

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **27 septembre 2024**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame ANDRE Maëlys**

Titre de la thèse : « *Développement des circuits nerveux entériques : imagerie et dynamique transcriptomique des programmes de guidage axonal* »

Résumé



L'architecture du système nerveux entérique (SNE) est organisée en un réseau complexe qui s'étend le long du tube digestif (TD). Les différents sous-types de neurones entériques sont regroupés dans des ganglions répétés et leurs axones adoptent des trajectoires stéréotypées. La migration des cellules de la crête neurale vagale (CCNV), qui donnent naissance à la plupart des neurones entériques, a été largement étudiée. En revanche, les mécanismes qui contrôlent la navigation des axones entériques restent mal caractérisés. Sachant que le SNE est impliqué dans des pathologies pédiatriques, comme la maladie d'Hirschsprung (HD), comprendre les mécanismes impliqués dans l'organisation du réseau nerveux entérique pourrait en expliquer certains aspects. Au cours de ma thèse, j'ai donc cherché à identifier les programmes moléculaires de guidage qui contrôlent l'orientation des premiers axones entériques en me focalisant sur les étapes de différenciation précoces qui suivent la colonisation de l'intestin par les CCNV. Pour cela, nous avons utilisé le modèle de l'embryon de poulet et combiné des approches d'imagerie 3D et de transcriptomique. Dans la première partie de ce projet, nous avons caractérisé le système à des stades précoces de développement. Cela nous a permis d'identifier les stades développementaux au cours desquels le réseau entérique se met en place : entre E5 et E7. A E5, la plupart des neurones présentent une orientation rostro-caudale. Dès E6, le réseau se complexifie fortement avec l'émergence d'une diversité de trajectoires axonales, dynamique renforcée à E7. Suite à ces résultats, pour étudier les programmes transcriptionnels qui contrôlent ces orientations axonales, nous avons effectué une analyse en noyau unique du transcriptome des cellules du

TD entre E5 et E7. Nous avons caractérisé la dynamique transcriptionnelle des gènes impliqués dans le guidage axonal exprimés par les neurones en différenciation morphologiques. En parallèle, l'étude de données transcriptomiques d'intestin d'embryon humain a rapporté des trajectoires transcriptionnelles cohérentes. Ceci démontre une conservation de la dynamique développementale de la différenciation neuronale entre les deux espèces. A partir de nos données, nous avons sélectionné deux gènes pour une étude fonctionnelle. DSCAM, une molécule de guidage dont l'implication dans HD est discutée, et ISLR2, dont les fonctions dans le guidage axonal et dans HD sont peu documentées. Au cours de ma thèse, j'ai mis au point un protocole combinant l'HCR RNA-FISH, l'immunomarquage et la microscopie à feuillet de lumière qui a permis, entre autres, de confirmer l'expression des deux candidats dans le SNE en différenciation. Enfin, nous avons développé la culture de TD *ex vivo* à E4 récapitulant le développement entérique *in vivo*. Par l'ajout d'interacteurs de nos candidats, sous la forme de protéines recombinantes, nous perturbons l'organisation du réseau de neurones. Nos résultats fournissent des preuves prometteuses du rôle de ces gènes au cours de la différenciation des neurones entériques et offrent de nouveaux points d'entrée pour l'étude des pathologies pédiatriques du SNE.