

L'acide 4-phénylbutyrique un chaperon chimique avec un grand espoir thérapeutique des maladies conformationnelles

Auteur : **Rima Asma Lettreuch** ; maître assistante hospitalo-universitaire en chimie thérapeutique ; Université Tahri Mohamed; Service du laboratoire central Hôpital 240 Béchar ;ALGERIE
 Co-auteur: **Amjad ATHMANI***; **Khadija BELHATECHE***; **Marwa BOUALEM***
 *interne en pharmacie en 6ème année dans le cadre de la réalisation du mémoire d'obtention de titre de docteur en pharmacie

INTRODUCTION:

Les maladies conformationnelles, également connues sous le nom de maladies protéinopathies, sont un groupe de troubles caractérisés par des altérations dans la structure tridimensionnelle des protéines. Ces altérations peuvent entraîner une dysfonction cellulaire et tissulaire, conduisant à diverses pathologies. Ces maladies sont souvent associées à la formation de **dépôts anormaux** de protéines dans les tissus, ce qui peut entraîner des dommages progressifs et des symptômes cliniques variés. L'une des caractéristiques clés des maladies conformationnelles est la formation de protéines mal repliées, qui peuvent perdre leur fonction normale et acquérir des propriétés toxiques. Ces protéines anormales peuvent s'agréger pour former des agrégats insolubles, perturbant ainsi les processus cellulaires normaux et entraînant des **dysfonctionnements tissulaires**. Un exemple bien connu de maladie conformationnelle est la maladie d'Alzheimer, où des protéines telles que la bêta-amyloïde et la protéine tau subissent une conformation anormale et forment des plaques et des enchevêtrements neurofibrillaires dans le cerveau, contribuant ainsi à la neurodégénérescence observée dans cette maladie. D'autres exemples de maladies conformationnelles comprennent la maladie de Parkinson, la maladie de Creutzfeldt-Jakob, la maladie de Huntington et les amyloïdoses, entre autres.

Objectifs:

Dans ce travail, nous avons étudié le pouvoir chaperon de la molécule d'**acide 4-phénylbutyrique**, dans le but de proposer un mécanisme d'action de ce dernier comme traitement des maladies conformationnelles.



Etude bibliographique



I- Le mécanisme physiopathologique des maladies conformationnelles:

Les maladies conformationnelles, sont caractérisées par des anomalies dans la structure tridimensionnelle des protéines, ce qui entraîne souvent leur agrégation et leur accumulation anormales dans les tissus. Le mécanisme physiopathologique de ces maladies implique généralement plusieurs étapes :

- 1. Modification de la structure protéique :** Dans ces maladies, les protéines subissent souvent des modifications post-traductionnelles ou des mutations génétiques qui altèrent leur structure tridimensionnelle normale. Cette modification peut rendre les protéines plus susceptibles de se replier de manière incorrecte ou de s'agréger.
- 2. Formation d'agrégats protéiques :** Les protéines modifiées ont tendance à s'agréger pour former des agrégats, souvent sous forme de fibrilles ou de plaques. Ces agrégats peuvent perturber la fonction normale des cellules et provoquer des dommages cellulaires et tissulaires.
- 3. Toxicité des agrégats :** Les agrégats protéiques peuvent être toxiques pour les cellules. Ils peuvent perturber les voies cellulaires normales, interférer avec le trafic intracellulaire, provoquer le dysfonctionnement des organites cellulaires tels que les mitochondries et induire une réponse inflammatoire.
- 4. Propagation des agrégats :** Dans certaines maladies conformationnelles, tels que la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer, les agrégats protéiques peuvent se propager dans le cerveau, passant d'une région à une autre et contribuant à la progression de la maladie.
- 5. Réponse inflammatoire et dégénérescence cellulaire :** L'accumulation d'agrégats protéiques peut déclencher une réponse inflammatoire dans les tissus affectés. Cette inflammation chronique peut contribuer à la dégénérescence cellulaire et tissulaire observée dans ces maladies.
- 6. Symptômes cliniques :** Les dommages cellulaires et tissulaires causés par l'agrégation de protéines peuvent se manifester par une gamme de symptômes cliniques, tels que des problèmes cognitifs dans le cas de la maladie d'Alzheimer, ou des troubles moteurs dans le cas de la maladie de Parkinson.

