



HAL
open science

Epigenetic mechanisms and alcohol use disorders: a potential therapeutic target

Rémi Legastelois, Jérôme Jeanblanc, Catherine Vilpoux, Erika Bourguet,
Mickaël Naassila

► **To cite this version:**

Rémi Legastelois, Jérôme Jeanblanc, Catherine Vilpoux, Erika Bourguet, Mickaël Naassila. Epigenetic mechanisms and alcohol use disorders: a potential therapeutic target. *Biologie Aujourd'hui*, 2017, 211 (1), pp.83 - 91. 10.1051/jbio/2017014 . hal-01929543

HAL Id: hal-01929543

<https://hal.science/hal-01929543v1>

Submitted on 3 Apr 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Mécanismes épigénétiques et troubles de l'usage d'alcool : une cible thérapeutique intéressante ?

Rémi Legastelois¹, Jérôme Jeanblanc¹, Catherine Vilpoux¹, Erika Bourguet² et Mickael Naassila¹

¹ INSERM ERI 24 Groupe de Recherche sur l'Alcool et les Pharmacodépendances (GRAP) –
Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France

² ICMR Reims

Auteur correspondant : Mickael Naassila, mickael.naassila@inserm.fr

Reçu le 12 mars 2017

Résumé – L'épigénétique est un nouveau champ de recherche qui a détrôné la génétique et qui a fait l'objet ces deux dernières décennies d'intenses recherches dans le monde des addictions. L'épigénétique permet de mieux comprendre comment les drogues peuvent modifier à très long terme le fonctionnement cérébral en régulant l'expression de nos gènes. Avec les épidrogués, l'épigénétique propose aussi une piste thérapeutique intéressante dans les troubles de l'usage d'alcool.

Mots clés : Addiction à l'alcool / épigénétique / histones désacétylases / épidrogués / rechute

Abstract – Epigenetic mechanisms and alcohol use disorders: a potential therapeutic target.

Alcohol use disorder is a devastating illness with a profound health impact, and its development is dependent on both genetic and environmental factors. This disease occurs over time and requires changes in brain gene expression. There is converging evidence suggesting that the epigenetic processes may play a role in the alcohol-induced gene regulations and behavior such as the intervention of DNA methylation and histone acetylation. Histone acetylation, like histone methylation, is a highly dynamic process regulated by two classes of enzymes: histone acetyltransferases and histone deacetylases (HDACs). To date, 18 human HDAC isoforms have been characterized, and based on their sequence homologies and cofactor dependencies, they have been phylogenetically categorized into 4 main classes: classes I, II (a and b), III, and IV. In the brain, expression of the different classes of HDACs varies between cell types and also in their subcellular localization (nucleus and/or cytosol). Furthermore, we recently showed that a single ethanol exposure inhibits HDAC activity and increases both H3 and H4 histone acetylation within the amygdala of rats. In the brain of alcoholic patients, ethanol has been shown to induce histone-related and DNA methylation epigenetic changes in several reward regions involved in reward processes such as hippocampus, prefrontal cortex, and amygdala. We recently demonstrated alteration of histone H3 acetylation levels in several brain regions from the reward circuit of rats made dependent to alcohol after chronic and intermittent exposure to ethanol vapor. In neuronal cell line culture, ethanol was shown to induce HDAC expression. In mouse and rat brain, numerous studies reported epigenetic alterations following ethanol exposure. We also demonstrated that both the expression of genes and the activity of enzymes involved in epigenetic mechanisms are changed after repeated administrations of ethanol in mice sensitized to the motor stimulant effect of ethanol (a model of drug-induced neuroplasticity). Numerous studies have shown that HDAC inhibitors are able to counter ethanol-induced behaviors and the ethanol-induced changes in the levels of HDAC and/or levels of acetylated HDAC. For example, trichostatin A (TSA) treatment caused the reversal of ethanol-induced tolerance, anxiety, and ethanol drinking by inhibiting HDAC activity, thereby increasing histone acetylation in the amygdala of rats.

Another study demonstrated that TSA prevented the development of ethanol withdrawal induced anxiety in rats by rescuing deficits in histone acetylation induced by increased HDAC activity in the amygdala. We have demonstrated that treatment with the HDAC inhibitor sodium butyrate blocks both the development and the expression of ethanol-induced behavioral sensitization in mice. In this context, converging evidence indicates that HDAC inhibitors could be useful in counteracting ethanol-induced gene regulations via epigenetic mechanisms, that is, HDAC inhibitors could affect different acetylation sites and may also alter the expression of different genes that could in turn counteract the effect of ethanol. Recent work in rodents has shown that systemic administration of pan HDAC class I and II inhibitors, TSA and N-hydroxy-N-phenyl-octanediamide [SuberoylAnilide Hydroxamic Acid] (SAHA), and of the more selective inhibitor (mainly HDAC1 and HDAC9) MS-275, decrease binge-like alcohol drinking in mice. SAHA selectively reduced ethanol operant self-administration and seeking in rats. Our previous study revealed that MS-275 strongly decreased operant ethanol self-administration in alcohol-dependent rats when administered 30 minutes before the session at the second day of injection. We also demonstrated that intracerebro-ventricular infusion of MS-275 increases acetylation of Histone 4 within the nucleus accumbens and the dorsolateral striatum, associated to a decrease in ethanol self-administration by about 75%. MS-275 also diminished both the motivation to consume ethanol (25% decrease), relapse (by about 50%) and postponed reacquisition after abstinence. Both literature and several of our studies strongly support the potential therapeutic interest of targeting epigenetic mechanisms in excessive alcohol drinking and strengthen the interest of focusing on specific isoforms of histone deacetylases.

