

Rôle du TNF α cérébral et de la résistance à l'insuline dans les troubles de l'humeur et de la cognition associés au diabète

Nathalie Castanon (Laboratoire de *Nutrition et Neurobiologie Intégrée*)

Allocation SFD-ANTADIR 2015

(Document de synthèse-bilan)

1. Rappel du contexte scientifique et de l'objectif du projet

La prévalence du **diabète** ne cesse d'augmenter en France et dans le monde depuis ces dernières décennies. Or, les conséquences physiopathologiques sont nombreuses et souvent graves, le diabète représentant un facteur de risque accru pour le développement de nombreuses **comorbidités somatiques** (maladies cardiovasculaires...), mais également **neuropsychiatriques (dépression, anxiété et troubles cognitifs)**. Ces troubles neuropsychiatriques réduisent considérablement le bien-être et la qualité de vie des patients diabétiques et peuvent à terme aggraver leur santé. Ainsi, la conjonction du diabète et de troubles neuropsychiatriques potentialise leurs complications respectives, complique leur traitement et augmente à terme le taux de mortalité. Il est donc important d'**identifier les mécanismes physiopathologiques qui sous-tendent ces troubles afin d'envisager des approches thérapeutiques visant à réduire leur impact sur le bien-être et la santé des patients diabétiques**. C'est dans ce but que ce projet a été développé.

Au-delà des facteurs psychosociaux qui ont sans aucun doute leur importance, l'association entre diabète et troubles neuropsychiatriques pourrait reposer sur l'interaction entre certains systèmes neurobiologiques capables de moduler la cognition et l'humeur et dont le fonctionnement est altéré dans le diabète. Sur la base de nombreuses données décrites dans la littérature et dans la lignée de nos travaux antérieurs, nous avons proposé l'hypothèse postulant que des **mécanismes inflammatoires et métaboliques**, en particulier l'augmentation des concentrations du **facteur de nécrose tumorale (TNF α)** et la **résistance à l'insuline, puissent contribuer au développement de ces troubles**. A la périphérie, le TNF α interfère avec l'état de phosphorylation de certains des éléments clés de la voie de signalisation intracellulaire de l'insuline, réduisant ainsi son activation et donc l'action de cette hormone sur ses tissus cibles. Ceci caractérise la résistance à l'insuline d'un point de vu moléculaire. La survenue des mêmes mécanismes au niveau cérébral pourrait expliquer l'apparition de troubles neuropsychiatriques. A ce titre, agir sur le TNF α cérébral pourrait alors constituer une stratégie de choix pour réduire les effets délétères de la résistance à l'insuline sur le comportement et améliorer ainsi la qualité de vie des patients diabétiques. Nous avons choisi dans ce travail de tester cette hypothèse par une approche expérimentale préclinique.

2. Rappel du programme de travail prévu

Ce projet reposait principalement sur une **étude d'intervention** visant à déterminer si le **blocage chronique du TNF α cérébral *in vivo*** (a) améliorerait les altérations comportementales associées au diabète et (b) réduisait la résistance à l'insuline au niveau cérébral.

Ce travail a été réalisé chez un **modèle murin de diabète** bien caractérisé dans notre équipe, les souris *db/db*, qui présentent des troubles métaboliques (hyperinsulinémie, hyperglycémie, insulino-résistance...), une inflammation périphérique et cérébrale, mais également des altérations comportementales (comportements anxieux, troubles cognitifs). Ce modèle était donc particulièrement adapté pour mener à bien l'étude proposée. Ici, nous avons mesuré les conséquences comportementales, biochimiques et neurobiologiques du blocage chronique du TNF α induit par l'infusion intracérébroventriculaire d'un inhibiteur compétitif du TNF α , l'étauercept. Ce dernier fonctionne comme un récepteur leurre du TNF α , qui ainsi associé à l'étauercept ne peut plus se fixer sur ses récepteurs membranaires et par conséquent les activer. En pratique, une canule a été implantée à demeure dans le ventricule latéral, puis reliée à une micro-pompe osmotique, elle-même insérée sous la peau de l'animal. L'étauercept a été ainsi infusé directement dans le cerveau (dose : 5 μ g/kg/h) pendant toute la durée de l'expérience, soit 4 semaines. Les tests comportementaux ont été réalisés à partir de la 3^{ème} semaine de traitement. A l'issue de ces tests, les souris ont été sacrifiées, les tissus d'intérêt prélevés et les mesures biochimiques (concentrations plasmatiques de facteurs inflammatoires, insuline...) et neurobiologiques (niveaux d'expression des facteurs inflammatoires, état d'activation des voies de signalisation du TNF α et de l'insuline) ont été réalisées. Pour ces dernières

mesures, nous nous sommes concentrés sur l'hippocampe. En effet, cette structure cérébrale possède à la fois des récepteurs du TNF α et de l'insuline et joue un rôle clé dans le contrôle de la mémoire et de l'humeur.