II- Les chaperons thérapeutiques:

Les chaperons thérapeutiques sont des molécules conçues pour aider les protéines à maintenir leur structure tridimensionnelle correcte ou à retrouver leur conformation normale. Ils agissent en facilitant le repliement des protéines, en empêchant leur agrégation ou en favorisant leur dégradation. Ces agents peuvent avoir un potentiel thérapeutique dans le traitement des maladies conformationnelles, telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la maladie de Huntington et les amyloïdoses. Voici quelques mécanismes d'action des chaperons thérapeutiques :

- 1. Facilitation du repliement protéique :** Certains chaperons thérapeutiques agissent en stabilisant les protéines nouvellement synthétisées ou partiellement repliées, les aidant ainsi à atteindre leur conformation tridimensionnelle correcte.
- 2. Prévention de l'agrégation protéique :** Certains chaperons peuvent lier les protéines partiellement repliées ou dénaturées, empêchant ainsi leur agrégation et la formation de structures amyloïdes ou d'autres agrégats toxiques.
- 3. Favorisation de la dégradation protéique :** Certains chaperons thérapeutiques peuvent cibler les protéines anormales ou agrégées pour les transporter vers les systèmes de dégradation cellulaire, tels que le protéasome ou l'autophagosome, favorisant ainsi leur élimination.
- 4. Stimulation de la réponse au stress cellulaire :** Certains chaperons peuvent activer les voies de réponse au stress cellulaire, telles que le facteur de transcription HSF1 (Heat Shock Factor 1), qui induit l'expression de chaperons endogènes et de protéines de dégradation, renforçant ainsi la capacité de la cellule à gérer les protéines mal repliées ou agrégées.

Les chaperons thérapeutiques peuvent être de petites molécules, des peptides ou même des protéines elles-mêmes. Ils représentent une approche prometteuse pour le traitement des maladies conformationnelles en ciblant directement les protéines anormales responsables de ces affections, et ils sont actuellement à l'étude dans le cadre de la recherche médicale pour de nombreuses conditions neurodégénératives et autres maladies liées à des protéines mal repliées.

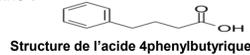


Etude pratique



Dans ce travail, nous avons étudié la molécule d'acide 4-phénylbutyrique (4PBA) en évaluant son potentiel chaperon par la méthode de docking moléculaire:

I- Présentation de la molécule : Le 4-phénylbutyrate (4-PBA) ou l'acide 4-phénylbutyrique est un sel d'un acide gras aromatique retrouvé naturellement chez les humains. Il possède des propriétés de chaperon chimique, d'inhibiteur d'histone déacétylase et d'éliminateur de l'urée, car il est impliqué dans une voie métabolique où son oxydation le transforme en phénylacétate, composé qui se conjugue par la suite avec la glutamine devenant le phénylacétylglutamine.



II- Le Docking (ou "amarrage moléculaire") est une approche numérique de modélisation moléculaire. Elle cherche à identifier la meilleure orientation entre deux molécules sur la base de leurs coordonnées dans des états pris séparément pour avoir le complexe le plus stable.

Le principe du Docking repose sur 3 étapes :

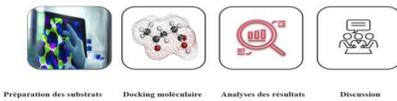
1. Représentation des systèmes moléculaires
2. Etablissement d'un algorithme de recherche des interactions
3. Etablissement d'une fonction permettant d'évaluer l'interaction entre les partenaires.

