

La Biologie Moléculaire et le Génie Génétique

Leur application en Neurosciences

Kamila Belhabich

Docteur - ingénieur

La Biologie Moléculaire et le Génie Génétique

Leur application en Neurosciences

Introduction

description Maladie d'Alzheimer

description Maladie de Parkinson

Traitements en général

Traitements pour Alzheimer

Traitements pour Parkinson

Description Maladie d'Alzheimer

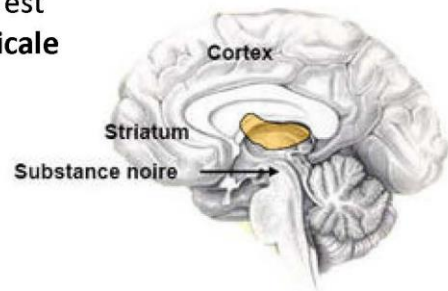
La Maladie d'Alzheimer

→ démence neurodégénérative : la mort neuronale est accélérée et **diffuse** → prédominante corticale

qui touche :

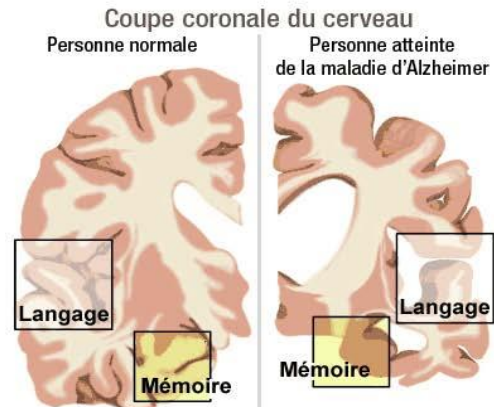
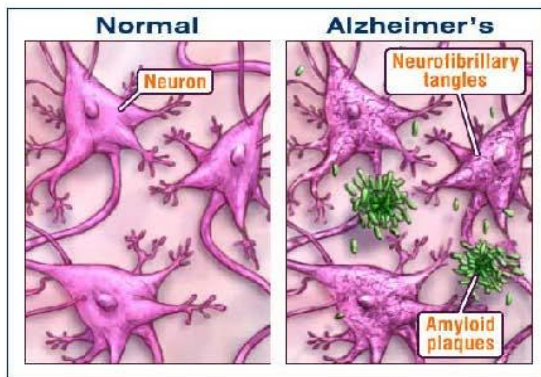
* en premier lieu les fonctions cognitives

* et se répercute sur le comportement et l'adaptation sociale des patients.



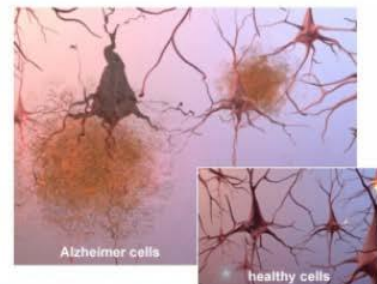
1ere cause de la maladie d'Alzheimer

Accumulation de la **beta-amyloïde**, petite protéine **toxique** qui s'accumule dans le cerveau des personnes atteintes d'Alzheimer, et qui agit **négativement** sur la **mémoire** et les **capacités cognitives**

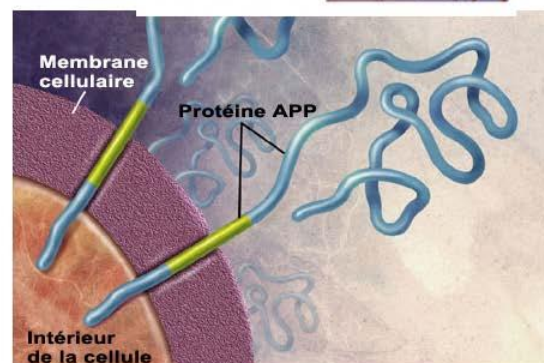


D'où viennent ces plaques de bêta-amyloïdes?

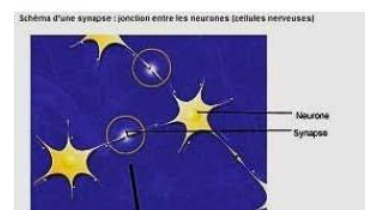
→ Les peptides **bêta-amyloïde**, provient du **clivage** d'une autre protéine plus grosse nommée **APP** (« **Amyloid Protein Precursor** », précurseur de la protéine amyloïde).



→ L'APP est une protéine **transmembranaire**, c'est-à-dire située à travers la membrane des neurones à l'extrémité des **synapses**.



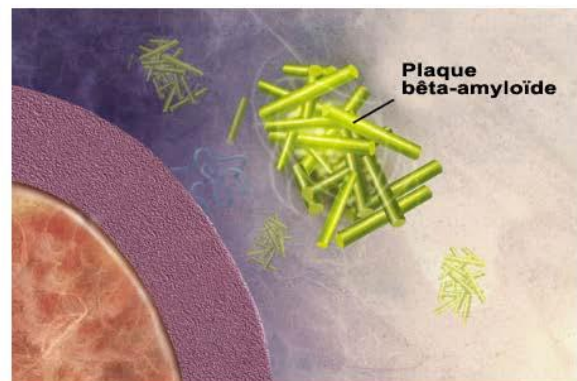
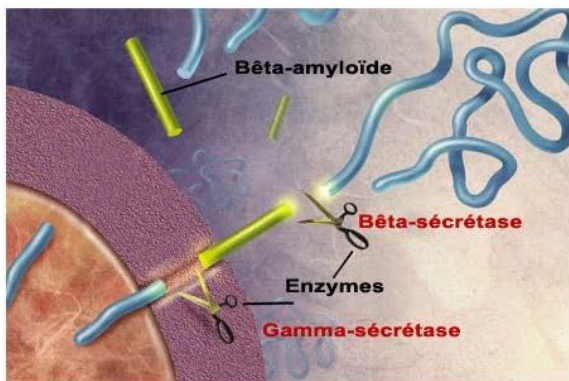
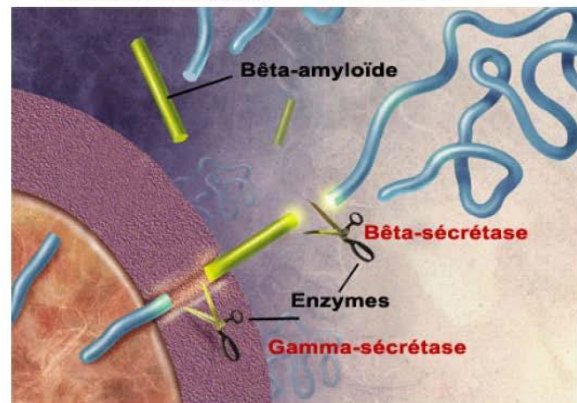
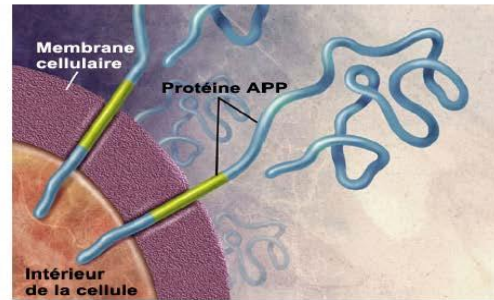
*L'APP est donc un composant normal de l'organisme : aide les neurones à croître, à survivre et à se réparer quand ils subissent des lésions.



