

## PROJET DE RECHERCHE 2007 :

### La régulation de la traduction du mRNA de la Tryptophane hydroxylase dans les neurones sensitifs primaires (ganglion spinal)

P. Delrée , et collaborateurs de l' IPG et du service des Neurosciences ULg.

#### **ACQUIS :**

Nous avons précédemment montré que la protéine TPOH (tryptophane hydroxylase, enzyme de synthèse limitant de la sérotonine) est exprimée en culture mais pas in vivo dans les neurones du ganglion spinal du rat adulte (\*). Nous avons ensuite observé, lors d'un travail subsidié par l'IRSPG, que de façon inattendue, le mRNA de la TPOH est présent ex vivo et in vitro, et en même quantité dans les deux conditions (\*). Nous en tirons l'**hypothèse** que la traduction du TPOH mRNA est inhibée in vivo, en conditions basales physiologiques en tout cas, tandis que la mise en culture des neurones du ganglion spinal aboutit à une levée du blocage traductionnel du mRNA de la TPOH .

#### **HYPOTHESES de TRAVAIL , et EXPERIENCES à réaliser :**

**HYPOTHESE n°1 :** La levée du blocage traductionnel du TPOH mRNA en culture, est peut-être liée à la **déafférentation proximale** (spinale) du DRG . Des expériences préliminaires in vivo, semblent supporter cette hypothèse.

*Expérience pour tester l'hypothèse n°1 :* procéder à des radicotomies proximales, et étude immunohistochimique de l'expression de la TPOH , dans les DRGs ipsi- et contra-latéraux.

**HYPOTHESE n°2 :** Le TPOH mRNA, ( avec d'autres m-RNAs ), est peut-être **convoyé préférentiellement dans la racine proximale** du DRG pour aboutir à la synapse de la corne postérieure de la moëlle épinière , où dans certaines circonstances il pourrait être traduit et sécrété dans l'espace synaptique (action « autocrine » postsynaptique et « paracrine » sur la terminaison présynaptique), pour participer à la modulation du signal de la douleur. Ceci expliquerait pourquoi, la TPOH, n'est pas présente in vivo dans les périkaryons des neurones, mais serait présente au niveau de la projection synaptique de la corne postérieure. La mise en culture, en désorganisant toute l'architecture du neurone et son environnement, perturberait la régulation fine qui s'exercerait in vivo, et aboutirait à une traduction du mRNA TPOH dans tout le cytoplasme neuronal et non plus uniquement à la synapse. Par ailleurs, pour conforter l'hypothèse n°2, on sait que certaines protéines sont convoyées préférentiellement dans la projection centrale du neurone du ganglion spinal , plutôt que dans sa projection périphérique.

*Expérience pour tester hypothèse n°2 :* prélever sélectivement les racines postérieures des ganglions sensitifs et un nerf sensitif pur , afin d'étudier par RT-PCR tagman , la présence ou pas du mRNA TPOH . Il y aura peut-être des obstacles de faisabilité de l'expérience, en raison de la difficulté de dissection élective des racines postérieures et en raison de la faible quantité de matériel potentiellement récoltés. ( Par ailleurs, le mRNA TPOH étant peu abondant dans le neurone sensitif , nous ne souhaitons pas nous lancer dans l'aventure de l'hybridation in situ).

**HYPOTHESE n°3** : Le TPOH mRNA est également présent dans les **ganglions rachidiens humains**.

*Expériences pour tester hypothèse n°3* : récolter des ganglions spinaux lors d'autopsies et rechercher le m-RNA TPOH humain. Par ailleurs, chez l'homme, nous pouvons également disposer de prélèvements de biopsies surales (déjà analysées, avec diagnostic pathologique), pour rechercher également le même mRNA au niveau d'axones sensitif (pour répondre à l'hypothèse n°2, mais à partir d'un matériel plus abondant).

**HYPOTHESE n°4** : la répression de la traduction du mRNA TPOH, passe par le **système rapamycine-Tor**. Ce système, qui est assez ubiquitaire, a été également observé dans le système nerveux. Dans les organismes inférieurs (bactéries) mais également dans les cellules eukaryotes, la famine aboutit à son activation, pour recentrer le métabolisme cellulaire sur les mécanismes les plus essentiels à la survie en milieu carencé. Ce système est également activé dans d'autres conditions, où il aboutit à réprimer relativement sélectivement la traduction de certains mRNAs.

