fréquents dans la vie quotidienne. | ☐ ☐ |

Six des symptômes ci-dessus d'inattention ont persisté au moins six mois, à un degré qui est inadapté et ne correspond pas au niveau de développement de l'enfant.

☐ ☐

Score /9

2. SYMPTOMES CLINIQUES D'HYPERACTIVITE/IMPULSIVITE

HYPERACTIVITE

- | | Oui/Non |
|---|---|
| a. Remue souvent les mains ou les pieds, ou se tortille sur son siège. | ☐ ☐ |
| b. Se lève souvent en classe ou dans d'autres situations où il est supposé rester assis. | ☐ ☐ |
| c. Souvent, court ou grimpe partout dans des situations où cela est inapproprié (chez les adolescents ou les adultes, ce symptôme peut se limiter à un sentiment subjectif d'impatience motrice). | ☐ ☐ |
| d. A souvent du mal à se tenir tranquille dans les jeux ou activités de loisirs. | ☐ ☐ |
| e. Est souvent sur la brèche ou agit comme s'il était monté sur des ressorts. | ☐ ☐ |
| f. Parle souvent trop. | ☐ ☐ |

IMPULSIVITE

- | | |
|--|---|
| g. Laisse souvent échapper la réponse à une question qui n'est pas encore entièrement posée. | ☐ ☐ |
| h. A souvent du mal à attendre son tour. | ☐ ☐ |
| i. Interrompt souvent les autres ou impose sa présence (par exemple, fait irruption dans les conversations ou les jeux). | ☐ ☐ |

Annexe 2 : questionnaire de Connors pour l'enseignant
QUESTIONNAIRE DE CONNERS POUR L'ENSEIGNANT
 (Version à 28 items)

NOM et PRENOM de l'enfant
 Date de naissance
 NOM et PRENOM de l'enseignant

DATE
 AGE
 Classe

Vous trouverez ci-dessous des énoncés décrivant des comportements d'enfants qui se rencontrent parfois en milieu scolaire. Lisez chaque énoncé attentivement et décidez du degré auquel le comportement décrit s'applique à l'élève concerné. Faites une croix dans la colonne choisie.

	Pas du tout	Un peu	Beaucoup	Énormément
1. Est agité, se tortille sur sa chaise				
2. Fait des bruits inappropriés quand il ne faut pas				
3. Ses demandes doivent être satisfaites immédiatement				
4. Est impertinent, impoli, arrogant				
5. Fait des crises de colère, a des conduites imprévisibles				
6. Est trop sensible à la critique				
7. Est distrait, a une attention fluctuante				
8. Perturbe les autres élèves				
9. Est rêveur				
10. Fait la moue, boude facilement				
11. A une humeur qui change rapidement				
12. Est bagarreur				
13. A une attitude soumise à l'égard de l'autorité				
14. Est agité, va constamment à droite et à gauche				
15. S'excite facilement, est impulsif				
16. Demande une attention excessive de l'enseignant				
17. Semble mal accepté par le groupe				
18. Se laisse mener par les autres				
19. Est mauvais joueur, refuse de perdre				
20. Semble manquer de capacité à entraîner ou mener les autres				
21. A des difficultés à terminer ce qu'il commence				
22. Est puéril, immature, agit en bébé				
23. Nie ses erreurs, accuse les autres				
24. A des difficultés à s'entendre avec les autres enfants				
25. Coopère peu avec ses camarades de classe				
26. S'énervé facilement quand il doit faire un effort				
27. Coopère peu avec l'enseignant				
28. Epreuve des difficultés d'apprentissage				