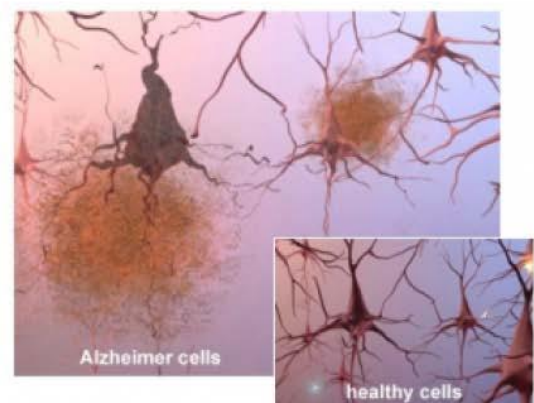
Pour libérer la bêta-amyloïde, l'APP doit être coupée à **deux endroits** par des **enzymes** particulières :

* Les **bêta-sécrétases** vont d'abord couper la chaîne d'acides aminés de l'APP à l'extérieur de la membrane de celle-ci.

*Puis, d'autres enzymes, les **gamma-sécrétases**, : autre coupure, à l'intérieur même de la membrane, libérant le peptide bêta-amyloïde.



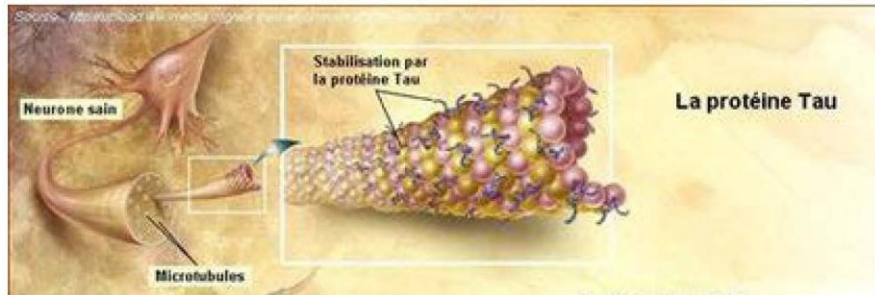
La **longueur** de ce peptide bêta-amyloïde est variable, allant de 38 à 42 acides aminés. Les deux formes principales sont toutefois celles à **40 et 42 acides aminés**, la seconde étant celle qui a le plus de capacité à s'agglutiner pour former les plaques amyloïdes



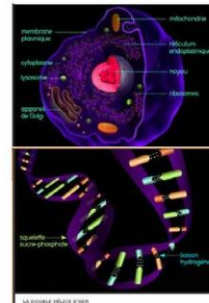
2^{ème} cause de la maladie d'Alzheimer

LA PROTÉINE TAU (tubulin associated unit)

- Les microtubules : « rails » qui assurent le transport de nutriments dans les neurones, sont stabilisées par les protéines Tau



- De +, La protéine **Tau normale** aurait des vertus protectrices vis-à-vis de l'ADN dans des conditions de stress cellulaires.



- L'accumulation de **protéines Tau anormales** dans les cellules nerveuses
→ leurs dégénérescences.

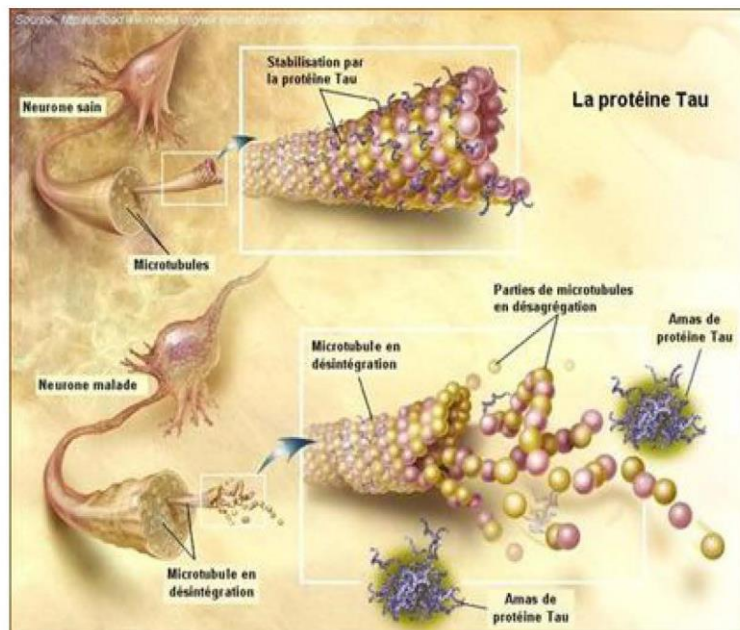
Le dysfonctionnement de Tau provient d'un **excès** de *phosphorylation* :

- les protéines tau se détachent des microtubules → s'agglutinent (agrégats) entre elles.

