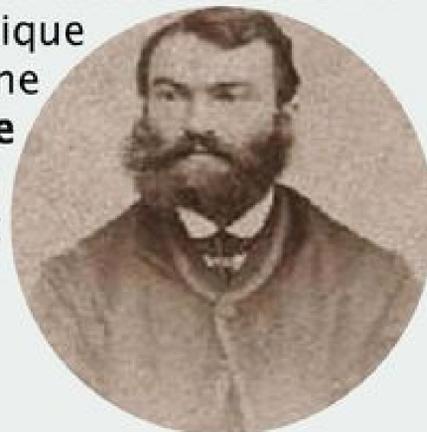
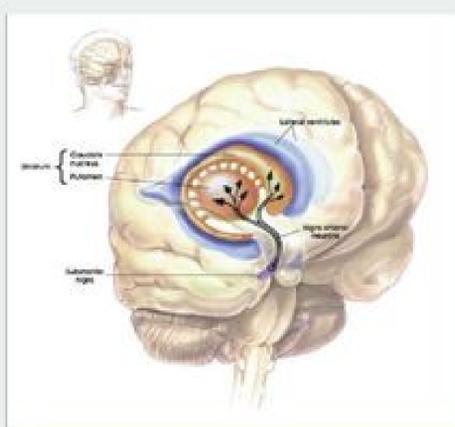


Parkinson : quand le cerveau déraille Au coeur de la substance noire

La **maladie de Parkinson** a été découverte par un médecin londonien, Sir James Parkinson en 1817. Cette déficience neurologique chronique touche les **neurones dopaminergiques** d'une petite structure cérébrale appelée « **substance noire** ». Ces neurones conçoivent et utilisent en effet un neurotransmetteur, la dopamine qui intervient dans le contrôle de la motricité.



► Le syndrome Parkinsonien et son évolution



Plusieurs symptômes et troubles handicapants apparaissent :

- lenteur des mouvements (**akinésie**), phénomènes de blocage,
- raideur des muscles, dyskinésies (mouvements anormaux et tremblement involontaire),
- des **troubles végétatifs** : (sommeil perturbé)
- des troubles **cognitifs** (détérioration de la mémoire, de la compréhension et du raisonnement)
- des troubles de la marche et de l'équilibre avec **chutes**

L'évolution de la maladie est très variable selon les patients. Du fait de cette **variabilité symptomatique** on parle non pas d'une maladie mais des maladies de Parkinson.

- 100000 personnes touchées en France
- 8 000 nouveaux cas par an
- 1% des personnes âgées de plus de 65 ans sont touchées

► Comment rendre la vie des malades plus agréable ?

Aucun traitement ne permet de guérir la maladie de Parkinson mais des traitements symptomatiques existent pour améliorer la vie des patients comme :

- la **L-Dopa**, précurseur de la dopamine,
- des **traitements chirurgicaux** comme la stimulation cérébrale.

Les médicaments permettent une reprise des activités dans 80% des cas, les nouveaux traitements permettent d'améliorer la qualité de vie des malades et de rallonger leur espérance de vie d'une dizaine d'années par rapport aux années 1970.



Le plus grand espoir vient de la **greffe de cellules souches** même si elle se heurte encore à des problèmes de rejets (réactions immunologiques), des problèmes éthiques (cellules d'embryon ou cellules souches de l'individu) et des problèmes de maîtrise du développement de ces cellules.

Pour mieux comprendre comment se développe la maladie, les chercheurs utilisent aussi des modèles animaux et plus spécifiquement **des rats transgéniques**.



Matthieu
Aurélien
Antoine



Parkinson : quand le cerveau déraile Un modèle porteur d'espoir : le rat transgénique

L'impossibilité d'observer la maladie de Parkinson et son évolution au sein de cerveaux humains a rendu indispensable la création de modèles animaux. L'unité Inserm 643 a ainsi créé un modèle de rats transgéniques.

Un gène muté permet tout d'abord d'introduire la maladie au sein des rats en bonne santé, avant de vérifier ensuite, par des tests, que les rats développent bien la maladie de Parkinson.



► Comment créer un rat parkinsonnien ?

