

Proposition de Stage M2 S4 NEUROSCIENCES **Année Universitaire 2010-2011**

1. Equipe d'Accueil de Master (EAM) :

Intitulé et numéro de l'Unité : Centre de Recherche Institut de la Vision, UMR_S968
INSERM/UPMC

Nom du Responsable de l'Unité : José SAHEL

Nom du Responsable de l'Équipe : José SAHEL

Intitulé de l'équipe d'accueil : Biologie systémique et approche thérapeutique
translationnelle de la vision

Adresse : 17 rue Moreau, 75012 Paris

Nom du responsable de l'encadrement : Valérie FONTAINE

Tél. : 01 53 46 25 74

Fax. : 01 53 46 25 02

E-mail : valerie.fontaine@inserm.fr

2. Titre du sujet :

Etude des mécanismes intracellulaires impliqués dans la régulation du pH intralysosomal de
l'épithélium pigmentaire rétinien

3. Description du sujet :

La dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) est une maladie dégénérative rétinienne chronique, évolutive et invalidante, qui touche le sujet âgé et dont l'origine est multifactorielle. En France, c'est la première cause de malvoyance après 50 ans et on estime à un million le nombre de personnes concernées. Maladie à prédisposition génétique, elle est responsable d'un nombre croissant de cas de mal vision, proportionnel à l'augmentation de l'espérance de vie. Cette maladie atteint une petite partie de la rétine, la macula, zone qui sert à fixer les objets, à lire, à reconnaître les visages et à discerner les couleurs. La DMLA est très certainement polygénique avec l'intervention de facteurs de risque comme l'exposition prolongée à la lumière, l'hypertension artérielle, l'hypercholestérolémie et le tabagisme. Il existe deux formes de DMLA, la forme sèche ou atrophique qui représente 80% des cas, et la forme humide ou exsudative. Seule cette dernière, caractérisée par l'apparition de néovaisseaux derrière la rétine, peut désormais bénéficier de traitements.

Les mécanismes physiopathologiques de la DMLA sont encore peu connus mais l'implication de processus de toxification aboutissant à la mort des cellules de l'épithélium pigmentaire rétinien (EPR) a été établie ces dernières années. En effet, au cours du vieillissement, ces cellules peuvent présenter des troubles de fonctionnement liés à l'accumulation dans des lysosomes de complexes protéo-lipidiques appelés granules de lipofuscine. Celle dernière induit une alcalinisation du pH intralysosomal résultant dans l'inhibition voire l'inactivation des enzymes impliquées dans la dégradation du matériel biologique phagocyté par la cellule. En effet, le processus de phagocytose des segments externes des photorécepteurs par l'EPR est suivi par une dégradation enzymatique du matériel ingéré, et l'activité des enzymes lysosomales est généralement très dépendante du pH, ceci étant particulièrement vrai pour les principales enzymes lysosomales de l'EPR, les lipases acides dont l'activité chute de 60% lorsque le pH passe de 4.4 à 5.2. Ainsi, il a été très récemment démontré qu'une réacidification

du pH intralysosomal de cellules d'EPR par des molécules augmentant la production d'AMPc permettait de rétablir leur fonction phagocytaire suite à une alcalinisation du pH intralysosomal. Compte-tenu du rôle très probable de ces mécanismes dans le développement de la DMLA, nous nous intéressons à l'élucidation des mécanismes impliqués dans la régulation du pH intralysosomal de l'EPR afin de développer une stratégie d'identification de molécules et/ou gènes capables de réacidifier ce pH. La première phase de notre travail consiste à la modélisation *in vitro* de ce mécanisme physiopathologique par la mise au point de nouveaux modèles cellulaires rétiniens. Ils devraient nous permettre d'identifier des voies intracellulaires impliquées dans la régulation du pH par des analyses d'expression et/ou d'activation génique et protéique. Ces modèles seront également utilisés pour réaliser des criblages moléculaires et génétiques visant à la découverte de nouveaux traitements pour la DMLA.

Le présent stage aura pour but de commencer l'étude des mécanismes impliqués dans la régulation du pH intralysosomal de l'EPR en utilisant les modèles cellulaires déjà développés et en en développant de nouveaux si nécessaire. Il fera appel à de nombreuses techniques telle que la culture cellulaire, la biologie cellulaire et moléculaire, la biochimie, la microbiologie, l'immunohisto- et -cytochimie et la microscopie à fluorescence. Ce travail aura pour finalité le développement d'une stratégie d'identification de molécules et/ou de gènes capables d'acidifier ce pH.