→ elles ne peuvent plus maintenir en place les microtubules,

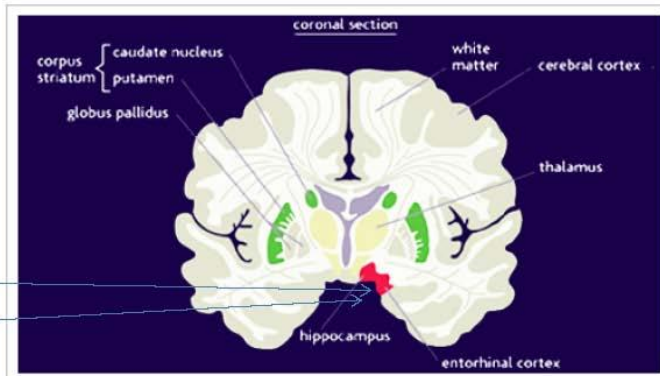
→ pas de transport de nutriments dans les neurones,

→ mort des neurones

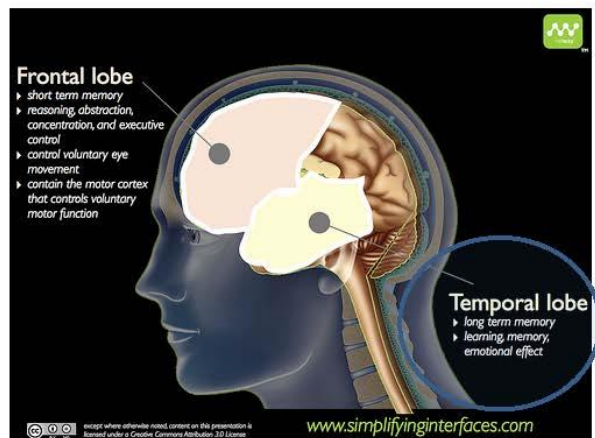


Cette pathologie **Tau** apparaît dans le cerveau humain surtout dans:

- * la région entorhinale,
- * puis hippocampique,



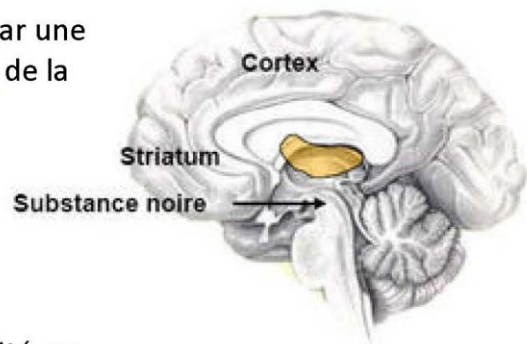
deux régions très impliquées dans la mémoire à long terme.



Description La maladie de Parkinson

→ est une des maladies **neurodégénératives** les plus répandues.

* Elle est **plus localisée et** se traduit par une destruction lente et progressive des **neurones** de la **substance noire** du **cerveau**.

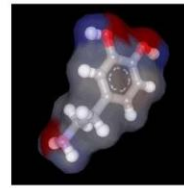


* Il en résulte :

→ des **symptômes** moteurs (tremblements, **rigidité** musculaire, impossibilité ou ralentissement des **mouvements**)

→ des **atteintes intellectuelles** (détérioration de la mémoire et difficulté à adapter son comportement au changement de situation).

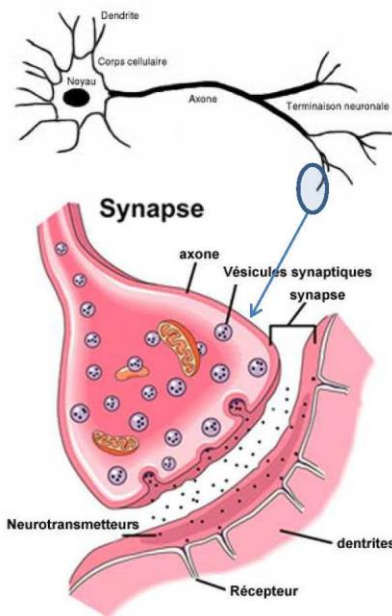
Les neurones détruits sont ceux qui produisent la **dopamine**, neurotransmetteur intervenant dans le contrôle du **mouvement**.



Qu'est ce qu'un neurotransmetteur (neuromédiateur) :

*C'est une molécule chimique qui assure la transmission des messages d'un neurone à l'autre, au niveau des synapses.

*La molécule libérée par un neurone lors d'une stimulation se fixe à un récepteur
-d'un autre neurone, ce qui entraîne la transmission de l'influx nerveux,
-ou à un récepteur sur une cellule cible, ce qui entraîne divers effets dans un organe.



Les causes de la **maladie de Parkinson**

→ sont génétiques et environnementales :

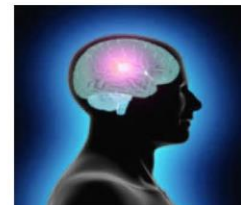
Plusieurs **pistes** sont étudiées :

- *exposition aux métaux lourds,
- *pesticides et herbicides,
- *chocs à la tête (traumatismes crâniens : les boxeurs),
- *micro-infarctus cérébraux,
- *neurotoxines qui pourraient être d'origine virale...

*processus inflammatoires :

allergies (des rhinites allergiques ou rhume des foins) : allergiques aux poils, poussières et spores → risque multiplié par trois de développer une maladie de Parkinson typique.

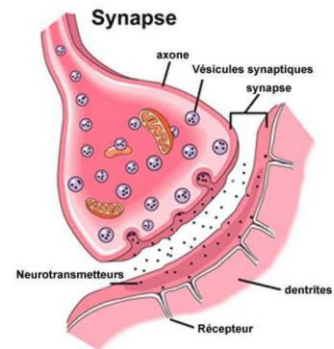
*Plusieurs **gènes de prédisposition** ont été identifiés,



La piste de la prédisposition génétique

→ Mise en évidence d'un gène de l'alpha-synucléine (SNCA): protéine présente sur **les boutons synaptiques** des neurones

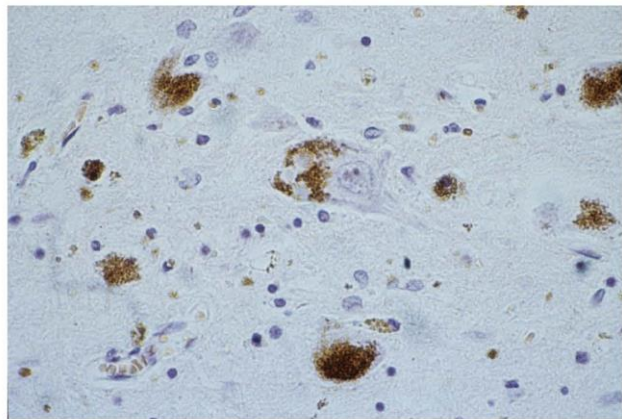
→ Cette protéine soluble peut, dans certains cas (mutations), s'agréger pour former des **fibrilles enchevêtrées**, nommées **corps de Lewy**, (présence dans le cerveau de parkinsoniens).