Annexe 3 : questionnaire de Connors pour les parents

	Pas du tout	Un peu	Beaucoup	Enormément
1. Tripote ou ronge certaines choses (ongles, doigts, vêtements)				
2. Est insolent avec les grandes personnes				
3. A du mal à se faire des amis et à les garder				
4. Est excitable, impulsif				
5. Veut tout commander				
6. Suce ou mâchonne (pouce, vêtements, couvertures)				
7. Pleure facilement ou souvent				
8. Se sent attaqué, est sur la défensive				
9. Révase				
10. A des difficultés d'apprentissage				
11. Se tortille, ne tient pas en place				
12. A peur (de nouvelles situations, d'endroits et personnes nouvelles, d'aller à l'école)				
13. Est agité, a toujours besoin de faire quelque chose				
14. Est destructeur				
15. Ment ou raconte des histoires inventées				
16. Est timide				
17. S'attire plus d'ennuis (se fait prendre plus souvent que les autres enfants de son âge)				
18. Ne parle pas comme les autres enfants de son âge (parle comme un bébé, bégaye, est difficile à comprendre)				
19. Nie ses erreurs ou accuse les autres				
20. Est querelleur, est souvent impliqué dans des bagarres				
21. Fait la moue, boude				
22. Prend des choses qui ne lui appartiennent pas				
23. Est désobéissant ou obéit à contrecœur				
24. S'inquiète plus que les autres (de la maladie, la mort, la solitude)				
25. Ne termine pas ce qu'il a commencé				
26. Se sent facilement froissé, se fâche facilement				
27. Brutalise ou intimide ses camarades				
28. Ne peut pas s'arrêter lors d'une activité répétitive				
29. Est cruel				
30. A un comportement immature (demande de l'aide pour quelque chose qu'il peut faire tout seul, est collant, a constamment besoin d'être rassuré)				
31. A des problèmes de fixation de l'attention, est facilement distrait				
32. Souffre de maux de tête				
33. A des changements d'humeur rapides ou fréquents				
34. N'obéit pas ou n'aime pas obéir aux règles ou aime défier les interdits				
35. Se bagarre constamment				
36. Ne s'entend pas avec ses frères ou sœurs				
37. Se décourage facilement lorsqu'un effort est nécessaire				
38. Dérange les autres enfants				
39. Est un enfant foncièrement malheureux				
40. A des problèmes d'alimentation (mauvais appétit, se lève après chaque bouchée)				
41. Souffre de maux d'estomac				
42. A des problèmes de sommeil (ne peut s'endormir, se réveille trop tôt, se réveille pendant la nuit)				
43. Se plaint de maux physiques et de douleurs				
44. Souffre de vomissements, de nausées				
45. Se sent lésé à la maison, crie à l'injustice				
46. Se vante, fanfaronne				
47. Se laisse écraser, manipuler par les autres				
48. A des problèmes d'évacuation intestinale (selles molles, irrégulières, constipation)				