3. Principales avancées du travail de recherche réalisé

La principale avancée issue de ce travail est la mise en évidence d'un **lien de causalité entre l'augmentation du TNF α cérébral et les troubles comportementaux associés au diabète**. Conformément à notre hypothèse, le blocage du TNF α cérébral par l'étaercept **réduit** en effet le **développement des comportements de type anxieux** (mesurés dans le labyrinthe en croix surélevé et l'open-field) chez les souris diabétiques *db/db*. De façon intéressante, l'étaercept **améliore** également **les déficits de mémoire spatiale** (test du labyrinthe en Y) classiquement retrouvés chez les souris diabétiques non traitées. Un autre résultat majeur issu de ce travail est la démonstration d'une **association entre l'augmentation du TNF α cérébral**, les troubles comportementaux et la mise en place d'une **résistance cérébrale à l'insuline** chez les souris *db/db*, en comparaison avec les souris témoins non diabétiques. Par ailleurs, nous avons établi que l'amélioration des altérations comportementales par l'étaercept repose majoritairement sur ce qui se passe au **niveau cérébral**, puisqu'elle apparaît malgré le maintien des altérations inflammatoires et métaboliques périphériques. Enfin, d'autres investigations plus mécanistiques et ayant nécessité d'importantes mises au point techniques sont encore en cours, en particulier celles visant à mesurer *ex-vivo* (sur des hippocampes en culture) l'impact du blocage du TNF α sur l'activation de la voie de signalisation intracellulaire de l'insuline. Les premiers résultats disponibles suggèrent cependant déjà que **le TNF α agirait directement sur l'activation de la voie de l'insuline au niveau cérébral**, à l'image de ce qui se passe à la périphérie. La poursuite de ces investigations dans les prochains mois devrait permettre de préciser par quels intermédiaires moléculaires le TNF α agit sur la voie de signalisation de l'insuline et quelles sont ses cibles. Les réseaux de signalisation du TNF α et de l'insuline étant complexes et les points de convergence entre les deux voies multiples, il nous semble en effet important de **mieux comprendre la mécanistique des interactions entre TNF α et insuline** au niveau central et d'identifier de **nouveaux candidats** à tester parmi les acteurs de ces voies situés en aval du TNF α et de l'insuline. En résumé, ce projet ambitieux et hautement pluridisciplinaire a d'ores et déjà fourni d'importantes avancées dans le domaine de l'étude des bases neurobiologiques sous-tendant les troubles de l'humeur et de la cognition associés au diabète. Les premiers résultats obtenus ont d'ailleurs déjà été présentés dans le cadre de la *Journée des Doctorants* organisée au sein de notre laboratoire et font l'objet d'une publication actuellement en cours de rédaction (Fourrier *et al.*, 2017, en préparation).

4. Conclusion et perspectives

L'intérêt et l'originalité de ce travail résident principalement dans la nature des informations scientifiques qu'il a fournies, de leur champ d'application, mais également dans le choix des approches proposées, tant d'un point de vue scientifique que technique. Nous proposons en effet de rechercher les bases neurobiologiques des troubles neuropsychiatriques associés au diabète, alors que ces troubles sont en général très peu étudiés et le plus souvent appréhendés uniquement au travers des caractéristiques psychosociales des patients. L'amélioration de leur qualité de vie est pourtant un enjeu crucial. De plus, nous proposons d'aborder ce sujet d'un point de vue mécanistique, en étudiant deux systèmes importants dans le cadre du diabète mais souvent peu étudiés simultanément, surtout au niveau cérébral. Ainsi, l'approche intégrée et pluridisciplinaire utilisée a permis de vérifier la pertinence fonctionnelle des molécules que nous avons choisies de cibler, mais aussi de commencer l'identification de nouveaux candidats potentiellement impliqués dans les différentes comorbidités associées au diabète. Ce travail, qui n'aurait pas été possible sans l'aide financière généreusement apportée par la SFD et la fédération ANTADIR, constitue ainsi un premier pas vers **l'ouverture de nouvelles pistes de recherche** qui trouveront, à plus ou moins long terme, une application évidente dans **l'amélioration des traitements** actuellement disponibles. Enfin, les informations obtenues contribueront sans aucun doute, à terme, à **améliorer la qualité de vie** des patients et à leur assurer une **meilleure prise en charge**.