Key words: Alcohol addiction / epigenetics / histone deacetylases / epidrugs / relapse

Abréviations

| | |
|---------|------------------------------------|
| AVP : | acide valproïque |
| CBP : | <i>CREB Binding Protein</i> |
| DNMT : | DNA MéthylTransférase |
| HAT : | Histone AcétylTransférase |
| HDAC : | Histone DéACÉtylase |
| iHDAC : | inhibiteur HDAC |
| NaB : | butyrate de sodium |
| NPY : | NeuroPeptide Y |
| PB : | PhénylButyrate |
| PPC : | Préférence de Place Conditionnée |
| SAHA : | acide hydroxamique subéroylanilide |
| SIRT : | SIRTuine |
| TSA : | TrichoStatine A |
| HDAC : | Histone DéACÉtylase |

L'alcool est une drogue qui provoque une addiction caractérisée par la perte de contrôle de la consommation et une persistance de la consommation en dépit des nombreux dommages qu'elle provoque (sanitaire, relationnel et social). L'alcool est responsable directement et indirectement de 200 maladies et constitue la première cause d'hospitalisation en France (Paille & Reynaud, 2015). L'alcool est responsable de 49 000 morts par an et le coût global (sanitaire, social, productivité, justice, etc.) est estimé à 120 milliards d'euros par an (Kopp, 2015). L'addic-

tion à l'alcool est une maladie chronique et hautement récidivante : malgré les thérapies existantes, 70 % des patients rechutent dans les 12 mois. Le développement de la maladie dépend de l'interaction complexe de facteurs génétiques et environnementaux. S'ils jouent un rôle prépondérant – ils pèsent pour 40 à 60 % dans le risque de développer l'addiction, les gènes n'expliquent pas tout et on sait maintenant que l'environnement – dont les drogues font partie – peut modifier l'expression génique et donc modifier le fonctionnement cellulaire, le phénotype de l'individu et son comportement. Les mécanismes neurobiologiques impliqués dans la perte de contrôle sur la consommation d'alcool et dans les rechutes sont encore mal connus et les effets durables de l'exposition chronique à l'alcool nécessitent l'apparition de neuroadaptations. Ces dernières comprennent des modifications persistantes de l'expression de certains gènes qui pourraient s'expliquer par des modifications épigénétiques de remodelage de la chromatine, c'est-à-dire des modifications chimiques directement au niveau de l'ADN (méthylation) ou des protéines histones (méthylation, acétylation, phosphorylation), sans modifier la séquence d'ADN.

Introduction à l'épigénétique

Le phénotype est le fruit d'interactions continues entre les gènes et l'environnement. Certains signaux

intracellulaires régulés par l'environnement, comme les facteurs de transcription, contrôlent l'expression génique. Les interactions physiques entre ces facteurs de transcription et les séquences d'ADN sont trop dynamiques pour expliquer comment les signaux extracellulaires sont capables d'induire des modifications à long terme de l'expression génique et des fonctions cellulaires. Ceci est particulièrement important au niveau cérébral, où les altérations fonctionnelles persistantes des neurones sont essentielles à certaines fonctions comme la mémoire. La faculté d'organiser de telles adaptations à l'environnement dépend de la capacité des neurones à adapter de façon dynamique la structure et les fonctions génomiques. Les mécanismes épigénétiques induisent des modifications stables et héréditaires de l'expression des gènes ne résultant pas de modifications de la séquence de l'ADN. L'épigénétique englobe divers mécanismes comme la méthylation de l'ADN ou les modifications des histones par acétylation, méthylation ou phosphorylation. Certains de ces mécanismes épigénétiques, comme la méthylation de l'ADN par les DNA méthyltransférases (DNMT), induisent des modifications très stables, tandis que d'autres modifications, comme l'acétylation des histones par les histones acétyltransférases (HAT), seraient plus labiles et moduleraient l'expression des gènes sur des périodes de temps plus courtes. Ces modifications ou marques épigénétiques modulent la transcription génique et sont essentielles dans le phénomène de plasticité neuronale. Ainsi, les mécanismes épigénétiques permettent d'expliquer les changements d'activité transcriptionnelle associés à la différenciation cellulaire, l'apprentissage et la mémoire, la neuro-dégénération liée à l'âge, le stress chronique, la nutrition et l'exposition répétée aux toxiques environnementaux et aux drogues.