Annexe 4 : schéma simplifié du modèle de Barkley

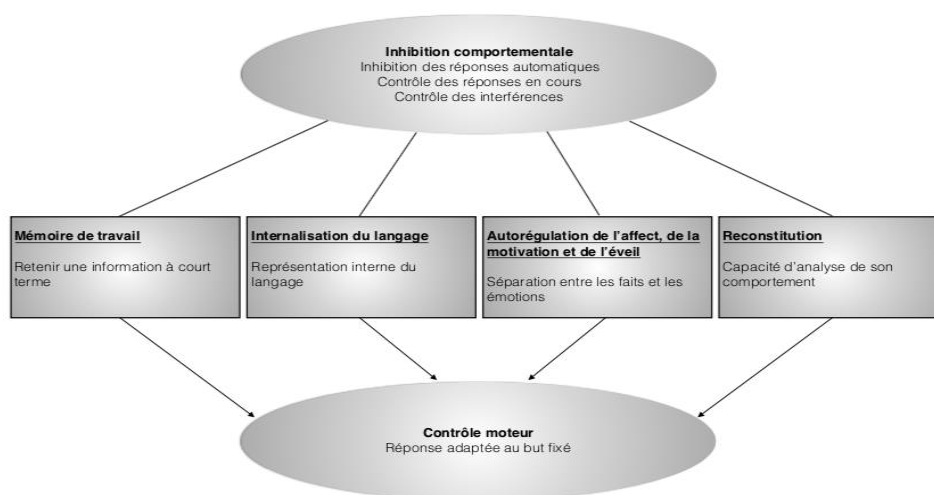
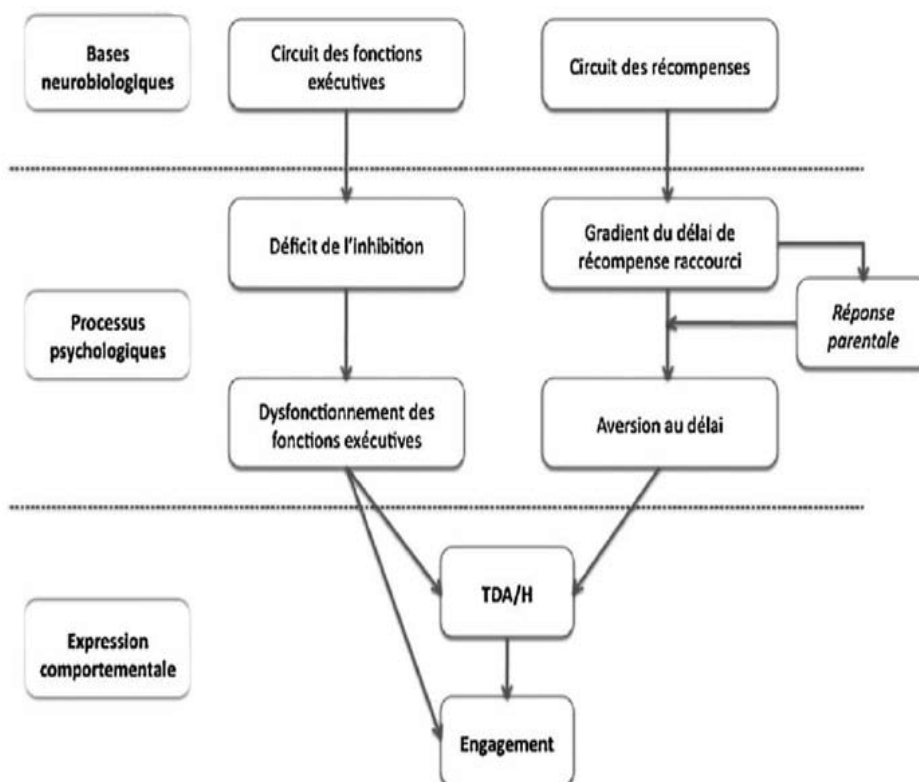


Figure 1 : Schéma simplifié du modèle de Barkley (1997)

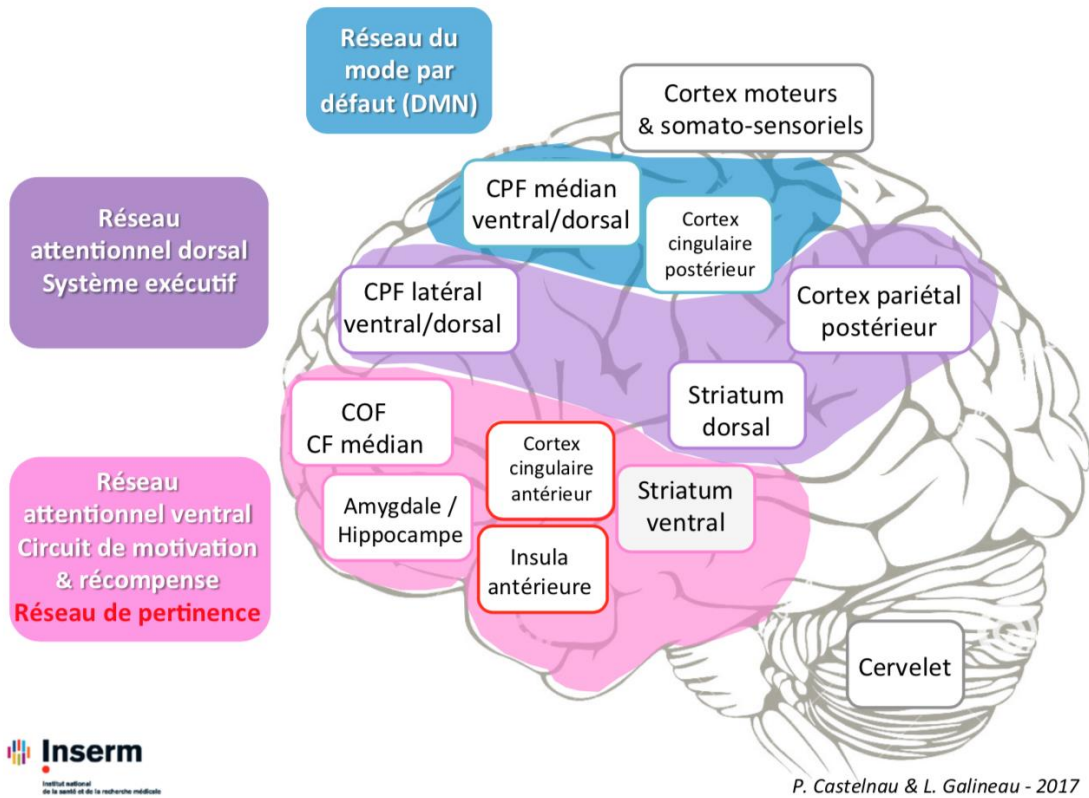
Ce schéma montre le lien entre la performance d'inhibition comportementale et les 4 fonctions exécutives permettant le contrôle moteur du comportement chez l'Homme.