III- matériels et méthodes

1- Matériels: des outils informatiques ont été utilisés afin de prédire le pouvoir chaperon de notre molécule le 4PBA à savoir:

- Des logiciels et des serveurs: MGL Tools; Open Babel; Autodock; Swiss ADME; Discovery studio
- bases de données: La Protein Data Bank (PDB) et Pub Chem

2- Methode: Une étude par docking moléculaire (blind docking) a été réalisée, dont les étapes sont résumées dans le schéma suivant :



1- Etapes du Docking moléculaire

Le tableau suivant représente les maladies choisies dans notre travail avec la protéine déficiente de chacune suivie par son code pdb

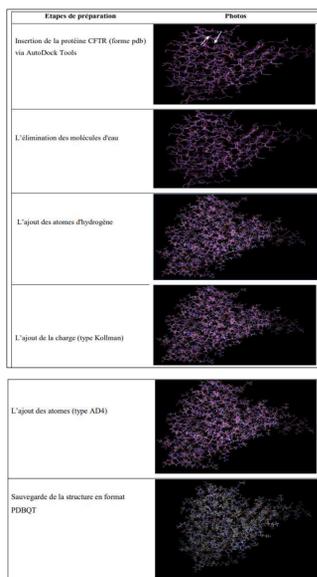
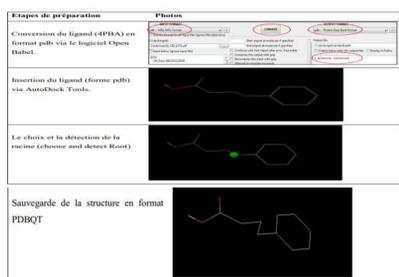
La maladie	Protéine déficiente	Code pdb
Mucoviscidose	CFTR humain	4wz6
Diabète insipide	Aquaporine 2 humain	4nef
Parkinson	Parkine	4k95
Alzheimer	Beta Amyloïde	1hz3
Sclérose latérale amyotrophique	Protéine humaine de la myéline P2	5n4m

1- Préparations des protéines (exemple de CFTR)

On a respecté les mêmes étapes de préparation des autres quatre protéines choisies

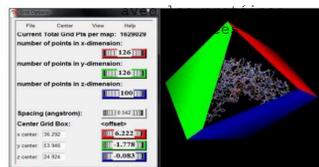
2- Préparation du ligand via AutoDock Tools (4-PBA)

L'objectif est d'optimiser la structure de notre ligand afin d'assurer une meilleure liaison

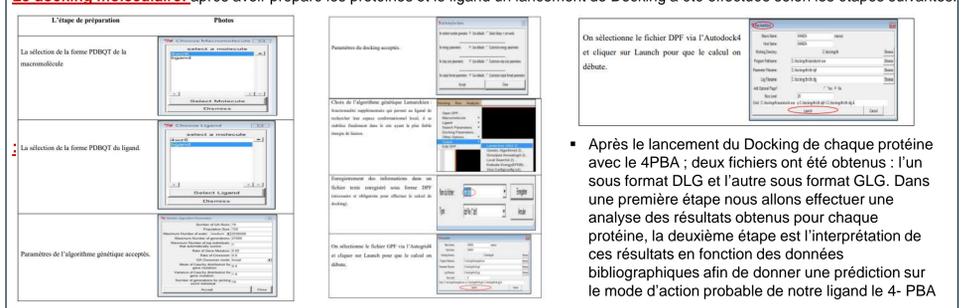


3- le grid box: on a fait un Docking aveugle ; le grid box est définie d'une façon à contenir la protéine totale

Les dimensions de la box ont été choisies d'une façon à contenir la totalité de la protéine vue que le site de fixation n'était pas connu



Le docking moléculaire: après avoir préparé les protéines et le ligand un lancement de Docking a été effectuée selon les étapes suivantes:

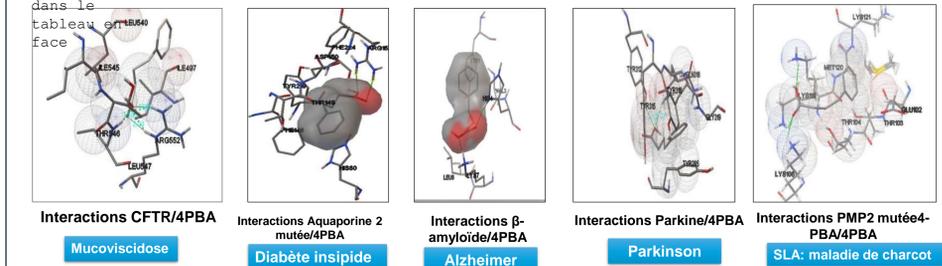


- Après le lancement du Docking de chaque protéine avec le 4PBA ; deux fichiers ont été obtenus : l'un sous format DLG et l'autre sous format GLG. Dans une première étape nous allons effectuer une analyse des résultats obtenus pour chaque protéine, la deuxième étape est l'interprétation de ces résultats en fonction des données bibliographiques afin de donner une prédiction sur le mode d'action probable de notre ligand le 4- PBA