Expérience pour tester hypothèse n°4 : cultiver les neurones des DRGs adultes, en présence ou pas de rapamycine. La même expérience sera réalisée in vivo. Etudier ensuite par immunomarquage, l'expression de la 5-HT et de la TPOH dans ces neurones en culture ou in vivo.

#### **EXPERIENCE n°5**

Chez le rat et dans un second temps chez l'homme, **le typage du RNA TPOH** des ganglions rachidiens sera réalisé. Il existe en effet au moins deux variants du mRNA de la TPOH (\*) dont l'un est exprimé préférentiellement dans l'épiphyse, tandis que l'autre est présent dans le raphé médian. Lequel des deux est exprimé dans les ganglions rachidiens ?

#### **BUDGET**

Le crédit demandé est de **3500 euros** pour l'année 2006-2007. Il servira à l'achat des **produits d'immunohistochimie, et de biologie moléculaire**. Pas de rémunération spécifique prévue pour le personnel, qui sera celui de l'IPG et du Service des Neurosciences de l'ULg. Une année ne permettra pas de réaliser toutes les expériences décrites ci-dessus, mais les premiers résultats des expériences les plus informatives, permettront d'orienter l'étude du mécanisme de répression traductionnel.

La priorité sera donnée à la finalisation de publications. Si la recherche s'avère fructueuse, nous proposerons à nos partenaires de soumettre une ou des demandes de crédit sur le sujet à des fondations scientifiques, autres que IRSPG. La participation financière de l'ULg, se fera sous forme de prestations scientifiques (animalerie, neuromicrochirurgie, culture, ...).

## **COLLABORATIONS :**

- Service d'immunohistochimie IPG.
- Département de Biologie Moléculaire IPG.
- Département des Neurosciences de l'ULg ( Président : Pr. G. Moonen, Service de Neurologie), avec :
  - - Pr. Didier Martin : microchirurgie du DRG, notamment par radicotomie proximale et distale.
  - - Pr. Bernard Rogister : laboratoire de culture in vitro.
  - - Pr. Jean Schoenen : étude anatomique in vivo.

## **CONTEXTE SCIENTIFIQUE ET MEDICAL :**

Principalement la douleur, et plus globalement les mécanismes fondamentaux de la traduction des mRNAs en site dendritico-synaptique .

## **ORIGINALITE et INTERET SCIENTIFIQUE du TRAVAIL :**

La découverte de la présence de la TPOH dans les neurones sensitifs primaires est une découverte originale de notre équipe (\*), qui a été ensuite corroborée par d'autres (\*). Le système sérotoninergique est essentiel dans la **modulation des afférences douloureuses** particulièrement au niveau de la corne postérieure de la moëlle épinière.

Dans d'autres localisations du système nerveux (raphé, épiphyse, ...) et hors système nerveux (plaquettes, placenta, ...), le système sérotoninergique intervient dans des phénomènes aussi divers que l'élan vital (et son contraire la dépression), le rythme nyctéméral, et probablement la fibromyalgie. Il est possible que les mêmes mécanismes de répression de la TPOH soient actifs à leur niveau et soient peut-être impliqués dans certaines pathologies ?????.

Plus généralement, le ganglion spinal par sa position anatomique, permet des manipulations expérimentales in vivo (déafférentation proximale ou distale) et in vitro (un des rare neurone pouvant être mis en culture chez l'individu adulte, car il est unipolaire, ce qui diminue le traumatisme lié à la dissociation, préalable à la mise en culture), ce qui en fait un modèle particulièrement attractif pour l'étude de la régulation de la transmission et de la mémoire synaptique . Tout progrès dans la compréhension de ces phénomènes, pourra probablement être extrapolé, mutatis mutandis, aux autres synapses du SNC, moins accessibles à l'expérimentation.

## **GLOSSAIRE :**

- DRG : Dorsal Root Ganglia (ganglion de la racine dorsale de la moëlle épinière), synonyme : ganglions spinaux ou ganglions rachidiens ou encore ganglions sensitifs
- TPOH : tryptophane-hydroxylase, enzyme de synthèse limitant de la sérotonine.