Drogue et épigénétique

Il est démontré que l'exposition aiguë ou chronique à une drogue induit des modifications de l'expression génique (Renthal & Nestler, 2009). Cependant, les mécanismes par lesquels les voies de signalisation activées par les drogues aboutissent à ces modifications transcriptionnelles sont encore mal connus. Il s'avère que certains de ces mécanismes sont épigénétiques et participent au remodelage de la chromatine (principalement par acétylation, méthylation ou phosphorylation des histones) ou à la modification de l'ADN (méthylation directe de l'ADN). En effet, de récentes études ont mis en évidence que l'administration de drogue produit des adaptations d'ordre épigénétique chez l'animal comme chez l'humain. Ces marques épigénétiques induites par les drogues contribuent directement à des modifications comportementales. Ces

découvertes ont ouvert un nouveau champ d'investigation dans le domaine de l'addiction et fourni un aperçu des actions des drogues au niveau nucléosomal en relation avec l'expression génique et les conséquences physiopathologiques.

Mécanisme d'acétylation/désacétylation des histones

À l'heure actuelle, de tous les mécanismes épigénétiques étudiés dans l'addiction, l'acétylation/désacétylation des histones est le plus étudié. De nombreux travaux ont mis en évidence un rôle crucial de cette balance dans divers modèles animaux de l'addiction (Renthal & Nestler, 2009). Dans la cellule au repos, l'ADN est sous forme compactée, empêchant de ce fait la fixation des facteurs de transcription et la transcription génique. Durant l'activation de la cellule, l'ADN se décompacte afin de permettre aux facteurs de transcription de s'y lier, permettant ainsi l'induction de la transcription des gènes. L'ADN est condensé dans la chromatine, un complexe ADN/protéines hautement organisé et très dynamique. La sous-unité fondamentale de la chromatine, le nucléosome, est composé d'un octamère de 4 histones différentes, un tétramère H3-H4 et deux dimères H2A-H2B, autour desquels s'enroulent 146 paires de bases d'ADN (Fig. 1).

Les histones peuvent être modifiées suivant plusieurs mécanismes dont l'acétylation, la méthylation et la phosphorylation. L'acétylation des histones semble être l'un des mécanismes épigénétiques les plus dynamiques. Elle a majoritairement lieu au niveau des lysines situées sur la partie N-terminale des histones. Les histones H3 possèdent 5 sites d'acétylation, les histones H4 et H2B en possèdent 4 et les histones H2A n'en possèdent qu'un. L'acétylation de ces sites apporte une charge négative qui neutralise la charge positive de la lysine (acide aminé basique) et qui réduit ainsi l'interaction entre la partie N-terminale de l'histone et les groupements phosphates négatifs de l'ADN. En conséquence, la chromatine adopte une conformation plus relâchée qui permet la liaison des facteurs de transcription à l'ADN et donc la transcription des gènes à proximité. On parle alors d'euchromatine. À l'inverse, la désacétylation renforce les interactions entre les histones et l'ADN. Cette chromatine condensée, ou hétérochromatine, ne permet alors plus la transcription des gènes.

Les histones sont acétylées par les histones acétyltransférases (HAT) et désacétylées par les histones désacétylases (HDAC) (Fig. 2). À ce jour, chez l'homme, 18 enzymes HDAC ont été identifiées et réparties en 4 classes : la classe I (HDAC1, 2, 3 et 8), la