Il existe aujourd'hui un nouveau modèle animal : le **rat transgénique**. Ce dernier exprime le gène humain muté de l'alpha-synucléine. C'est le premier gène associé aux formes familiales (génétiques) de la maladie de Parkinson. On le micro-injecte chez le rat au stade embryonnaire.



L'étape sensible de la micro-injection

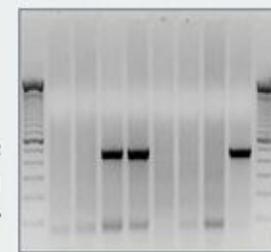
Ce gène est sous le contrôle d'un promoteur orientant son expression dans les régions que l'on sait affectées chez les patients parkinsonniens. Cette manipulation a pour but de **modifier génétiquement le rat** afin qu'il intègre et exprime le gène humain muté de l'alpha-synucléine et qu'il développe la maladie de Parkinson.

► Comment détecter la maladie chez le rat ?

Après avoir créé un rat transgénique, il faut le caractériser comme modèle de la maladie de Parkinson. C'est-à-dire que l'on va tester les rats à différents niveaux : une **approche moléculaire** (ADN, ARN, protéines) et des **analyses comportementales** (motricité, olfaction...).

L'APPROCHE MOLECULAIRE

On commence par extraire l'ADN génomique d'un rat transgénique afin de voir si il possède bien le gène humain muté. Si c'est le cas, on étudie l'expression du gène muté au niveau de l'ARN; on souhaite savoir en effet dans quelle partie du cerveau le transgène s'exprime.



Résultats d'électrophorèse

Dans un deuxième temps, on regarde l'influence de ce gène muté sur d'autres gènes comme la baisse du transporteur de la dopamine qui peut indiquer une perte de neurones.

Enfin, une dernière vérification est réalisée au niveau des protéines en comparant une protéine témoin saine et la protéine mutée.

Qu'en est-il maintenant des **tests comportementaux** sur ces rats transgéniques ?



Anaëlle
Sandy



Parkinson : quand le cerveau déraile

Un modèle porteur d'espoir : le rat transgénique



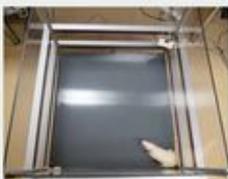
LES TESTS COMPORTEMENTAUX

► Les tests olfactifs

Le Litter-test : Il s'agit d'un dispositif à deux tiroirs : le premier est rempli avec de la sciure propre tandis que le deuxième est rempli avec de la sciure de la cage de la portée. Le test se fait avec des rats saints et des rats transgéniques qui, aveugles à la naissance se déplacent uniquement grâce aux odeurs.

Résultat : quelques soient les rats, ils se dirigent tous vers la sciure de la cage de la portée. En conclusion, les jeunes rats transgéniques ne sont pas malades.

Le Coconut test : ce test est basé sur la perception de l'odeur attractive pour le rat de la noix de coco. Alors que le rat en bonne santé se dirige progressivement vers la noix de coco, le rat malade passe à côté sans y prêter attention.



Résultat : on observe une perte olfactive chez les rats transgéniques adultes.

► Les tests de motricité

Le rotarod : il consiste à faire tourner les rats sur un axe à vitesse constante ou croissante, pour tester la coordination motrice des rats.



Résultat : Le rat malade a du mal à avancer et il finit par tomber.



Le stepping test : il consiste à tirer le rat en le tenant par la partie postérieure sur une moquette et à compter le nombre de rétablissement posturaux des pattes antérieures.

Résultat : le rat malade n'a pas le réflexe de mettre ses pattes en avant.

QU'ATTENDRE DE CES MODELES VIVANTS ?

Ce modèle est en cours de caractérisation, l'étude étant menée jusqu'au 25^{ème} mois, un âge qui correspondrait chez l'homme à 55-60 ans, l'âge moyen d'apparition de la maladie de Parkinson chez l'homme.

Une fois que l'on aura confirmé que ce rat est un bon modèle de la maladie, il deviendra un outil de base pour étudier la pathologie et développer différentes stratégies thérapeutiques comme la thérapie cellulaire.



www.laurent-diaz.com



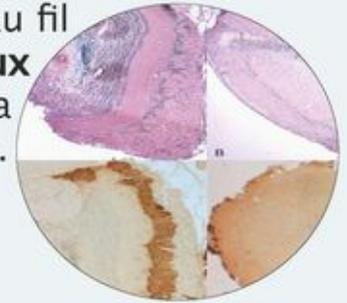
Anaëlle
Sandy



Parkinson : quand le cerveau déraile

Comment utiliser des coupes de cerveaux ?