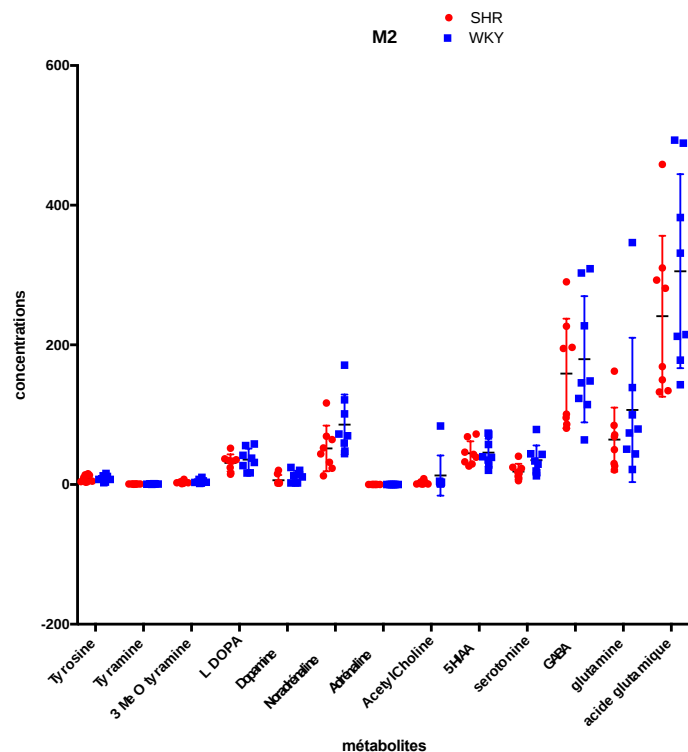
Annexe 5 : Schéma simplifié du modèle de Sonuga Bake



