

Sujet de thèse ouvert au concours d'attribution des contrats doctoraux de l'école doctorale  
Vie et Santé de l'Université de Strasbourg

<http://ed.vie-sante.unistra.fr/concours-dattribution-des-contrats-doctoraux/>

## **Investigation pharmacologique et moléculaire de l'effet sexe-dépendant des RFRP hypothalamique sur les rythmes de reproduction**

Chez les mammifères, l'activité de l'axe reproducteur est synchronisée avec les variations saisonnières de la photopériode. Notre équipe travaille sur les systèmes neuroendocrines impliqués dans l'intégration du message saisonnier véhiculé par la mélatonine, relai endocrine des variations de la photopériode. Récemment nous avons mis en évidence le rôle crucial de 2 peptides hypothalamiques : le kisspeptine (Kp) et le RF-related peptide-3 (RFRP3) dans le contrôle central de la reproduction saisonnière. En effet, l'expression du Kp dans le noyau arqué et du RFRP3 dans l'hypothalamus médiobasal est inhibée par la mélatonine en photopériode courte (hiver). Alors que le Kp est toujours un stimulateur puissant de l'axe gonadotrope via une activation de récepteurs Kiss1R localisés sur les neurones à GnRH, l'effet du RFRP-3 sur l'axe gonadotrope varie selon les espèces et le sexe.

Récemment, dans le cadre d'un programme ANR (Repramide) nous avons caractérisé le rôle des neurones à RFRP3 dans le contrôle de la reproduction d'une espèce saisonnière, le hamster doré. Nous avons montré que les terminaisons des neurones à RFRP et le récepteur de ce peptide sont présents dans des structures cérébrales liées au contrôle de la reproduction (l'aire préoptique, les noyaux antéroventro-périvericulaires (AVPV), les noyaux arqués) mais également dans des structures liées au métabolisme et aux rythmes biologiques. De façon remarquable ; nous avons observé que l'ensemble du système RFRP3 (peptide et récepteur) est plus développé chez les femelles que chez les mâles, et que son inhibition par la photopériode courte est également plus forte chez les femelles. Nous avons également observé chez les femelles qu'une régulation saisonnière spécifique s'opère dans les AVPV, une région contenant des neurones à Kp où s'opère le rétrocontrôle activateur de l'œstradiol régulant l'induction du pic de LH préovulatoire. Ces résultats suggèrent que RFRP-3 a un rôle régulateur critique sur les rythmes journaliers, œstriens et saisonniers de l'activité de l'axe gonadotrope des femelles et qu'il agirait en amont du Kp, l'activateur principal des neurones à GnRH.

Ce projet de thèse s'inscrit dans la continuité de ces travaux et consistera à déterminer les mécanismes responsables des effets sexe-dépendants des RFRP hypothalamique sur les rythmes de reproduction en combinant 3 approches complémentaires : physiologique, pharmacologique et moléculaire.

1) L'approche physiologique consistera à utiliser des protocoles d'administration de RFRP-3 (ICV) pour finement caractériser les effets du RFRP sur l'axe gonadotrope en fonction des lieux d'injection, du contexte photopériodique et du sexe des animaux.

2) Les voies de transduction du GPR 147 seront analysées sur des modèles in vitro de cellules exprimant le cDNA du GPR147. Ce modèle in vitro permettra également de valider des agonistes et antagonistes du GPR147 générés en collaboration avec le Dr Frédéric Simonin (ESBS, Strasbourg). Ces ligands seront ensuite utilisés in vivo pour affiner les cibles cellulaires du RFRP3.

3) Un protocole d'activation optogénétique des neurones à RFRP sera mis au point et utilisé pour déterminer in vivo les mécanismes sous jacents aux effets différentiels du RFRP-3 sur le contrôle central de l'activité de reproduction. Pour cette étude nous utiliserons des souris transgéniques RFRP-Cre, générées par le Dr Greg Anderson (Univ. d'Otago, Nouvelle Zélande), chez lesquelles seront injectés des adénovirus recombinant CRE-dépendant porteur du gène de la channel rhodopsin (ChR2). Les neurones ou terminaisons nerveuses

RFRP seront activés localement par un signal lumineux généré par des fibres optiques agissant sur ChR2. Le phénotype reproducteur sera analysé suite à cette activation produite dans différentes conditions expérimentales. Finalement des souris RFRP-Cre seront croisées avec des souris KO pour le récepteur GPR147 (générées par le Dr F. Simonin) pour valider les phénotypes observés.

### **Compétences souhaitées**

Il est attendu du candidat qu'il puisse faire état d'une formation solide en Neurosciences et si possible en neuroendocrinologie.

Une expérience dans la mise en application des techniques classiques de biologie moléculaire et/ou cellulaire est également souhaitée.

Ce travail de thèse se fera en collaboration avec plusieurs équipes de recherche (Réseau ANR Repramide), une bonne capacité d'adaptation aux exigences d'un travail collaboratif est donc attendue.

### **Expertises qui seront acquises au cours de la formation**

Chirurgie cérébrale, hybridation in situ, immunocytochimie, extraction d'ARN, manipulation de constructions plasmidiques, clonage, culture de lignées cellulaires, transfection, interactions ligands-récepteurs sur cellules en culture et sur coupes de tissus, modèles de souris transgéniques, optogénétique,

### **Contacts :**

Prof. François Gauer,

Tel 03 88 45 66 88

[gauer@unistra.fr](mailto:gauer@unistra.fr)

Dr. Valérie SIMONNEAUX, DR1 CNRS

Tel 03 88 45 66 71

[simonneaux@inci-cnrs.unistra.fr](mailto:simonneaux@inci-cnrs.unistra.fr)

Equipe Mélatonine et Rythmes Saisonniers  
Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives  
CNRS UPR-3212  
5, rue Blaise Pascal  
67084 Strasbourg  
<http://inci.u-strasbg.fr/fr/equ8/presentation.html>