2- Analyse des résultats

I- Energies d'interaction des complexes et les acides aminés impliqués dans chaque site actif

La protéine	N° du site	Energie	AA
PMP2	02	-7.03	LYS106,LYS119
Parkine	07	-5.76	TYR312,GLN316
CFTR	06	-5.31	LEU547,ARG552
β-amyloïde	07	-5.08	HIS4,LYZ7
Aquaporine2	04	-4.45	ARG152



3- Discussion

Les résultats obtenus par le Docking moléculaire (Blind Docking) qu'on a réalisé ont montré que le ligand 4-PBA a des interactions avec les résidus des protéines (CFTR, PMP2, Parkine, β-amyloïde et l'Aquaporine2). Cela démontre l'existence d'une affinité entre ces deux molécules; voici une comparaison avec des données bibliographiques:

Mucoviscidose

➢ D'après **Zeitlin et al. 2002** : Le 4-PBA a été utilisé comme chaperon chimique dans le contexte de la fibrose kystique. Lors de cette étude, le rétablissement du trafic de la protéine responsable de la maladie (CFTR), contenant la mutation ΔF508 a été constaté à la fois in vitro et in vivo après l'ajout du 4-PBA. Ce rétablissement du trafic serait associé avec des changements des chaperons résidant dans le réticulum endoplasmique (**Singh et al. 2008**).

➢ Dans l'étude de **Rubenstein et Zeitlin 2000** visant à déterminer le mécanisme d'action du 4-PBA, les complexes entre CFTR et Hsc70 mènent à la dégradation de la protéine CFTR mutée. Après le traitement par le 4-PBA, le nombre de complexes observé a diminué. Cela signifie qu'un plus grand nombre de protéines CFTR mutées atteint la surface cellulaire en échappant à une interaction avec la chaperonne Hsc70.

DIN

➢ L'objectif de cette étude était d'élucider le rôle du stress du RE dans le diabète insipide néphrogénique (NDI) induit par le lithium et d'examiner si l'atténuation du stress du RE par 4-PBA améliore le défaut de concentration urinaire chez les rats traités au lithium. Le traitement au lithium a entraîné une augmentation du débit urinaire et une diminution de l'osmolalité urinaire, ce qui a été amélioré de manière significative par la 4-PBA.

➢ La 4-PBA a atténué l'expression des marqueurs de stress du RE et a rétabli sa morphologie, amélioré le défaut de concentration urinaire et augmenté l'expression de l'AQP2 (**Peili Zheng 1, Yu Lin 1, Feifei Wang 1, Renfei Luo 1, Tiesheng Zhang 1, Shan Hu 1, Piming Feng 2, Xinting Liang 3, Chunling Li 1, Weidong Wang 4**).

Alzheimer

D'après **M. Cuadrado-Tejedor, A. Garcia-Osta, A. Ricobaraza, J. Oyarzabal et R. Franco** :

➢ La capacité du PBA à atténuer le stress RE neuronal fond de ce composé un candidat médicament pour le traitement de la MA. Une analyse plus détaillée de la pathologie amyloïde chez des animaux âgés traités pendant 5 semaines avec le PBA a révélé une réduction marquée de l'amyloïde intra neuronal, ce qui suggère l'élimination de l'Aβ accumulé au niveau intra neuronal, provoqué par un traitement chronique à l'ABP, peut prévenir la formation des plaques amyloïdes.

➢ Des résultats similaires ont été rapportés chez des souris transgéniques APP/PS1, où un traitement sous l'ABP pendant 14 mois a réduit les plaques amyloïdes et inversé les déficits cognitifs.

➢ Dans l'ensemble, les données provenant d'essais sur cellules vivantes in vitro et d'essais biochimiques et comportementaux in vivo appuient l'hypothèse selon laquelle le 4-PBA favorise/restaure le trafic de l'APP.