Pour étudier la progression des lésions au fil du temps, on réalise des **coupes de cerveaux d'animaux modèles** chez lesquels on a provoqué la maladie de Parkinson.



► Des coupes de cerveaux au cryostat



On commence par congeler le cerveau de rat afin de faciliter sa coupe dans un cryostat qui le maintient ensuite à la température de -30°C . Le cryostat permet de découper le cerveau de rat en fines tranches de 10 à 40 micromètres d'épaisseur à l'aide d'un microtome.

Ces lamelles vont être ensuite préparées pour une observation microscopique après marquage par des techniques d'immunohistochimie. L'objectif est de mettre en évidence les marqueurs du phénotype dopaminergique comme la tyrosine hydroxylase, une enzyme facilitant la synthèse de la dopamine.



L'immunohistochimie est une méthode qui permet de localiser des protéines dans les cellules d'une coupe d'organe, par l'intermédiaire d'anticorps spécifiques de ces protéines.

► Les résultats des observations

On va procéder par comparaison entre des cerveaux d'animaux sains et des cerveaux d'animaux parkinsoniens ayant subi ou non des traitements. On s'intéresse en particulier à la zone où se trouvent les principales structures dopaminergiques.

On peut ainsi observer la disparition progressive des neurones à dopamine mais aussi l'apparition éventuelle d'agrégats protéiques au niveau des structures dopaminergiques. Cette agrégation est provoquée par la mutation de protéines qui en mutant changent de forme.

Cette technique doit permettre de vérifier l'efficacité éventuelle des différents traitements testés sur les modèles animaux (rats transgéniques)



Design : www.laurent-diaz.com



Pauline



Parkinson : quand le cerveau déraille Soigner les neurones malades

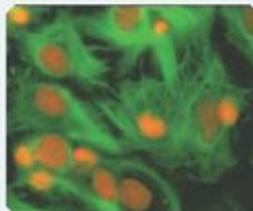
A ce jour, aucun traitement ne permet de guérir la maladie de Parkinson. Les médicaments permettent seulement de traiter les symptômes mais n'arrêtent pas la progression de la maladie. Deux techniques permettent de reconstruire les populations neuronales perdues.

100 milliards de neurones dans le cerveau !



► la greffe de neuroblastes foetaux humains

On les trouve dans le cerveau embryonnaire mais également dans certaines régions du cerveau adulte. Extraites de cerveaux d'embryons, ces cellules présentent l'avantage de ne pas être encore différenciées et sont donc capables de produire n'importe quel type de neurones.



Cellules souches embryonnaires

Le grand nombre de fœtus humains nécessaires à l'obtention de ces cellules limite l'utilisation de cette technique. Cette barrière éthique oblige les chercheurs à préférer la piste des cellules souches neurales adultes.

► la greffe de cellules souches neurales adultes

Présentes dans l'embryon ou dans l'organisme adulte, les cellules souches neurales sont à l'origine de plusieurs types de cellules différenciées du système nerveux central.

Après une étape de prolifération in vitro, la greffe de cellules souches neurales présente plusieurs intérêts:

- elles ont une forte capacité de prolifération en présence de mitogène (qui induit des divisions cellulaires),
- elles sont multipotentes : elles ont la capacité de se différencier dans les trois principaux types cellulaires du système nerveux central,
- elles sont peu immunogènes : elles ont moins tendance à être rejetées.

En revanche :

- elles se différencient majoritairement en astrocytes (environ 80%),
- il n'existe pas de préparation pure de cellules souches neurales et elles sont difficiles à caractériser car il n'existe pas de marqueurs spécifiques.

La greffe de cellules souches neurales est une stratégie thérapeutique prometteuse mais il faut poursuivre la recherche pour mieux contrôler la prolifération des cellules souches neurales ainsi que leur différenciation en neurones.



Cellules souches neurales



Design : www.laurent-diaz.com



Milène
Guillaume
Camille