Région cérébrale qui dégénère dans la maladie de Parkinson.

Trois corps de Lewy (l'un situé au centre, très caractéristique) qui **confirment** le diagnostic de la maladie de Parkinson.

Dans ces corps : fer et aluminium en quantité anormalement élevée.

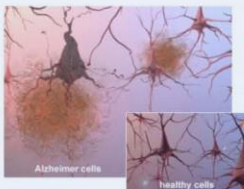


Les avancées des neurosciences + Biologie moléculaire ==> L'étude du cerveau malade et du cerveau sain

Les maladies neurodégénératives du type

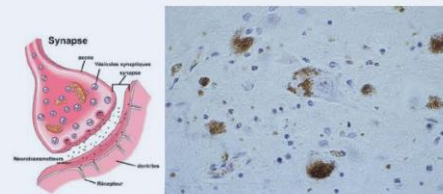
Alzheimer : due à l'accumulation :

- de plaques de **bêta-amyloïde**
- de protéines **Tau anormales**,



Parkinson due à :

- déficience en Dopamine
- accumulation des corps de Lewy



- Certains **médicaments** parviennent à ralentir la progression des **symptômes**,
- mais aucune véritable **guérison** n'est aujourd'hui envisageable.

Réparer le cerveau : les pistes de la recherche

«La plupart des médicaments « **neuroprotecteurs** » sont inactifs à la suite d'une administration systémique, car
→ une barrière, dite hémato-encéphalique, les empêche de pénétrer dans le cerveau.»

Il existe des stratégies thérapeutiques qui peuvent soigner voire remplacer les neurones.

1 - TRANSPORTER LES MÉDICAMENTS DIRECTEMENT DANS LE CERVEAU (biomatériaux...)

2 - Thérapie cellulaire et/ ou thérapie génique,

1 - TRANSPORTER LES MÉDICAMENTS DIRECTEMENT DANS LE CERVEAU

La solution ? Les **biomatériaux** adaptés à l'interaction avec les systèmes biologiques :

* les **liposomes**, des **sphères de graisse** qui peuvent contenir le médicament et le protéger ainsi des dégradations au sein de l'organisme.

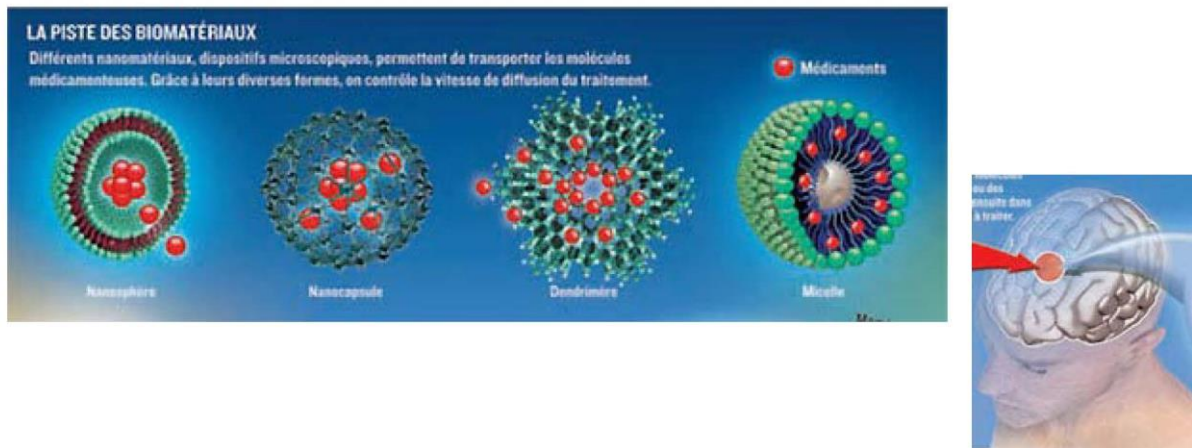
* Les **nanosphères** se présentent au contraire comme des **polymères solides** renfermant la substance voulue au sein de sa matrice.

* **Les nanocapsules** présentent une cavité intérieure où la drogue prend place.



*Plus complexes, les **dendrimères** portent de multiples ramifications susceptibles d'assurer des fonctions très diverses.

***Les micelles** sont des sphères organisées de telle sorte que leur partie externe soit **hydrophobe en milieu aqueux** et hydrophile en milieu lipidique : elles sont utiles pour encapsuler des médicaments non solubles dans l'eau que l'on veut administrer dans le sang.

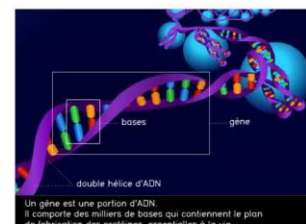


Réparer le cerveau : les pistes de la recherche

1 - TRANSPORTER LES MÉDICAMENTS DIRECTEMENT DANS LE CERVEAU (biomatériaux...)

2- Thérapie cellulaire et/ou thérapie génique, des stratégies thérapeutiques : soigner remplacer les neurones.

