

Compte rendu du travail effectué grâce aux Allocation SFD Exceptionnelle 2014 de 25 000 euros pour le thème de recherche : « Rôle des corps cétoniques dans la régulation de la prise alimentaire : dérégulation dans un modèle de souris obèse et diabétique » et Allocation SFD-ANTADIR 2016 de 25 000 euros pour le thème de recherche : « Détection hypothalamique des corps cétoniques et régulation de l'homéostasie énergétique ».

Lionel Carneiro, PhD
Université de Lausanne,
Département de Physiologie

1. Introduction

L'attribution de 2 allocations de recherche par la SFD a été faite dans le cadre de l'étude du rôle de la détection hypothalamique d'une augmentation de concentration des corps cétoniques dans le développement des maladies métaboliques.

En effet, le cerveau occupe une place importante dans le contrôle du métabolisme énergétique en analysant et en intégrant en permanence le statut énergétique de l'organisme. Ceci permet, en retour, d'ajuster finement l'activité métabolique ou endocrine de différents organes et tissus périphériques, notamment le pancréas et le foie. Ce contrôle nerveux est permis grâce à l'intégration de signaux nerveux, métaboliques (glucose, acides gras...) et/ou endocriniens (insuline, leptine...) provenant de la périphérie. Le système nerveux central est ensuite à l'origine d'une réponse nerveuse vers les organes périphériques permettant d'adapter les dépenses énergétiques et le stockage énergétique, mais aussi en adaptant la prise alimentaire.

Au sein du système nerveux central, l'hypothalamus est une des principales régions du système nerveux central impliquées dans ce contrôle. Parmi l'ensemble des signaux détectés par le système nerveux central, la concentration en glucose représente le signal le plus étudié.

Cependant, bien que le glucose soit considéré comme le principal substrat énergétique et de signalisation pour les neurones, il a pu être montré que ces derniers sont également capables d'utiliser des sources énergétiques alternatives dans certains cas, notamment les corps cétoniques.

La détection des corps cétoniques au niveau du SNC, lors de la régulation de l'homéostasie énergétique, reste toutefois à déterminer.

La concentration sanguine en corps cétoniques est faible à l'état basal, et l'utilisation par les cellules nerveuses est considérée comme négligeable. Cependant, la concentration circulante en corps cétoniques augmente dans certaines situations, notamment lors du jeûne, mais aussi lors de l'obésité. De plus, lors de l'obésité, une diminution d'expression des transporteurs de monocarboxylates MCT1, 2, et 4 dans le cerveau qui transportent ces corps cétoniques a été montrée. Enfin, des résultats récemment publiés par le laboratoire montrent que les souris haplo-insuffisantes pour MCT1, sont résistantes à l'obésité induite par un régime gras et au développement d'un diabète de type 2. En revanche, ces souris ne présentent aucune altération dans des conditions de régime standard. Ceci suggère donc qu'un élément dépendant de MCT1 et présent uniquement lors d'une obésité joue un rôle dans le développement de désordres métaboliques.

2. Les questions posées

Ainsi, compte tenu des données obtenus dans le laboratoire nous avons voulu dans un premier temps tester si une variation de concentration en corps cétoniques pouvait être détectée par le cerveau. De plus, nous avons alors étudié quel impact sur la prise alimentaire pourrait avoir une augmentation de concentration en corps cétoniques. Cette première partie a pu être réalisée grâce au soutien de la SFD obtenu en 2014 via l'Allocation de recherche exceptionnelle

Dans un deuxième temps, l'impact d'une concentration élevée en corps cétonique sur le risque de développement de maladies métaboliques a été étudié. Cette partie du projet a pu être développée via l'obtention de l'Allocation de recherche SFD/Antadir en 2016.

3. Résultats

a. Injection carotidienne de corps cétoniques de 24h

Les résultats obtenus au laboratoire ont permis de montrer qu'une perfusion de 24h de corps cétoniques en direction du cerveau via l'artère carotide stimule la prise alimentaire via une augmentation des taux d'ARNm de NPY (neuropeptides orexigène) sans modification de POMC (anorexigène). De plus, nous avons étudié la distribution du transporteur de monocarboxylate MCT1 précédemment montré comme exprimé à la surface de certains neurones notamment au niveau hypothalamique. Ainsi, nous montrons que les neurones NPY du noyau arqué expriment pour 50% d'entre eux le transporteur MCT1. Ceci pourrait indiquer que cette sous-population serait directement sensible à la concentration en corps cétoniques.

Par ailleurs, au cours des 24h de perfusions carotidiennes, nous avons pu mettre en évidence des modifications du métabolisme associées à des altérations périphériques. Ainsi, dans un premier temps, une augmentation de la sécrétion d'insuline ainsi qu'une diminution de la néoglucogenèse ont pu être mesurées après 6h d'injection. De manière intéressante ces altérations périphériques sont totalement restaurées à des niveaux comparables aux contrôles après 12h.

Finalement, après 24h de perfusion, nous observons à nouveau une hyperinsulinémie associée à une diminution de la production de glucose mais aussi à une diminution de la sensibilité à l'insuline. À noter qu'à 24h, des indicateurs d'un mécanisme de contre-régulation sont observés. Ainsi, une diminution d'expression des transporteurs de corps cétoniques au niveau du cerveau est observée. De plus, la céto-genèse hépatique est également réduite ce qui induit une diminution de la concentration sanguine en corps cétoniques. Ainsi, la détection d'une forte concentration en corps cétoniques par le cerveau serait perçue comme délétère et engendrerait une réponse adaptative afin de diminuer ces effets. Ceci est donc en accord avec un rôle potentiel dans le développement de désordres métaboliques à long terme.