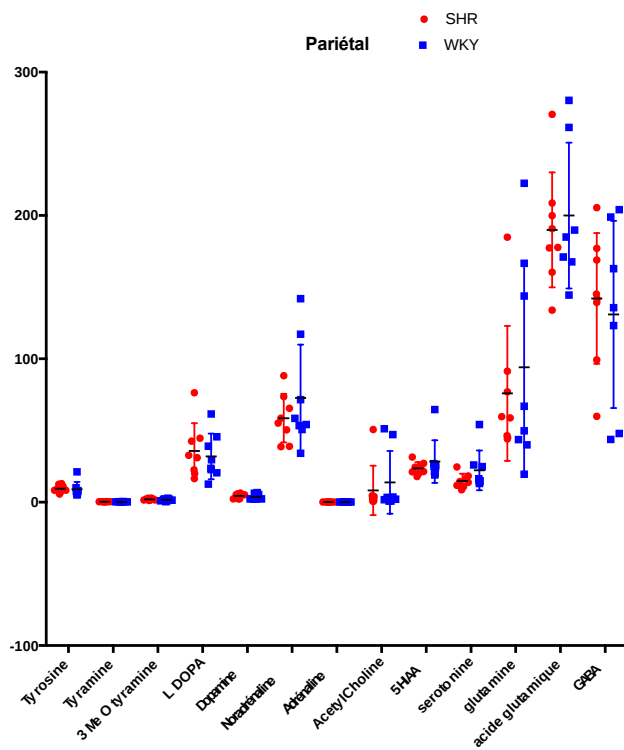
SCHEMATISATION DU MODELE A 2 VOIES DE SONUGA BAKE

Annexe 6 : réseaux impliqués dans la physiopathologie du TDAH.