→ **Des gènes médicaments**

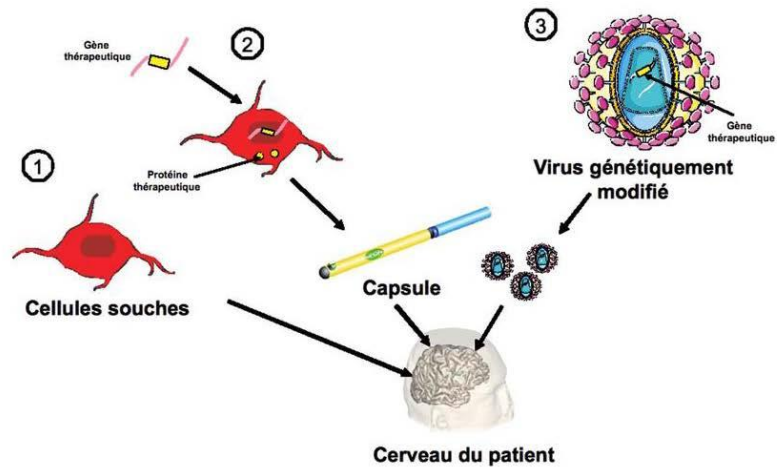


Ces thérapies biologiques révolutionnent la médecine (maladies neurodégénératives)

LES THÉRAPIES CELLULAIRES ET GÉNIQUES APPLIQUÉES AUX MALADIES NEURODÉGÉNÉRATIVES

Trois approches sont possibles pour **remplacer**, dans le cerveau,
des **cellules malades** ou un **gène défectueux** :

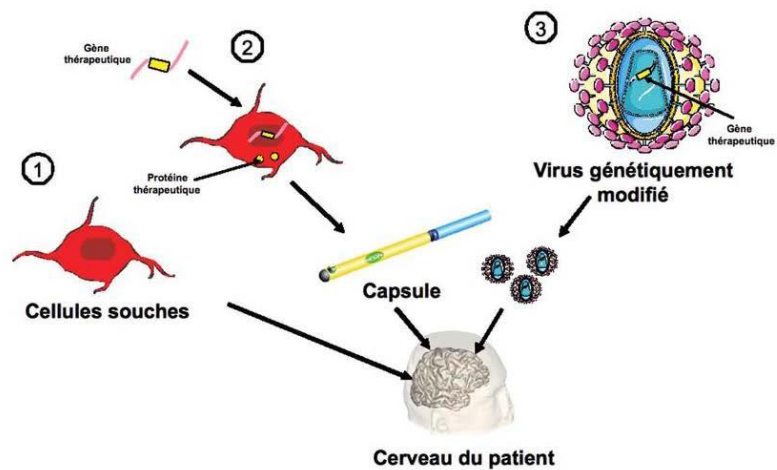
- 2- 1- la thérapie cellulaire ;
- 2- 2- la thérapie génique *ex vivo* ;
- 2- 3- la thérapie génique *in vivo*



LES THÉRAPIES CELLULAIRES ET GÉNIQUES APPLIQUÉES AUX MALADIES NEURODÉGÉNÉRATIVES

Trois approches sont possibles pour **remplacer**, dans le cerveau,
des **cellules malades** ou un **gène défectueux** :

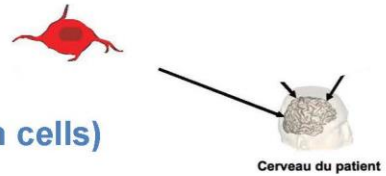
- 2- 1- la thérapie cellulaire ;
- 2- 2- la thérapie génique *ex vivo* ;
- 2- 3- la thérapie génique *in vivo*



2 – 1 - La thérapie cellulaire :

→ restaurer la fonction de l'organe lésé en greffant au patient des cellules saines

A- cellules fœtales = ES (embryonic stem cells)

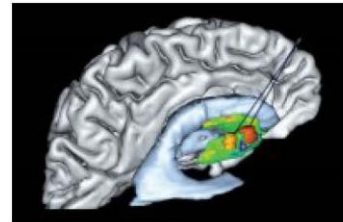


→ La greffe de **neurones fœtaux** contre Alzheimer? En cours....

→ la greffe de **neurones fœtaux** chez les **Parkinsoniens** : OK!!

L'imagerie cérébrale → les cellules greffées forment de nouvelles connexions avec les **neurones** des régions malades et y **produisent la Dopamine!!**.

→ Ces cellules réparent le cerveau !



Inconvénient : Il faut environ six fœtus (avortements) pour un seul patient.

→ trouver d'autres sources de matériau cellulaire à greffer.

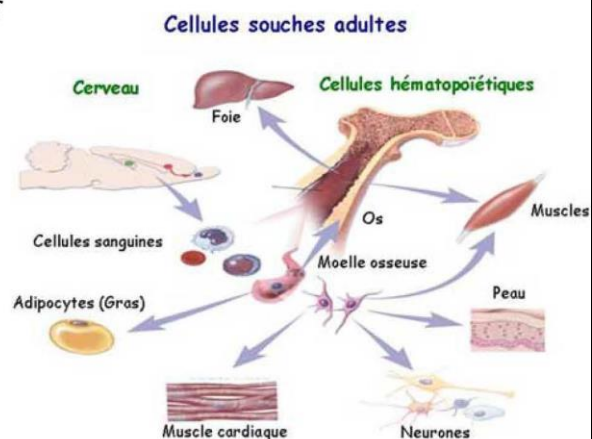
2 – 1 - La thérapie cellulaire :

B - La piste des cellules souches

→ présentes spécifiquement dans la moelle osseuse et la peau :

→ Car, non encore différenciées, => des destinées diverses : se renouveler à l'identique et permettre la régénération de cellules spécialisées .

→ existent aussi dans le **cerveau humain adulte!!!**. On peut espérer les stimuler, mais aussi envisager d'en transplanter.



2 - 1 - La thérapie cellulaire :

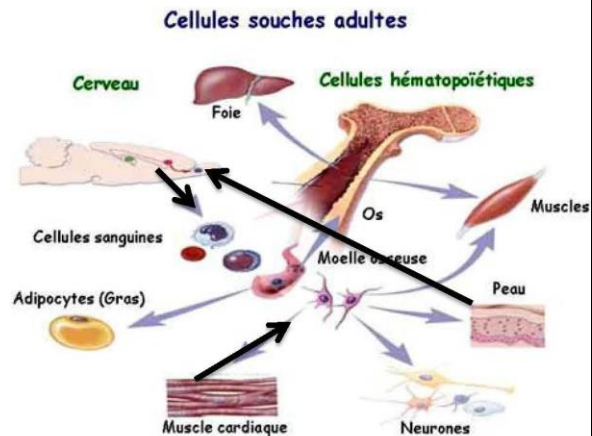
C - cellules adultes différenciées

Il s'agit de faire en sorte que des cellules adultes veuillent bien accepter de redevenir totipotentes:

→ Cellules souches pluripotentes induites, ou iPS

→ Yamanaka a sorti les quatre gènes gagnants : Oct-3/4, Sox, Klf4 et c-Myc, (facteurs de transcription : activent les gènes).