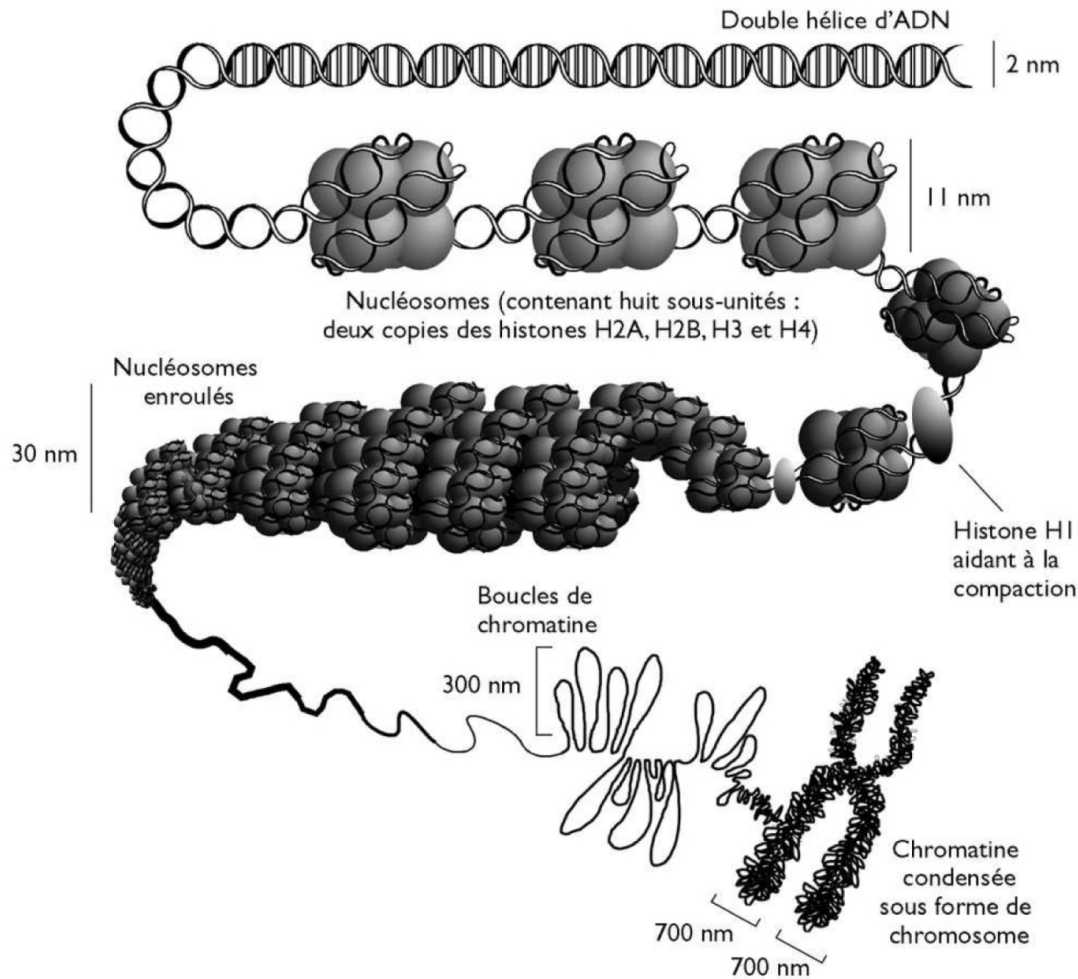


Fig. 1. Du gène au chromosome : la condensation de l'ADN et le rôle du nucléosome.

classe IIa (HDAC4, 5, 7 et 9), la classe IIb (HDAC6 et 10), la classe III (SIRT1-7) et la classe IV (HDAC11). Les HDAC 1, 2, 9 et 11 sont essentiellement localisées dans le noyau, l'HDAC6 est cytoplasmique, tandis que les HDAC 3, 4, 5, 7 transitent entre le noyau et le cytoplasme à l'aide de protéines de transport comme la protéine 14-3-3. Les HDAC des classes I et II sont zinc-dépendantes. Les HDAC8 et 10 sont les moins bien caractérisées des classes I et II. Les HDAC de la classe III, ou sirtuines, sont NAD (Nicotinamide Adénine Dinucléotide)-dépendantes et peuvent être nucléaires (SIRT1, 6 et 7), mitochondriales (SIRT3, 4 et 5) ou cytoplasmiques (SIRT2). Ces enzymes sont structurellement et fonctionnellement différentes. Elles ont été découvertes plus récemment et ne sont pas encore bien caractérisées. L'HDAC11 (classe IV) partage les caractéristiques des classes I et II et reste relativement peu connue. Une étude très intéressante s'est attelée à la cartographie des HDAC dans plus de 50 structures cérébrales différentes de rat (Broide *et al.*, 2007).

Ces travaux ont montré que l'on retrouve la majorité des HDAC des classes I, II et III dans le circuit de la récompense (cortex frontal, amygdale, hippocampe, aire tegmentale ventrale et nucleus accumbens) qui joue un rôle majeur dans l'addiction. Concernant les HAT, moins étudiées que les HDAC, il faut savoir qu'il en existe 17 familles et que certaines des HAT les plus importantes sont la *CREB Binding Protein* (CBP) structurellement très proche de la p300, la *CLOCK*, et les *SRC1* à 3.

Les premières protéines dont on a découvert qu'elles pouvaient être acétylées par ces enzymes sont les histones. C'est pourquoi les enzymes responsables de ces acétylations et désacétylations portent respectivement les noms d'histone acétyltransférase et d'histone désacétylase. Cependant, des analyses ont indiqué que l'évolution des HDAC précédait celle des histones, suggérant que les substrats originels des HDAC n'étaient pas les histones. En effet, elles ne sont pas les seules protéines à pouvoir être acétylées par

