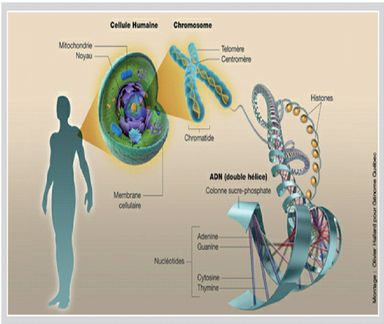
INFLUENCE DES MÉCANISMES DE RÉGULATION DES GÈNES DANS LA MALADIE DE PARKINSON

Guillaume L. Lemieux*, Élise Pépin, Geneviève Bureau, Michel Cyr
Groupe de recherche en signalisation cellulaire
Université du Québec à Trois-Rivières

Introduction

- La maladie de Parkinson (MP) est, après l'Alzheimer, la maladie neurodégénérative la plus commune. Son origine serait, dans la plupart des cas, de cause inconnue, toutefois environ 5% des cas seraient d'origine génétique. Il n'y a malheureusement aucun traitement curatif et l'effet thérapeutique des médicaments est limité uniquement aux symptômes de la maladie.
- D'un point de vue biologique, la MP se caractérise par la mort des neurones qui synthétisent la dopamine. Ce neurotransmeteur est fondamental pour permettre des mouvements coordonnés; une diminution du nombre de neurones dopaminergiques cause donc un ralentissement des mouvements, de la rigidité, des tremblements et plusieurs autres symptômes. (1)
- En fonction des besoins, certains gènes doivent être exprimés plus que d'autres et c'est ce qui permet à notre organisme de garder sa stabilité. Lorsque nous sommes atteints par une maladie, comme la MP, plusieurs gènes changent leurs niveaux d'expression. Ces dérèglements amènent souvent les cellules du corps à s'autodétruire ou à essayer de survivre en changeant leurs mécanismes de contrôle des gènes.



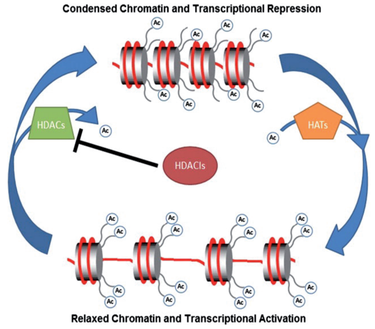


Figure 1. Localisation et conformation de l'ADN. (Harrison I.F. et al, 2013)(2)

- La MP cause plusieurs modifications cellulaires qui changent l'accessibilité de certains gènes, affectant ainsi l'équilibre du contrôle des gènes. Notre hypothèse est qu'une modification particulière des histones, soit l'acétylation, joue un rôle prédominant dans ses altérations. L'objectif principal du projet est de quantifier les variations d'acétylation des histones chez un modèle animal parkinsonien.

Méthode

Modèle animal

Animaux :

- Souris C57bl/6j âgées d'environ 12 semaines;
- Protocoles approuvés par le comité des bons soins aux animaux de l'Université du Québec à Trois-Rivières et en accord avec le Conseil canadien de protection des animaux.

Administration de MPTP :

- 6 souris ont été injectées au MPTP et ont été euthanasiées 7 jours après, 5 souris contrôles ont reçues des injections de saline;
- Injections intra-péritonéale en administration aigue : 4 injections de 20mg/kg aux 2 heures;
- Traitement de support au besoin.

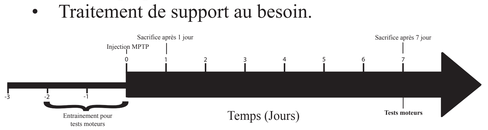


Figure 2. Ligne du temps des manipulations des animaux

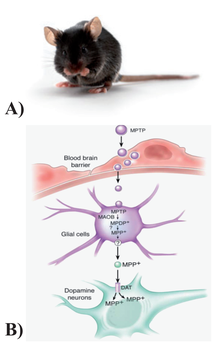


Figure 3. Modèle animal (A) et métabolisation du MPTP (B). (Dauer W. et al, 2003)(3)

Méthode (suite)

Tests comportementaux

Entrainement :

- Les souris ont été entrainées à exécuter chaque test quelques jours avant les injections de MPTP;

« Test de suspension» :

- Les souris sont suspendues par les pattes au centre de la corde;
- On calcule le temps qu'elles prennent pour atteindre une des deux plate-forme;
- Un maximum de 60 secondes leur est alloué.

« Test de la poutre » :

- Les souris sont positionnées sur les poutres (6 et 12mm) à une extrémité (toujours la même) face à l'autre côté;
- On calcule le temps qu'elles prennent pour traverser la poutre;
- Un maximum de 60 secondes leur est alloué.