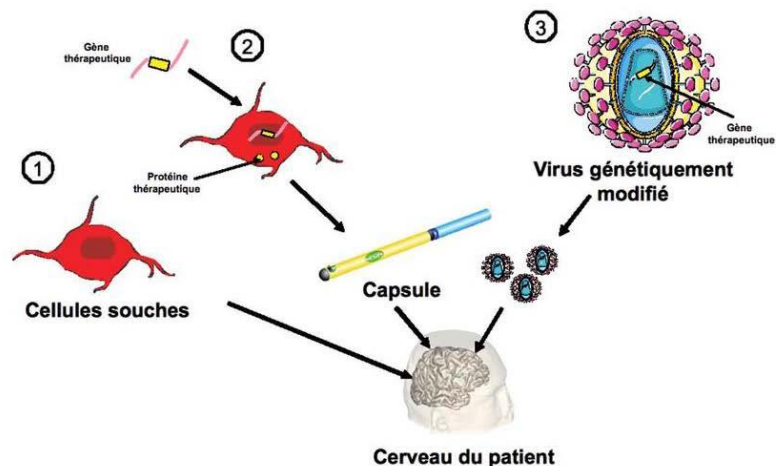
→ En intégrant ces gènes dans des cellules adultes → retour à l'état de cellules souches.



LES THÉRAPIES CELLULAIRES ET GÉNÉTIQUES APPLIQUÉES AUX MALADIES NEURODÉGÉNÉRATIVES

Trois approches sont possibles pour remplacer, dans le cerveau, des cellules malades ou un gène défectueux :

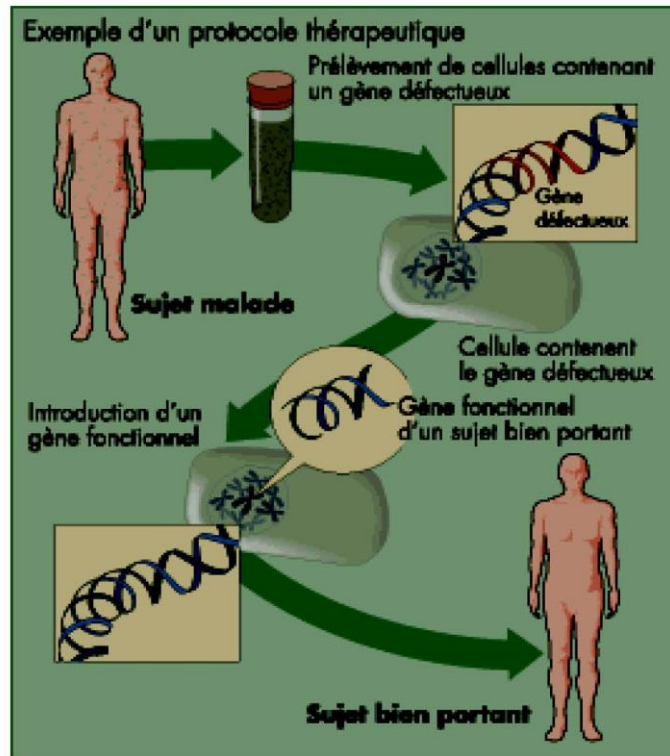
- 2- 1- la thérapie cellulaire ;
- 2- 2- la thérapie génique *ex vivo* ;
- 2- 3- la thérapie génique *in vivo*



Il s'agit de remplacer « le » gène « malade » par un gène « sain »

Modification délibérée de l'ADN de cellules du corps

→ conférer une capacité nouvelle à prévenir ou à guérir ces maladies.

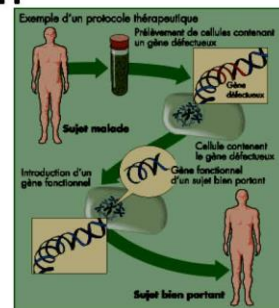


2- 2- la thérapie génique : LE GÈNE MÉDICAMENT

Les moyens de transport du gène :

Utilisation d'intermédiaires = vecteurs :

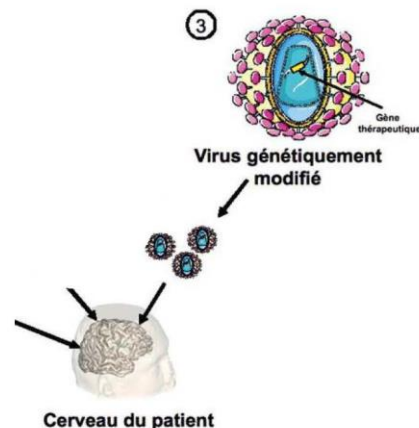
- * soit des virus,
 - * soit des vecteurs synthétiques
- } "cheval de Troie" pour s'introduire dans les cellules à traiter.



***la thérapie génique "in vivo" (3):**

→ injecter le virus portant le gène thérapeutique **directement dans la circulation sanguine,**

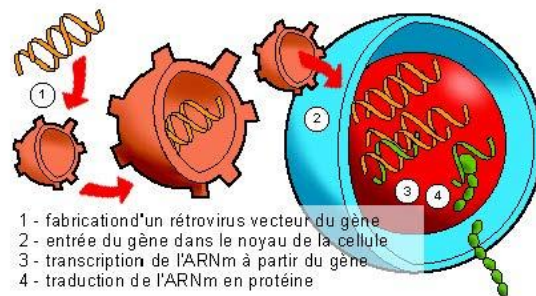
→ atteindre spécifiquement les cellules cibles.



→ Les vecteurs viraux « modifiés » ou « inoffensifs » : → Rétrovirus

*transfèrent assez facilement le gène étranger dans le noyau des cellules cibles car, ils infectent facilement les cellules.

