
*Les réponses à chaque question doivent être concises (10 lignes au maximum).
Les questions doivent être traitées dans l'ordre (Question 1 puis 2, etc ...) sur votre feuille.
Chaque question est notée sur 2 points sauf les questions 2,15 et 17 (4 points) (total 40 points).
Documents autorisés, pas de calculatrice.*

Analyse commentée de l'article ci-joint : "Regulation of major efflux transporters under inflammatory conditions at the blood-brain barrier *in vitro*". L'objectif de l'article est d'étudier l'effet de molécules pro-inflammatoire (cytokines TNF- α et IL-1 β) et anti-inflammatoire (hydrocortisone, HC), sur l'expression de transporteurs abc dans des cellules en culture (PBCEC, "Primary Porcine Brain Capillary Endothelial Cells").

- 1) Rappeler brièvement le rôle de la barrière hémato-encéphalique (BHE).
- 2) Quel est le principal élément formant la BHE ? Quelles sont les principales molécules ?
- 3) A quoi servent les protéines ABC au niveau de la BHE et plus particulièrement ABCb1 ?
- 4) Figure 1 : On mesure la résistance électrique trans-endothéliale. Quelle est l'information concernant la BHE que l'on peut déduire de ce type d'expérience ?
- 5) Figure 1 : Décrivez les résultats obtenus à 10h et à 40h.
- 6) Figure 2 : Qu'est-ce qui est mesuré ? Pourquoi ?
- 7) Figure 2 : Commentez les effets observés avec le TNF- α .
- 8) Figure 3 (a et b) : Qu'est-ce qui est mesuré ? Pourquoi ?
- 9) Figure 3 (a et b) : Commentez les effets obtenus avec TNF- α et IL-1 β (ignorer ET-1).

- 10) Comparer les effets obtenus sur Abcg2 et Abcb1 dans les figures 2 et 3 avec TNF- α et IL-1 β et commentez les différences observées aux différents temps d'incubation.
- 11) Figure 4 (a et b) : Comparer avec les résultats de la figure 2. Commentez les effets obtenus avec HC seul puis avec HC +TNF- α et +IL-1 β sur Abcg2 et Abcb1.
- 12) Figure 5 : Le Hoechst 33342 est un substrat de Abcg2. Qu'est-ce qui est mesuré ? Pourquoi ?
- 13) Figure 5 : Commentez seulement les effets observés à 48h en control, HC, TNF- α , et IL-1 β dans les conditions w/o FTC (en gris) uniquement.
- 14) Figure 5 : Le FTC est un inhibiteur spécifique de Abcg2. Quel est l'effet observé sur les résultats commentés à la question précédente ? Commentez.
- 15) Quelles sont les conclusions que vous pouvez déduire de ces expériences concernant les effets sur la BHE des molécules pro- et anti-inflammatoire ?
- 16) Donnez des exemples de cas d'inflammation avec un effet sur la BHE.
- 17) Expliquer la différence au niveau de la BHE entre une tumeur métastatique du cerveau et un gliome. Quelles sont les conséquences pour le traitement ?

~ ~

CORRIGE DE L'EXAMEN

1) *Rappeler brièvement le rôle de la barrière hémato-encéphalique (BHE).*

Protection des neurones / contenu sanguin, maintient homéostasie.

2) *Quel est le principal élément formant la BHE ? Quelles sont les principales molécules ?*

Jonctions serrées entre les cellules endothéliales, composées: JAM-1, Occludine, Claudins, MAGUK

3) *A quoi servent les protéines ABC au niveau de la BHE et plus particulièrement ABCb1 ?*

Transport actif spécifique de molécules. Phénomène de résistance multiple aux drogues.

4) *Figure 1 : On mesure la résistance électrique trans-endothéliale. Quelle est l'information concernant la BHE que l'on peut déduire de ce type d'expérience ?*

Maintient de l'imperméabilité aux ions.