« Test de la barre » :

- Les souris sont placées environ à 25 cm de hauteur sur la barre;
- On calcule le temps qu'elles prennent pour se retourner afin de descendre;
- Un maximum de 60 secondes leur est alloué.

Tests biochimiques

Western blot:

- Les souris ont été euthanasiées 7 jours après la dernière injection de MPTP;
- Les cerveaux ont été retirés des animaux afin de disséquer le striatum et le mésencéphale;
- Les histones sont séparées de la fraction cytosolique par une extraction acide;
- La concentration des échantillons est déterminée avec un dosage BradFord;
- Migration de 30ug/puit de protéines cytosoliques et de 10ug/puit d'histones sur gel SDS-PAGE de 12 et 15% acrylamide respectivement;
- Transfert sur membrane de nitrocellulose;
- Incubation avec un anti-corps spécifique (TH/GAPDH, AcH3K9/H3tot)
- Analyse chimioluminescence avec SuperSignal Femto.

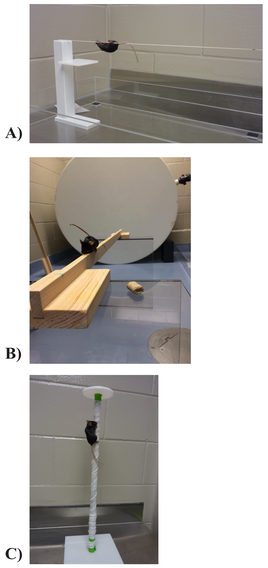


Figure 4. Exemple des tests:
A) Test de la corde suspendue.
B) Test de la poutre;
C) Test de la barre;

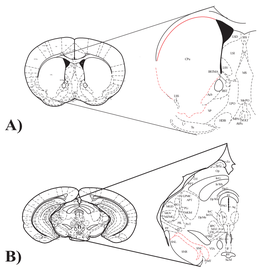
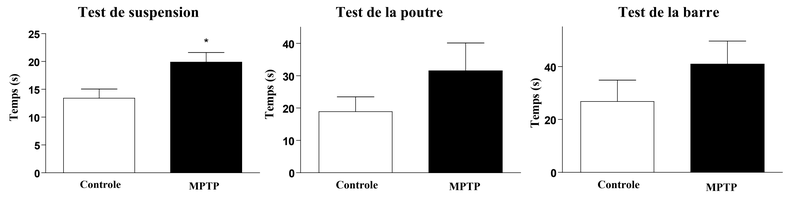


Figure 5. Localisation du striatum (A) et de la substance noire (B)

Résultats préliminaires

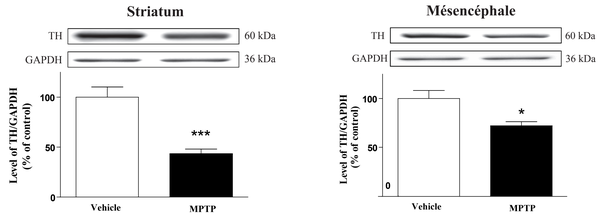
La mort des neurones dopaminergiques cause:

1 Une diminution des habiletés à accomplir les tâches motrices:

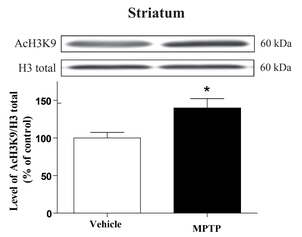


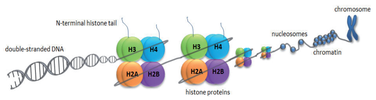
Résultats préliminaires (suite)

2 Diminution du niveau de tyrosine hydroxylase:



3 Augmentation du niveau d'acétylation de l'histone 3 dans le striatum:





Perspectives

- Les histones possèdent d'autres sites sur lesquels peuvent se lier différents groupements (acétyle, méthyle, phosphate, ubiquitine), causant des modifications variées sur la conformation de l'ADN;
- Vérification de l'effet de l'administration de L-DOPA sur ces modifications des histones;
- Vérification des niveaux d'expression des HDACs, des HATs et des DATs;
- Sélection d'inhibiteur de HDAC (HDACIs) ou de HAT (HATIs) pour rétablir l'équilibre dans les neurones affectés par la mort des neurones dopaminergiques.

Bibliographie

(1)Navneet Ammal Kaidery, Shaista Tarannum, Bobby Thomas (2013), Neurotherapeutics. Epigenetic Landscape of Parkinson's Disease: Emerging Role in Disease Mechanisms and Therapeutic Modalities. Review

(2) Ian F. Harrison*, David T Dexter (2013), Elsevier. Epigenetic targeting of histone deacetyloase: Therapeutic potential in Parkinson's disease. Pharmacology & Therapeutic.

(3)William Dauer, Serge Przedborski (2003), Neuron. Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. Review