L'ensemble de ces résultats ont été obtenus grâce à l'allocation exceptionnelle de la SFD obtenue en 2014. En effet, celle-ci a permis de financer l'ensemble des produits chimiques nécessaires à la réalisation de ce projet (primers pour qPCR et produits chimiques et matériel associés, anticorps pour les western blots, β -hydroxybutyrate et matériels nécessaires à l'implantation carotidienne, kits ELISA de dosages sanguins).

b. Effet sur 7j de l'injection d'une concentration élevée de corps cétoniques dans l'hypothalamus sur l'homéostasie énergétique

Suite à la démonstration d'une sensibilité cérébrale aux corps cétoniques et à son rôle dans le contrôle de l'homéostasie énergétique, nous avons voulu tester l'implication d'une hypercétonémie chronique sur l'apparition de désordres métaboliques. Pour tester cela, nous avons implanté une pompe osmotique connectée à une canule d'injection insérée dans l'hypothalamus permettant d'injecter pendant 7j des corps cétoniques spécifiquement dans cette région cérébrale.

Cette stratégie a permis de mettre en évidence qu'une hypercétonémie de longue durée détectée par l'hypothalamus est à l'origine d'une réponse cérébrale entraînant une diminution des dépenses énergétiques. Celle-ci serait due à une diminution de l'activité physique

notamment. Par ailleurs, des marqueurs de la thermogénèse suggérant une diminution de l'activité thermogénique pouvant également participé au phénotype ont été observés. De plus, l'analyse des tissus adipeux révèle une modification du phénotype du tissu adipeux blanc sous cutanée. Celui voit ainsi le marqueur PRDM16 diminué. Ce facteur de transcription étant impliqué dans les processus de brunissement du tissu adipeux blanc. Ainsi comme montré par ailleurs (Cohen, P. et al, Cell, 2014), la diminution de ce marqueur favoriserait un changement du phénotype du tissu adipeux sous cutané « beige », protecteur vis-à-vis de l'apparition de surpoids, vers un phénotype de tissu adipeux blanc viscéral. Ce dernier se caractérisant par une perte de marqueur « beige » une augmentation de marqueurs d'inflammation et est associé à une augmentation du risque d'apparition de maladie métabolique.

Ainsi, la détection cérébrale de corps cétoniques entraînerait une diminution des dépenses énergétiques en réduisant l'activité physique et en réduisant les capacités thermogéniques du tissu adipeux ce qui contribuerait à l'augmentation du gain de poids finalement observée.

Finalement, lorsque ces expériences sont pratiquées sur des souris MCT1+/- résistantes au développement d'une obésité, nous avons pu observer que les corps cétoniques injecté dans le cerveau provoquaient une augmentation de l'activité physique. Par ailleurs, nous avons pu également mesuré une meilleure tolérance au froid.

Ainsi, chez ces souris, les corps cétoniques injectés dans le cerveau ont un effet opposé ce qui empêche l'apparition d'un gain de poids exagéré.

Dans cette seconde partie, l'allocation de recherche SFD/ANTADIR obtenue en 2016 a permis de financer l'achat du cadre stéréotaxique, des canules d'injection cérébrales et des pompes osmotiques nécessaire au développement du modèle expérimental. L'achats des produits chimiques, primers de PCR, anticorps de western blot a également été fait grâce à cette allocation de recherche.

4. Liste des publications et des communications

L'ensemble des travaux réalisés grâce aux allocations de recherche ont donné lieu à la publication de 2 articles originaux et une revue. De plus les résultats obtenus ont fait l'objet de plusieurs communications orales ou affichées dans divers congrès internationaux.

a. Articles et revue

- 1. Carneiro L, Geller S, Hébert A, Repond C, Fioramonti X, Leloup C, Pellerin L.** Hypothalamic sensing of ketone bodies after prolonged cerebral exposure leads to metabolic control dysregulation. *Scientific reports* 6:34909, 2016.
- 2. Carneiro L, Geller S, Fioramonti X, Hebert A, Repond C, Leloup C, Pellerin L.** Evidence for hypothalamic ketone bodies sensing: impact on food intake and peripheral metabolic responses in mice. *AJP - Endocrinology and Metabolism*. 310: E103–E115, 2016.
- 3. Carneiro L and Pellerin L.** Monocarboxylate transporters : new players in body weight regulation (Review). *Obesity Reviews* 16 (Suppl.1), 55-66. 2015.

b. Présentations orales et affichées lors de congrès

1. **Carneiro L**, Bernasconi R, Bernini A, Pellerin L. Influence de l'injection de corps cétoniques au niveau hypothalamique sur l'homéostasie énergétique. Congrès SFD, Lyon, France. 2016. Poster
2. **Carneiro L**, Geller S, Hebert A, Repond C, Fioramonti X, Leloup C, Pellerin L. Dérégulation du contrôle du métabolisme en réponse à une infusion cérébrale de corps cétoniques. Congrès SFD, Bordeaux, France. 2015. Talk
3. **Carneiro L**, Pellerin L. *In vivo* evidence for hypothalamic ketone bodies sensing: impact on food intake and endocrine responses in mice. American Society of Neurosciences (SFN), Washington, USA. 2014. Talk