5) *Figure 1 : Décrivez les résultats obtenus à 10h et à 40h.*

10h : augmentation du TEET avec HC, diminution avec TNF et IL-1, pas d'effet de ET-1.

40h : augmentation avec HC, diminution avec TNF, retour proche du control avec IL-1, pas d'effet de ET-1.

6) *Figure 2 : Qu'est-ce qui est mesuré ? Pourquoi ?*

QuantitativePCR, expression ARNm = activité de transcription des gènes codant pour les transporteurs.

7) *Figure 2 : Commentez les effets observés avec le TNF- α .*

TNF inhibe l'expression de Abcg2, augmente Abcc1 et Abcc4, pas d'effet sur Abcb1.

8) *Figure 3 (a et b) : Qu'est-ce qui est mesuré ? Pourquoi ?*

Quantité de protéine synthétisées = activité de traduction des ARNm.

9) *Figure 3 (a et b) : Commentez les effets obtenus avec TNF- α et IL-1 β (ignorer ET-1).*

TNF : augmente Abcb1 à 6h, diminue Abcg2 et Abcb1 à 24h et 48h

IL-1 : diminue Abcg2 et Abcb1 à 24h et 48h

10) *Comparer les effets obtenus dans les figures 2 et 3 avec TNF- α et IL-1 β et commentez les différences observées sur Abcg2 et Abcb1 aux différents temps d'incubation.*

A 6h TNF et IL-1 diminuent les ARNm de Abcg2 puis les protéines à 24 et 48h.

A 6h pas d'effet d'IL-1 sauf diminution protéines Abcb1, continu à 24 et 48h.

11) *Figure 4 (a et b) : Comparer avec les résultats de la figure 2. Commentez les effets obtenus avec HC seul puis avec HC +TNF- α et +IL-1 β sur Abcg2 et Abcb1.*

En présence de HC, il y a toujours inhibition par TNF et IL-1 de Abcg2 et pas d'effet sur Abcb1. HC augmente Abcg2 et inhibe Abcb1.

12) *Figure 5 : Le Hoechst 33342 est un substrat de Abcg2. Qu'est-ce qui est mesuré ? Pourquoi ?*

La quantité de Hoechst extrudé par les cellules endothéliales traduisant l'activité fonctionnelle des protéines Abcg2.

13) *Figure 5 : Commentez seulement les effets observés à 48h en control, HC, TNF- α , et IL-1 β dans les conditions w/o FTC (en gris) uniquement.*

HC augmente le transport par Abcg2, TNF et IL-1 l'inhibe.

14) *Figure 5 : Le FTC est un inhibiteur spécifique de Abcg2. Quel est l'effet observé sur les résultats commentés à la question précédente ? Commentez.*

Il bloque l'efflux induit par Abcg2 d'où accumulation dans les cellules.

15) *Quelles sont les conclusions que vous pouvez déduire de ces expériences concernant les effets sur la BHE des molécules pro- et anti-inflammatoire ?*

Les molécules pro-inflammatoires inhibent l'expression et l'activité des transporteurs Abcg2 et Abcb1 et donc augmente l'imperméabilité de la BHE. L'anti-inflammatoire stimule et à donc un intérêt thérapeutique pour rétablir la BHE en cas de pathologie inflammatoire.

16) *Donnez des exemples de cas d'inflammation avec un effet sur la BHE.*

Inflammation périphérique et maladies neuroinflammatoires (sclérose en plaque, encéphalite HIV, Alzheimer) = perte de l'occludine et de ZO-1.

17) *Expliquer la différence au niveau de la BHE entre une tumeur cérébrale métastatique (provenant d'un mélanome par exemple) et un gliome. Quelles sont les conséquences pour le traitement ?*

Gardent leurs propriétés de BHE, cad faible dans la métastase et forte dans le gliome.

Le traitement à beaucoup plus de difficulté à atteindre le gliome.