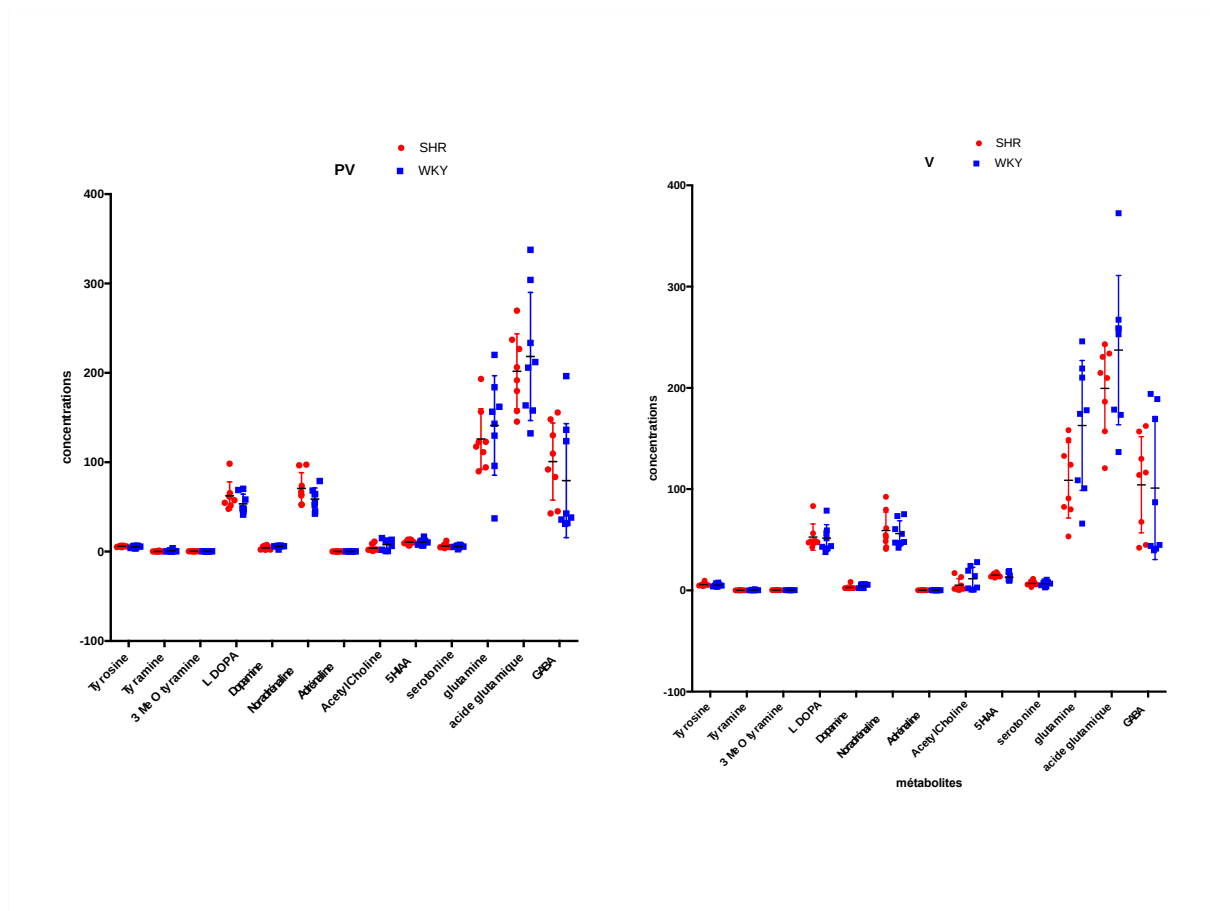




Annexe 7 : Graphique représentant la comparaison des métabolites entre les rats SHR/NCrl (en rouge) vs. Les témoins WKY/NHsd (en bleu) dans le cortex moteur. Les * correspondent aux différences significatives ayant une valeur p . value < 0,05.



Annexe 8: Graphique représentant la comparaison des métabolites entre les rats SHR/NCrl (en rouge) vs. Les témoins WKY/NHsd (en bleu) dans le cortex pariétal. Les * correspondent aux différences significatives ayant une valeur p . value < 0,05.



Annexe 9 : Graphique représentant la comparaison des métabolites entre les rats SHR/NCrl (en rouge) vs. Les témoins WKY/NHsd (en bleu) dans le cerveau. Les * correspondent aux différences significatives ayant une valeur p. value < 0,05.

Bibliographie

1. Bush G. Attention-deficit/hyperactivity disorder and attention networks. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol*. 2010 Jan;35(1):278–300.
2. Faraone SV, Asherson P, Banaschewski T, Biederman J, Buitelaar JK, Ramos-Quiroga JA, et al. Attention-deficit/hyperactivity disorder. *Nat Rev Dis Primer*. 2015 06;1:15020.
3. Biederman J. Attention-deficit/hyperactivity disorder: a selective overview. *Biol Psychiatry*. 2005 Jun 1;57(11):1215–20.
4. G  tin C. Critères diagnostiques du Trouble : Déficit de l'Attention/Hyperactivité (TDAH) [Internet]. HyperSupers - TDAH France. [cited 2019 May 23]. Available from: <https://www.tdah-france.fr/Criteres-de-diagnostic-DSM-5.html>
5. Fone KCF, Nutt DJ. Stimulants: use and abuse in the treatment of attention deficit hyperactivity disorder. *Curr Opin Pharmacol*. 2005 Feb;5(1):87–93.
6. Gatley SJ, Pan D, Chen R, Chaturvedi G, Ding YS. Affinities of methylphenidate derivatives for dopamine, norepinephrine and serotonin transporters. *Life Sci*. 1996;58(12):231–9.
7. Challman TD, Lipsky JJ. Methylphenidate: its pharmacology and uses. *Mayo Clin Proc*. 2000 Jul;75(7):711–21.
8. Mick E, Neale B, Middleton FA, McGough JJ, Faraone SV. Genome-wide association study of response to methylphenidate in 187 children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet Off Publ Int Soc Psychiatr Genet*. 2008 Dec 5;147B(8):1412–8.
9. Biederman J, Faraone SV. Attention-deficit hyperactivity disorder. *Lancet Lond Engl*. 2005 Jul 16;366(9481):237–48.
10. Linnet KM, Dalsgaard S, Obel C, Wisborg K, Henriksen TB, Rodriguez A, et al. Maternal lifestyle factors in pregnancy risk of attention deficit hyperactivity disorder and associated behaviors: review of the current evidence. *Am J Psychiatry*. 2003 Jun;160(6):1028–40.
11. Barkley RA. Behavioral inhibition, sustained attention, and executive functions: constructing a unifying theory of ADHD. *Psychol Bull*. 1997 Jan;121(1):65–94.
12. Ashtari M, Kumra S, Bhaskar SL, Clarke T, Thaden E, Cervellione KL, et al. Attention-deficit/hyperactivity disorder: a preliminary diffusion tensor imaging study. *Biol Psychiatry*. 2005 Mar 1;57(5):448–55.
13. Gallo EF, Posner J. Moving towards causality in attention-deficit hyperactivity disorder: overview of neural and genetic mechanisms. *Lancet Psychiatry*. 2016 Jun;3(6):555–67.
14. Dougherty DD, Bonab AA, Spencer TJ, Rauch SL, Madras BK, Fischman AJ. Dopamine transporter density in patients with attention deficit hyperactivity disorder. *Lancet Lond Engl*. 1999 Dec 18;354(9196):2132–3.
15. van Dyck CH, Quinlan DM, Cretella LM, Staley JK, Malison RT, Baldwin RM, et al. Unaltered dopamine transporter availability in adult attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Psychiatry*. 2002 Feb;159(2):309–12.
16. Volkow ND, Wang G-J, Fowler JS, Ding Y-S. Imaging the effects of methylphenidate on brain dopamine: new model on its therapeutic actions for attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry*. 2005 Jun 1;57(11):1410–5.
17. Sagvolden T, Johansen EB, W  ien G, Walaas SI, Storm-Mathisen J, Bergersen LH, et al. The spontaneously hypertensive rat model of ADHD--the importance of selecting the appropriate reference strain. *Neuropharmacology*. 2009 Dec;57(7–8):619–26.
18. Okamoto K, Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J*. 1963 Mar;27:282–93.
19. Russell VA. Overview of animal models of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Curr Protoc Neurosci*. 2011 Jan;Chapter 9:Unit9.35.
20. Russell VA. Neurobiology of animal models of attention-deficit hyperactivity disorder. *J Neurosci Methods*. 2007 Apr 15;161(2):185–98.
21. Wultz B, Sagvolden T, Moser EI, Moser MB. The spontaneously hypertensive rat as an animal model of attention-deficit hyperactivity disorder: effects of methylphenidate on exploratory behavior. *Behav Neural Biol*. 1990 Jan;53(1):88–102.
22. Sagvolden T, Metzger MA, Schi  rbeck HK, Rugland AL, Spinnangr I, Sagvolden G. The spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of childhood hyperactivity (ADHD): changed reactivity to reinforcers and to psychomotor stimulants. *Behav Neural Biol*. 1992 Sep;58(2):103–12.
23. Russell V, de Villiers A, Sagvolden T, Lamm M, Taljaard J. Differences between electrically-

