

Protéines kinases activées par le stress, phosphorylation de la sérine 79 de la kératine 8 et apoptose dans la réponse des hépatocytes de souris traitées à la griséofulvine

Martin Désaulniers

24054017

RÉSUMÉ

Plusieurs maladies du foie, comme l'hépatite alcoolique, sont accompagnées par la formation d'agrégats protéiques nommés Corps de Mallory (CMs). Ces CMs sont principalement constitués par les protéines de filaments intermédiaires (FIs) retrouvées dans les hépatocytes, les kératines 8 et 18 (K8/18). La formation de ces corps d'inclusions cytoplasmiques résulte généralement d'un stress comme l'exposition chronique à un agent hépatotoxique.

Des souris nourries avec une diète contenant de la griséofulvine (GF), développent dans leurs hépatocytes des CMs similaires à ceux retrouvés chez des patients humains. Ceci constitue donc un modèle idéal pour l'étude du développement des CMs *in vivo* en situation de stress toxique. Des études précédentes ont montré que l'intoxication à la GF mène à des modifications de l'expression, de l'organisation et de la phosphorylation des K8/18.

Des études ont proposé que la phosphorylation des kératines serait impliquée dans la réorganisation du réseau de FIs ainsi que dans la formation des CMs dans les hépatocytes. Le site de phosphorylation le plus phosphorylé lors du développement des CMs chez l'homme est la sérine 73 de la K8 (K8 Ser73). Son équivalent chez la souris est la K8 Ser79. Il a été démontré, chez des cultures cellulaires, que la K8 Ser73 peut être phosphorylée par les MAPKs p38 et JNK chez des cellules HT-29 (carcinomes de colon humain).

Le premier objectif de cette étude était de caractériser l'implication de p38 et JNK dans la phosphorylation de la K8 Ser79 pendant la réponse des hépatocytes de souris au stress induit par le traitement à la GF *in vivo*. Le deuxième objectif de ce projet de recherche était de définir les relations entre la phosphorylation de la K8 Ser79, l'apoptose et l'activité des kinases p38 et JNK.

Ces objectifs ont été réalisés à l'aide des techniques d'électrophorèse SDS-PAGE, d'immunoprécipitation, d'immunobuvardage de type Western, de double marquage par immunofluorescence et de la méthode de TUNEL pour la détection de cellules en apoptose.

Nos résultats ont montré que le niveau de JNK n'est pas influencé par le traitement à la GF. Cependant, l'expression de la forme active de p38 augmente suite à ce traitement. Les études d'immunoprécipitation ne nous ont pas permis d'observer une association entre les kératines et les kinases p38 et JNK. Les études d'immunofluorescences nous ont par contre révélé une colocalisation entre la K8 Ser79 phosphorylée (K8 pSer79) et p38 dans les hépatocytes en mitose. Cependant, la kinase responsable de la phosphorylation de la K8 pSer79 chez les souris traitées à la GF n'a pas été identifiée. Nous avons également démontré que des hépatocytes en apoptose sont fréquemment retrouvés au centre d'amas cellulaire contenant la K8 pSer79. Cependant, ces cellules apoptotiques ne contiennent pas de K8 pSer79, tandis que les cellules autour de celles-ci, contenant la K8 Ser73, ne sont jamais en apoptose.

L'ensemble de nos résultats nous ont mené à suggérer que les hépatocytes en apoptose, contenus dans la zone endommagée au centre des amas de cellules contenant la K8 pS79, seraient le point de départ d'un signal de transduction dirigé vers les hépatocytes entourant la zone endommagée. Ce signal aurait comme rôle d'induire un mécanisme de défense contre la mort cellulaire programmée. Nos résultats démontrent que ce mécanisme de défense est caractérisé par la phosphorylation de la K8 S79. Nos perspectives d'avenir sont d'identifier les acteurs impliqués dans ce signal de transduction et leur relation avec les K8/18 dans le foie des souris traitée à la GF.