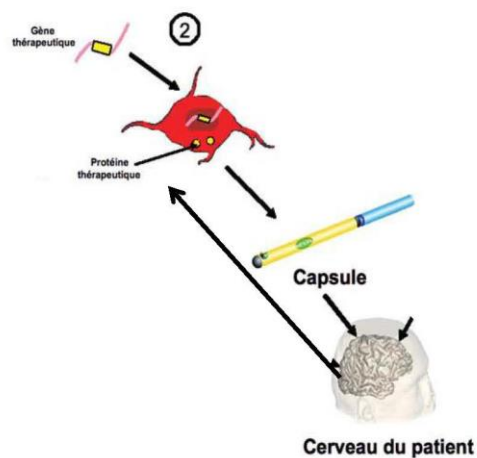
*permettant donc l'expression de la protéine thérapeutique..



Inconvénient : provoquent des réactions immunitaires

***la thérapie génique « Ex-vivo" (2):**

→ Extraire des cellules du patient et à y insérer, à l'aide de vecteurs, les gènes modifiés pour ensuite les réintroduire dans l'organisme.

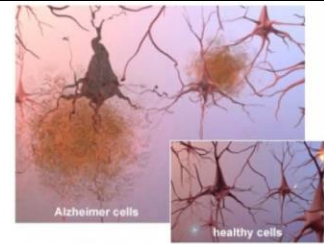


Les thérapies contre la maladie d'Alzheimer

3 - Les thérapies géniques



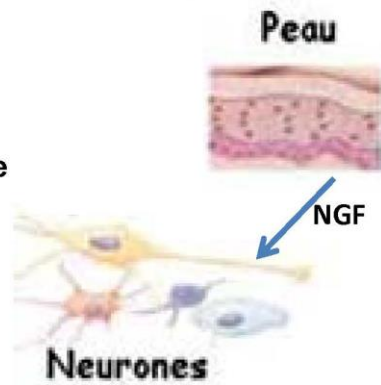
Utilisation de Fibroblastes de peau



→ Modification **génétique** des fibroblastes de peau de patients **Alzheimer**

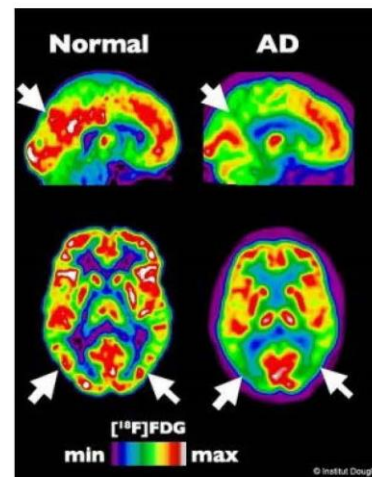
→ → expriment et secrètent le **facteur de croissance des nerfs** ("nerve growth factor", ou **NGF**)

→ → permettre à des neurones de se régénérer.



→ forage de trous dans la boîte crânienne sous anesthésie générale

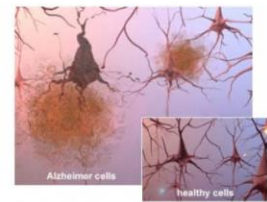
→ **et implantation des cellules** de la peau productrices de NGF directement dans les lésions cérébrales des malades d'Alzheimer.



→ Après 22 mois :

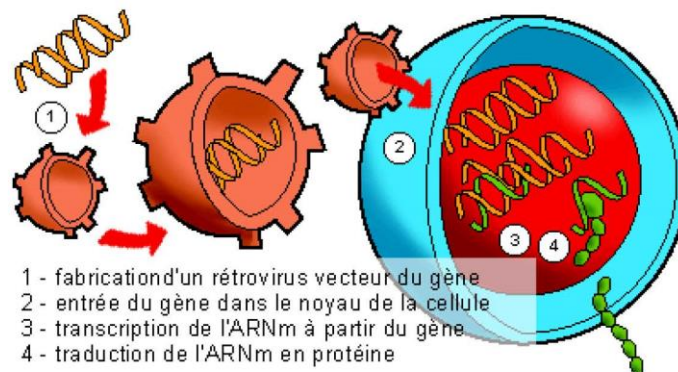
- *aucun effet secondaire grave n'a été observé.
- *un ralentissement du déclin cognitif (de 36 à 51% selon les cas)
- *une activité métabolique accrue des zones traitées.

Inconvénient : lourdeur de la procédure chirurgicale.



→ Une équipe du Rush University Medical Center (Illinois) expérimente en ce moment la possibilité d'apporter NGF par le biais d'un **vecteur viral** :

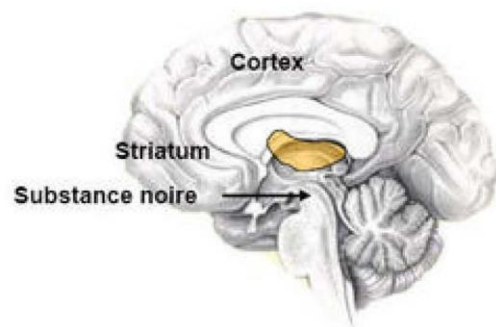
→ → meilleure pénétration et à une plus grande production de NGF.



Les thérapies contre la maladie de Parkinson

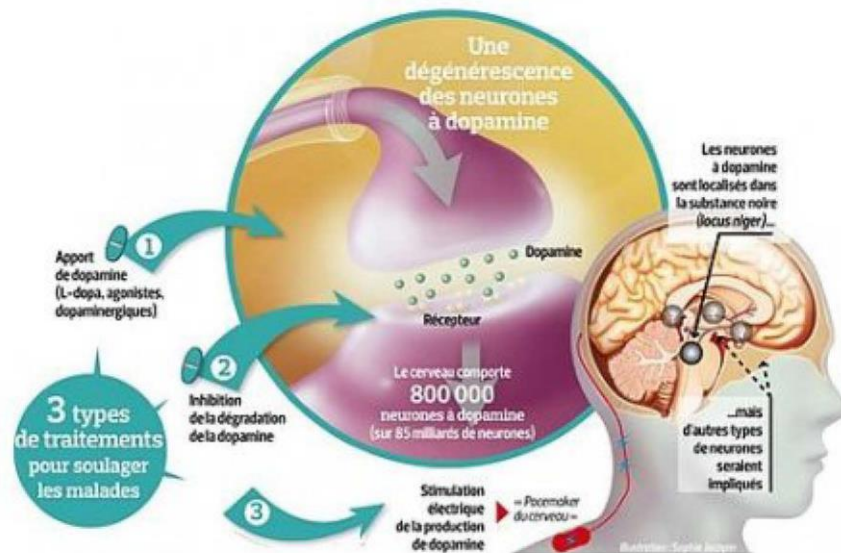
La maladie de Parkinson

est due à une dégénérescence du **Locus niger (substance noire)**, la zone cérébrale où des neurones fabriquent la **dopamine**.