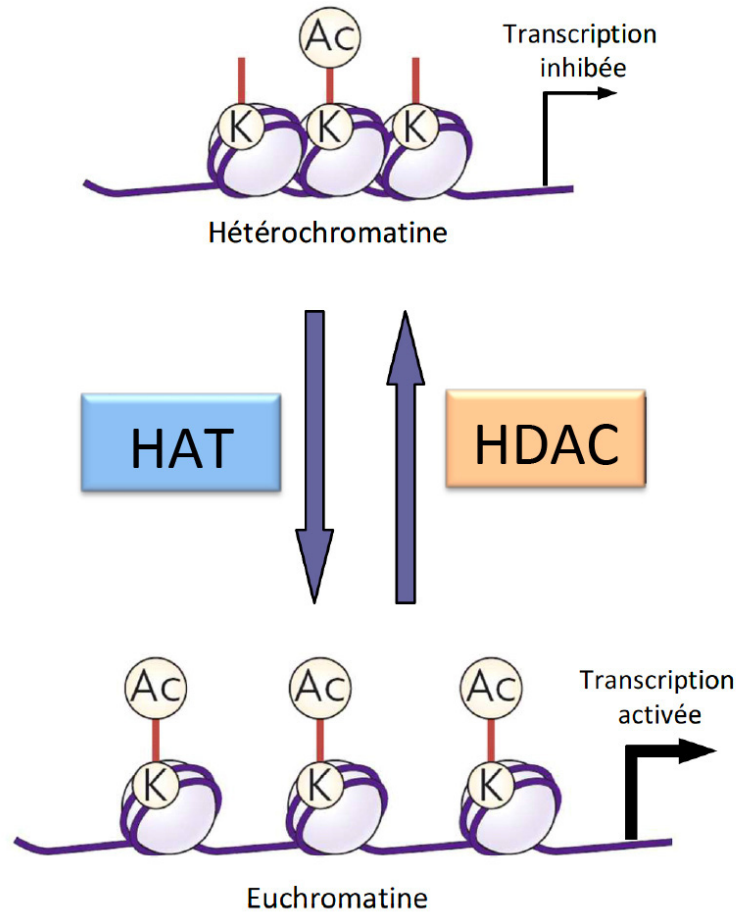


Fig. 2. Balance acétylation/désacétylation des histones (d'après Kazantsev & Thompson, 2008). Quand elle est dans un état désacétylé, la chromatine est condensée (hétérochromatine), inhibant ainsi la transcription de l'ADN. Les histones acétyltransférases (HAT) acétylent les histones, ce qui entraîne une décondensation de la chromatine (euchromatine), permettant la transcription génique. Les histones désacétylases (HDAC), quant à elles, désacétylent les histones et recondensent l'euchromatine en hétérochromatine. (K, lysine).

ces enzymes. Il existerait plus de 50 protéines, comme des facteurs de transcription ou des protéines du cytosquelette dont l'acétylation serait régulée par les HAT et les HDAC. C'est pourquoi les HDAC sont impliquées dans des pathologies aussi variées que le cancer, l'asthme, l'arthrose, l'hépatite et certaines pathologies du système nerveux central comme l'addiction.

Les inhibiteurs HDAC

Du fait de l'implication évidente des HDAC dans de nombreuses pathologies humaines, l'étude des inhibiteurs HDAC (iHDAC) est aujourd'hui considérée comme un important champ d'investigation thérapeutique. Les iHDAC sont divisés en plusieurs classes selon leur structure : les acides carboxyliques (ou acides gras à chaîne courte), les

acides hydroxamiques, les tétrapeptides cycliques, les benzamides et les cétones. Le butyrate de sodium (NaB), premier iHDAC découvert, est un acide carboxylique dont la concentration inhibitrice 50 % (CI50) est de l'ordre du millimolaire, tout comme deux autres membres de cette classe, le phénylbutyrate (PB) et l'acide valproïque (AVP). Le NaB a une demi-vie d'environ 5 min et son injection i.p. chez la souris provoque une augmentation transitoire de l'acétylation de l'histone H3 dans l'hippocampe qui atteint un pic et revient à la normale 30 et 60 min après l'injection. Le chef de file de la classe des acides hydroxamiques, la trichostatine A (TSA), possède quant à lui une CI50 de l'ordre du nanomolaire. C'est un composé naturel initialement extrait d'une bactérie comme antibiotique fongistatique. L'acide hydroxamique subéroylanilide (SAHA), ou vorinostat, possède une structure proche de celle de la TSA et sa CI50 est

de l'ordre du micromolaire. Il est utilisé en clinique dans une indication anticancéreuse. C'est le premier iHDAC à avoir été autorisé par la *Food and Drugs Administration* (FDA). Seule la romidepsine, un autre iHDAC, a été également autorisé, et ce, dans la même indication. Cependant, il y a actuellement plus de 100 essais cliniques en cours sur l'usage d'iHDAC dans différents types de cancers. Parmi les différents iHDAC étudiés, on retrouve le NaB sous la forme d'une pro-drogue, le AN-9 (pivanex). On dénombre également quelques essais cliniques sur l'usage d'iHDAC dans d'autres pathologies comme la malaria ou le SIDA. Ces iHDAC sont cependant assez peu spécifiques. Par exemple, la TSA et le SAHA inhibent l'activité enzymatique de toutes les HDAC des classes I et II. Les acides carboxyliques, dont le NaB, inhibent les HDAC des classes I et IIa. C'est pourquoi de nombreuses équipes recherchent activement de nouveaux iHDAC spécifiques d'une classe d'HDAC, voire même d'une seule isoforme. À ce jour, il en existe assez peu, mais la découverte de nouveaux iHDAC spécifiques, en plus de servir d'outils à l'élucidation des fonctions biologiques de chaque isoforme, pourrait aussi contribuer au développement d'agents thérapeutiques ayant moins d'effets secondaires. Malgré les nombreux iHDAC existant à ce jour, le NaB et la TSA restent encore les plus utilisés dans le domaine de l'addiction. Cependant, on note une tendance à l'utilisation d'iHDAC de plus en plus sélectifs, comme le MS-275 ou la dépudécine.