- ritalin- and D-amphetamine-stimulated release of [3H]dopamine from brain slices suggest impaired vesicular storage of dopamine in an animal model of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. *Behav Brain Res*. 1998 Jul;94(1):163–71.
24. Volkow ND, Wang G-J, Tomasi D, Kollins SH, Wigal TL, Newcorn JH, et al. Methylphenidate-elicited dopamine increases in ventral striatum are associated with long-term symptom improvement in adults with attention deficit hyperactivity disorder. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2012 Jan 18;32(3):841–9.
 25. Myers MM, Whitemore SR, Hendley ED. Changes in catecholamine neuronal uptake and receptor binding in the brains of spontaneously hypertensive rats (SHR). *Brain Res*. 1981 Sep 14;220(2):325–38.
 26. Watanabe Y, Fujita M, Ito Y, Okada T, Kusuoka H, Nishimura T. Brain dopamine transporter in spontaneously hypertensive rats. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. 1997 Mar;38(3):470–4.
 27. Russell V, de Villiers A, Sagvolden T, Lamm M, Taljaard J. Differences between electrically-, ritalin- and D-amphetamine-stimulated release of [3H]dopamine from brain slices suggest impaired vesicular storage of dopamine in an animal model of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. *Behav Brain Res*. 1998 Jul;94(1):163–71.
 28. Houjou T, Yamatani K, Imagawa M, Shimizu T, Taguchi R. A shotgun tandem mass spectrometric analysis of phospholipids with normal-phase and/or reverse-phase liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom RCM*. 2005;19(5):654–66.
 29. Arnsten AFT, Li B-M. Neurobiology of executive functions: catecholamine influences on prefrontal cortical functions. *Biol Psychiatry*. 2005 Jun 1;57(11):1377–84.
 30. Bari A, Robbins TW. Noradrenergic versus dopaminergic modulation of impulsivity, attention and monitoring behaviour in rats performing the stop-signal task: possible relevance to ADHD. *Psychopharmacology (Berl)*. 2013 Nov;230(1):89–111.
 31. Collins AL, Aitken TJ, Greenfield VY, Ostlund SB, Wassum KM. Nucleus Accumbens Acetylcholine Receptors Modulate Dopamine and Motivation. *Neuropsychopharmacology*. 2016 Nov;41(12):2830–8.
 32. Patrick RP, Ames BN. Vitamin D and the omega-3 fatty acids control serotonin synthesis and action, part 2: relevance for ADHD, bipolar disorder, schizophrenia, and impulsive behavior. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2015 Jun;29(6):2207–22.
 33. Chen Y-C, Sudre G, Sharp W, Donovan F, Chandrasekharappa SC, Hansen N, et al. Neuroanatomic, epigenetic and genetic differences in monozygotic twins discordant for attention deficit hyperactivity disorder. *Mol Psychiatry*. 2018;23(3):683–90.
 34. Nagamitsu S, Yamashita Y, Tanigawa H, Chiba H, Kaida H, Ishibashi M, et al. Upregulated GABA Inhibitory Function in ADHD Children with Child Behavior Checklist-Dysregulation Profile: 123I-Iomazenil SPECT Study. *Front Psychiatry*. 2015;6:84.
 35. Verweij M, Senior TJ, Domínguez D JF, Turner R. Emotion, rationality, and decision-making: how to link affective and social neuroscience with social theory. *Front Neurosci*. 2015;9:332.
 36. Lu H, Zou Q, Gu H, Raichle ME, Stein EA, Yang Y. Rat brains also have a default mode network. *Proc Natl Acad Sci*. 2012 Mar 6;109(10):3979–84.
 37. Pohlabeln H, Rach S, De Henauw S, Eiben G, Gwozdz W, Hadjigeorgiou C, et al. Further evidence for the role of pregnancy-induced hypertension and other early life influences in the development of ADHD: results from the IDEFICS study. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2017 Aug;26(8):957–67.
 38. Russell VA. Overview of animal models of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Curr Protoc Neurosci*. 2011 Jan;Chapter 9:Unit9.35.