Parkinson

➢ La pré-administration du 4-PBA a empêché l'activation de la caspase-12, l'expression de GRP78 et toutes les mesures neurodégénératives.

➢ L'administration de 4-PBA a atténué l'expression normale de Pael-R (récepteur endothélial liés à la parkine) et inhibé l'induction du stress ER et la mort subséquente des cellules neuronales. De même, une autre étude a montré que le 4-PBA était capable de moduler les niveaux de Pael-R tout en inhibant le stress ER et l'apoptose in vitro (**Kaneko, 2012**).

➢ Des preuves récentes suggèrent que le 4-PBA a protégé une lignée cellulaire de neuroblastome contre l'activation de l'UPR et la mort cellulaire induite par la tunicamycine (**Zambride et al, 2013**) et le peroxyde d'hydrogène (**Ye et al, 2014**).

SLA

➢ Récemment, La thérapie combinée de 4-PBA et de taurursodiol a donné des résultats positifs lors d'une clinique pour la SLA (**Paganoni et al. 2020**). Ils ont montré que le 4-PBA peut restaurer la localisation dans 25 des 64 des mutations faux-sens responsables de la maladie. Il peut donc réparer les dommages à plusieurs protéines mutées.

➢ Dans une autre étude, ils ont décrit le développement de nouveaux dérivés du 4-PBA évalués dans un modèle de drosophile SLA exprimant l'expansion de la répétition C9orf72, causant la dégénérescence des yeux. Ces derniers ciblent le lysosome et le RE. Ils ont amélioré la dégénérescence oculaire en bloquant la neurodégénérescence de la rétine à différents niveaux d'efficacité.

➢ Ainsi, le PBA peut supprimer les agrégats de protéines non repliées et la neurotoxicité induite par le stress oxydatif. Il a la capacité d'atténuer la cytotoxicité neuronale dans les lignées cellulaires du modèle mutant en réduisant la neurotoxicité et en améliorant les symptômes de la SLA.

Conclusion

L'existence des interactions entre le 4-PBA et les protéines impliquées dans les maladies conformationnelles étudiées au cours de ce travail a été clairement établie. Les résultats obtenus fournissent une évaluation significative des chances pour le chaperon proposé de devenir une nouvelle approche thérapeutique. Il pourrait jouer un rôle thérapeutique majeur dans ces maladies encore incurables à ce jour. Nous espérons que nos résultats contribueront à reconnaître l'importance du 4-PBA dans le traitement des maladies conformationnelles et que notre étude sera prise en considération dans les futures recherches.

❖ Références bibliographiques: parmi les references utilisées pour la réalisation de ce travail on site les suivants

- Bulletin trimestriel. Déformations et inadaptations: mauvais repliement des protéines et maladies. Traduction par R. Montaigne d'un article paru dans le numéro du 18 mai 1998 de Chemistry & Industry
- Rajan, Tsunoto, Tokunaga, Kita, Y, Arawaka, T. "Chaperons chimiques et pharmacologiques: Application pour la production de protéines recombinantes et les maladies de pliage de protéines". 2011
- christiane menard, bernard moulicq. Chaperons pharmacologiques Un espoir thérapeutique pour les pathologies conformationnelles. 15/06/2010
- SAYEH MEDDOUR Imène, BENMAGHSOULA Yacine. Modélisation moléculaire et docking moléculaire de l'inhibiteur double cox/lox.2020
- Morello JP, Salahpour A, Laperrière A, et al. Pharmacological chaperone rescue cell-surface expression and function of misfolded V2 vasopressin receptor mutants. J Clin Invest 2000.
- Robben JH, Sze M, Koers NV, Deen PM. Functional rescue of vasopressin V2 receptor mutants in MDCK cells by pharmacochaperones : relevance to therapy of nephrogenic diabetes insipidus. Am J Physiol Renal Physiol 2007 ;
- Benieix V, Morello JP, Zarruk A, et al. Pharmacologic chaperones as a potential treatment for Xlinked nephrogenic diabetes insipidus. J Am Soc Nephrol 2006