Implication des HDAC dans l'addiction

Les drogues induisent de façon persistante des changements structurels et fonctionnels des circuits neuronaux menant à des altérations durables du comportement. Etant donné qu'elle est impliquée dans la persistance de l'apprentissage et de la mémoire, la modulation de l'expression génique est également connue pour contribuer au développement de l'addiction aux drogues et à son maintien à long terme (McClung & Nestler, 2008). Il est maintenant évident que les drogues sont capables de provoquer des modifications de la chromatine, modulant les profils de transcription impliqués dans les changements neuronaux et comportementaux induits par les drogues (McClung & Nestler, 2008). Les études ayant exploré la capacité des drogues à moduler le taux global d'acétylation des histones ont fourni des résultats contradictoires. Cette disparité peut être due, au moins en partie, à la diversité des conditions de traitement et des régions cérébrales analysées, voire même à l'âge des sujets. En effet, une étude a mis en évidence que des rats adolescents, contrairement aux adultes, présentent des modifications d'acétylation des histones après un

traitement à l'éthanol. De plus, des résultats opposés peuvent être observés chez un même sujet selon la structure étudiée. En effet dans cette même étude, un traitement à l'éthanol induit une augmentation de l'acétylation des histones dans le striatum ventral et une diminution dans le striatum dorsal. On peut néanmoins globalement estimer qu'une augmentation des taux d'acétylation des histones H3 et H4 dans certaines structures cérébrales spécifiques est observée comme suite à l'administration aiguë de cocaïne, d'amphétamine, ou d'éthanol. À l'opposé, l'administration chronique de drogue induirait, lors du sevrage, une diminution du taux d'acétylation global des histones.

L'interprétation de ces résultats est très délicate dans le sens où la combinaison de modifications des histones par les drogues demeure imperceptible si seuls les changements globaux sont analysés. En effet, si les variations de l'acétylation des histones régulent l'expression génique, il est concevable que ces changements n'aient pas de conséquences pour l'ensemble du génome mais s'expriment plutôt au niveau des promoteurs de certains gènes ou familles de gènes particuliers. En effet, l'expression de seulement 2 % des gènes serait sous la dépendance des enzymes HDAC. De façon intéressante, ces mêmes études montrent que l'inhibition des HDAC peut entraîner une augmentation, mais aussi une diminution de l'expression de ces gènes. C'est pourquoi des études analysant les modifications épigénétiques dues aux drogues sur l'ensemble du génome, bien que techniquement très lourdes, sont très intéressantes (Renthal & Nestler, 2009). L'administration de drogue entraîne donc des altérations de l'expression génique *via* certains mécanismes épigénétiques comme l'acétylation des histones. Ces altérations de l'expression génique participent aux modifications du comportement observées après administration de drogue. Plusieurs équipes de recherche ont donc logiquement cherché à modifier les effets comportementaux des drogues en modulant la balance acétylation/désacétylation des histones. Ainsi, l'inhibition des HDAC entraîne une potentialisation de la préférence de place conditionnée (PPC)¹ à la cocaïne, à l'héroïne et à la morphine et l'inhibition des HAT par le curcumin bloque la PPC à la cocaïne. À l'inverse, l'inhibition des HDAC des classes I et II bloque la PPC à la nicotine, l'inhibition des HDAC de classe III (sirtuines) par le sirtinol diminue la PPC à la cocaïne et un activateur de ces sirtuines, le resveratrol, la potentialise. La délétion des gènes codant pour l'HDAC 5 (mais pas 9) entraîne une potentialisation de la PPC à la

¹ La Préférence de Place Conditionnée (PPC) est un test comportemental utilisé pour étudier les effets récompensants et/ou aversifs de la drogue sur le cerveau.

cocaïne tandis que la surexpression des HDAC4 ou 5 la bloque. Ces résultats démontrent, dans la grande majorité, que l'inhibition d'une ou plusieurs HDAC (à l'exception des sirtuines) lors de la phase de conditionnement d'un protocole de PPC induit une facilitation de l'acquisition de la mémoire contextuelle. Il a également été montré que l'extinction de la PPC à la cocaïne ou à la morphine est accélérée par l'administration d'iHDAC seuls pendant cette phase. En conséquence, la réinstallation du comportement de recherche de drogue à la suite d'une période de sevrage après un protocole de PPC ou d'auto-administration est également diminuée par ces iHDAC. Les iHDAC seraient ainsi capables de potentialiser la vitesse d'apparition et la persistance du phénomène d'extinction. Cependant, l'administration d'un iHDAC avant chaque injection d'éthanol, lors d'un protocole d'injections répétées et par séquences successives d'éthanol (3 g/kg) à l'adolescence, induit une prolongation de l'extinction de l'aversion de place conditionnée et une potentialisation de la réinstallation de l'aversion pour l'éthanol. Enfin, l'inhibition des HDAC de classes I et II entraîne une augmentation et celles des classes I, II ou III une diminution de l'auto-administration de cocaïne sans modifier celle de saccharose. Ces résultats révèlent bien l'importance de l'implication de la balance acétylation/désacétylation des histones dans plusieurs aspects de l'addiction aux drogues, en particulier dans l'association entre l'environnement et la drogue, son extinction, la réinstallation du comportement de recherche de drogue, l'auto-administration et la sensibilisation comportementale aux drogues. Cependant, ces résultats demeurent, à ce jour, relativement contradictoires. Encore une fois, il se peut que ces divergences soient le fruit des différences entre les iHDAC utilisés, les drogues et les animaux étudiés ou simplement les protocoles employés. Des études supplémentaires sont, de toute évidence, nécessaires afin de mieux cerner les voies épigénétiques menant aux modifications du comportement par les drogues.