Vu, le Directeur de Thèse

**Vu, le Doyen
De la Faculté de Médecine de Tours
Tours, le**

GUICHARD Marine Emilie

45 pages – 9 figures – 9 annexes

Résumé:

Le trouble du déficit de l'attention avec ou sans hyperactivité (TDAH) est une maladie du neurodéveloppement fréquente. Aucune réponse claire n'a été identifiée quant à l'implication d'un système de neurotransmission dans sa physiopathologie. Nous réalisons une étude de mesure quantitative de métabolites d'intérêt dans différentes régions cérébrales chez des rats SHR/NCrl, modèle de TDAH par comparaison à des rats WKY/NHsd, témoins. Dix régions cérébrales sont prélevées pour en extraire les métabolites à l'aide d'une analyse métabolomique par couplage chromatographie liquide ultra haute performance et spectrométrie de masse. Des modifications métabolomiques des catécholamines seraient impliquées dans le phénotype des rats SHR/NCrl mais d'autres neurotransmetteurs semblent impliqués tels que la sérotonine, l'acétylcholine, le glutamate et le GABA. Une étude clinique est actuellement en cours afin de pouvoir identifier des biomarqueurs fiables du TDAH.

Mots clés : TDAH, métabolomique, physiopathologie

Jury :

Président du Jury :	Professeur Christian ANDRES
<u>Directeur de thèse :</u>	<u>Professeur Pierre THOMAS-CASTELNAU</u>
Membres du Jury :	Professeur François LABARTHE
	Docteur Patrick EMOND
	Docteur Julie CHANTREUIL
	Docteur Annie-Laure SUC

Date de soutenance : 30 octobre 2019.