La carence en ce neurotransmetteur

→ tremblement de repos, raideur, difficultés à initier des mouvements



Le traitement dopaminergique exogène doit compenser le déficit en dopamine endogène

→ amélioration de l'activité motrice .

Inconvénients :

*fluctuations de l'effet du traitement

*et mouvements anormaux involontaires, appelés **dyskinésies** ; troubles du sommeil, de la parole ou une baisse dans la tension artérielle.

→ Il faudrait donc concevoir une stimulation dopaminergique **continue**, qui soit **locale** afin d'induire des effets moteurs bénéfiques.

→ Mais il semble que le développement de médicaments ne puisse y répondre.

Comment concevoir une restitution physiologique de la dopamine manquante ?

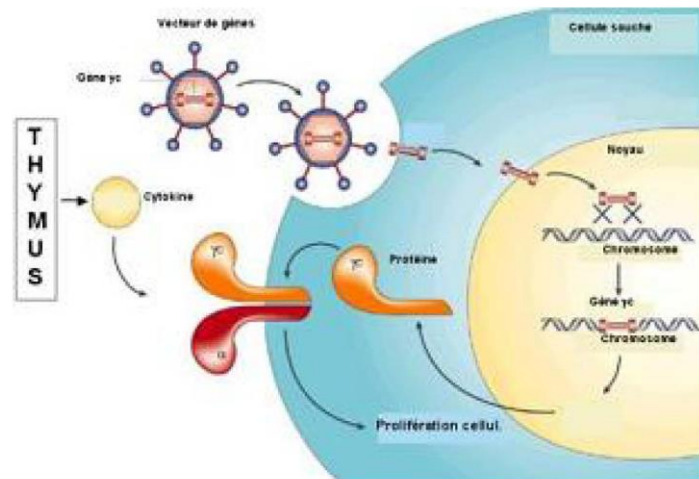
Les espoirs se tournent vers **la thérapie génique**:

→ seule technologie qui fait exprimer directement un gène thérapeutique dans les cellules cibles du cerveau,

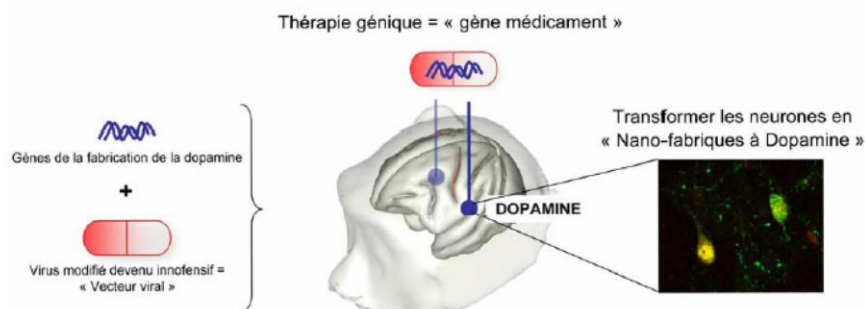
→ cette expression étant la production **de dopamine endogène par ces cellules transfectées**.

→ Utilisation de **thérapie génique in vivo** → de **vecteurs viraux** privés de leur caractère pathogène mais conservant leur capacité à *coloniser* une cellule.

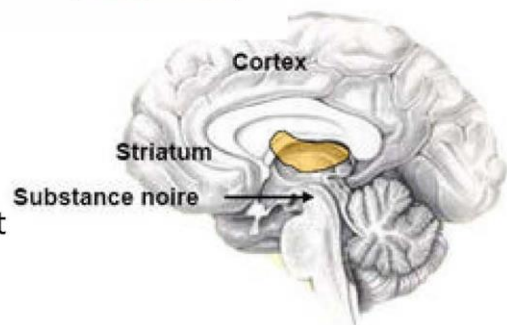
→ remplacer ou de restaurer la **synthèse de dopamine** par les cellules dopaminergiques grâce à l'insertion du gène ou des gènes codant la biosynthèse de la dopamine



Un vecteur viral rendu inoffensif, issu de *l'Equine infectious anemia virus* (EIAV), utilisé pour transporter les trois gènes essentiels à la biosynthèse de la dopamine : AADC, TH, et CH1.

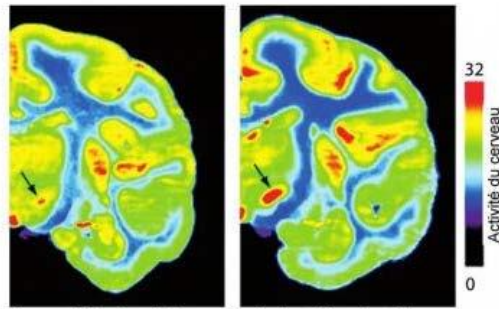


Ils ont établi la preuve du principe du transfert de ces gènes **dans le striatum, partie du cerveau en manque de dopamine**, et ont pu observer la **synthèse locale et continue de dopamine in vivo**.



Pr Stéphane Palfi, du service de neurochirurgie de l'hôpital [Henri-Mondor](#) (Assistance publique-Hopitaux de Paris)

CIBLER LES NEURONES



Maladie de Parkinson (modèle animal) - Avant et après thérapie génique

→ La **thérapie génique** a prouvé son efficacité dans le traitement de la maladie de Parkinson.

→ il se pourrait qu'elle soit la première méthode visant à arrêter l'évolution de la maladie

Conclusion

Les thérapies cellulaires et géniques permettent :

→ la restauration de la fonction d'un tissu, grâce à la greffe de
*cellules génétiquement modifiées par insertion d'un gène d'intérêt
(thérapie génique)

*ou de cellules non-transformées (thérapie cellulaire).