À ce jour, il existe assez peu d'études concernant l'implication des enzymes HDAC dans l'intoxication à l'éthanol. Agudelo et collaborateurs ont mis en évidence, après une exposition *in vitro* à l'éthanol de neurones humains, une augmentation de l'expression d'HDAC2 parallèlement à l'augmentation de l'expression d'espèces réactives de l'oxygène responsables du stress oxydant (Agudelo *et al.*, 2011). Ces altérations spécifiques de l'expression génique sont complètement bloquées par la TSA, mettant ainsi en évidence le rôle neuroprotecteur de cet iHDAC. Dans une autre étude, l'arrêt de l'exposition chronique à l'éthanol d'une lignée de neurones de souris provoque une augmentation de l'acétylation de H3K9 au niveau du promoteur du gène *grin2b* (gène codant pour la sous-unité GluN2B du récepteur NMDA,

fortement impliqué dans les processus addictifs) en parallèle d'une diminution de la méthylation sur ce même résidu. Outre le lien direct entre l'exposition à l'éthanol et l'expression de *GluN2B*, cette étude montre que, plutôt qu'une modification globale de l'activité HDAC ou HAT, l'éthanol entraînerait des modifications locales au niveau de certains promoteurs particuliers. Les conséquences de l'exposition à l'éthanol *in vivo* sur l'acétylation des histones dans le cerveau sont de plus âge- et structure-spécifiques. L'administration aiguë d'éthanol 1,0 g/kg à des rats Sprague-Dawley provoque une diminution de l'activité HDAC dans l'amygdale, reliée à une augmentation de l'acétylation sur les résidus H3K9 et H4K8 dans l'amygdale centrale et médiale. Cette hyperacétylation entraînerait une augmentation de l'expression des transcrits et des taux protéiques du neuropeptide Y (NPY), un peptide anxiolytique endogène, provoquant une diminution de l'anxiété de ces animaux dans les tests de boîte noire et blanche et de labyrinthe en croix surélevé. Lors du sevrage des animaux 24 heures après consommation forcée chronique d'éthanol, les auteurs ont noté, à l'inverse, une augmentation de l'anxiété des animaux ainsi qu'une augmentation de l'activité HDAC dans l'amygdale, une diminution de l'acétylation des résidus H3K9 et H4K8 et une diminution des taux protéiques de NPY dans l'amygdale centrale et médiale. Toutes ces adaptations liées au sevrage alcoolique étant prévenue par l'injection préalable de TSA, les auteurs prouvent ainsi, pour la première fois, qu'au moins une partie des effets anxiolytiques de l'éthanol passe par des adaptations épigénétiques de type acétylation des histones (Pandey *et al.*, 2008). La tolérance rapide à l'éthanol passerait, elle aussi, par une modulation de la balance acétylation/désacétylation des histones. En effet, l'effet anxiolytique de l'éthanol observé après l'injection aiguë d'éthanol (1 g/kg) est totalement absent après une seconde injection, 24 heures plus tard, de la même dose d'éthanol. Or l'injection de TSA avant la seconde injection prévient la tolérance aux effets anxiolytiques de l'éthanol et restaure les niveaux d'activité HDAC, d'acétylation des résidus H3K9 et H4K8 et les taux d'ARN et protéiques de NPY dans l'amygdale.

Les histones désacétylases, des nouvelles cibles thérapeutiques des épidroges

Différents travaux ont montré que l'alcool module aussi l'expression génique en bloquant l'activité des HDAC. Ces modifications durables pourraient expliquer, au moins en partie, la façon dont l'alcool modifie le fonctionnement cérébral à très long terme et le fait qu'un individu puisse rechuter même après une très longue période d'abstinence. Pour y remédier, les

iHDAC, molécules déjà utilisées dans différents types de cancers, semblent très prometteuses dans le cadre des maladies psychiatriques et neurodégénératives ainsi que dans les addictions.

Le Groupe de recherche sur l'alcool et les pharmacodépendances de l'Inserm a récemment étudié le rôle des mécanismes épigénétiques dans différents modèles de troubles de l'usage d'alcool chez le rat et la souris. Le premier est un modèle de neuroplasticité : des souris sont sensibilisées aux effets stimulants moteurs de l'alcool par une administration quotidienne d'alcool, laquelle entraîne une augmentation progressive de la sensibilité aux effets hyperlocomoteurs de l'alcool qui, une fois établie, dure des semaines voire des mois grâce à la mise en place de neuroadaptations (Botia *et al.*, 2012). Dans le même modèle chez la souris, les individus vulnérables (ou prédisposés, « répondeurs ») au développement d'une sensibilisation aux effets stimulants moteurs de l'alcool développent aussi une tolérance à l'effet inhibiteur de l'alcool sur l'activité des HDAC dans le striatum, une structure cérébrale clé de l'addiction associée à des altérations des niveaux d'acétylation de l'histone H3. De manière intéressante, des différences d'expression des gènes codant des enzymes impliquées dans les mécanismes épigénétiques ont aussi été mises en évidence entre souris vulnérables et résistantes à ce phénomène de sensibilisation, dont on pense qu'il jouerait un rôle dans les étapes initiales de prise d'alcool mais aussi dans la rechute. Une autre étude a permis de démontrer qu'un agent pharmacologique inhibiteur de type iHDAC est capable de prévenir le développement de ce phénomène ou bien de le diminuer fortement une fois qu'il a été établi (Legastelois *et al.*, 2013).

Récemment, il a également été montré, grâce à d'autres modèles de consommation d'alcool, que le blocage pharmacologique des HDAC prévient l'escalade de la consommation et de la préférence envers la boisson alcoolisée (Fig. 3).

Dans un modèle d'auto-administration opérante d'alcool où les rats sont conditionnés pour consommer des quantités importantes d'alcool, le MS-275, un iHDAC plus sélectif de la classe I des HDAC, réduit la consommation excessive, la motivation à consommer et la rechute (Jeanblanc *et al.*, 2015).

Dans un autre modèle, qui vise cette fois à étudier la forte motivation des rats à travailler pour obtenir de l'alcool, une addiction à l'alcool a d'abord été induite en exposant les rongeurs de manière chronique et intermittente à des vapeurs d'alcool (Simon-O'Brien *et al.*, 2015). Après plusieurs semaines, les animaux dépendants présentaient un syndrome de sevrage à l'arrêt de l'exposition à l'alcool et étaient capables de fournir un effort considérable pour en obtenir en appuyant sur un levier. Et lorsque les rats dépendants reçoivent un traitement iHDAC, cette

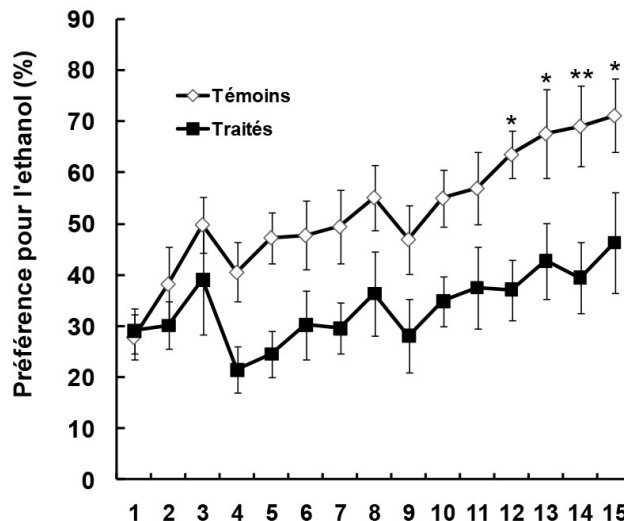


Fig. 3. Préférence pour la boisson alcoolisée (éthanol 20 %) lorsqu'elle est disponible 1 jour sur 2. Ce protocole permet de faciliter la consommation et d'induire une escalade de la consommation chez les rats témoins traités au NaCl. Cette escalade est prévenue chez les rats ayant reçu le NaB (600 mg/kg) administré 1 jour sur 2 avant la mise à disposition de la boisson alcoolisée. Préférence : volume alcool consommé / volume total de fluide consommé ; et en abscisse : jours où l'alcool est disponible.

motivation excessive à consommer de l'alcool peut être complètement bloquée (Fig. 4).

Chez les animaux dépendants, des modifications du niveau d'acétylation des histones dans des structures cérébrales clés de l'addiction ont également été observées, modifications qui peuvent être aussi bloquées par un traitement iHDAC.

L'ensemble de ces données démontre que l'exposition prolongée à l'alcool modifie l'expression de gènes impliqués dans les mécanismes épigénétiques ainsi que le niveau d'acétylation des histones. Ces effets pourraient jouer un rôle dans la vulnérabilité à l'addiction à l'alcool. Ces résultats ouvrent aussi des perspectives thérapeutiques intéressantes puisque des iHDAC sont capables de bloquer la perte de contrôle sur la consommation d'alcool et de réduire ainsi la consommation excessive des individus dépendants. Il reste maintenant à déterminer la ou les HDAC plus particulièrement impliquée(s) dans l'addiction à l'alcool, car seuls des inhibiteurs non sélectifs des différentes classes de HDAC ont été utilisés jusqu'à présent. Il faudrait également identifier, en aval de ce traitement, les gènes dont l'expression est modifiée par l'inhibition des HDAC qui jouent un rôle dans cet effet bénéfique sur la perte de contrôle de la consommation d'alcool.

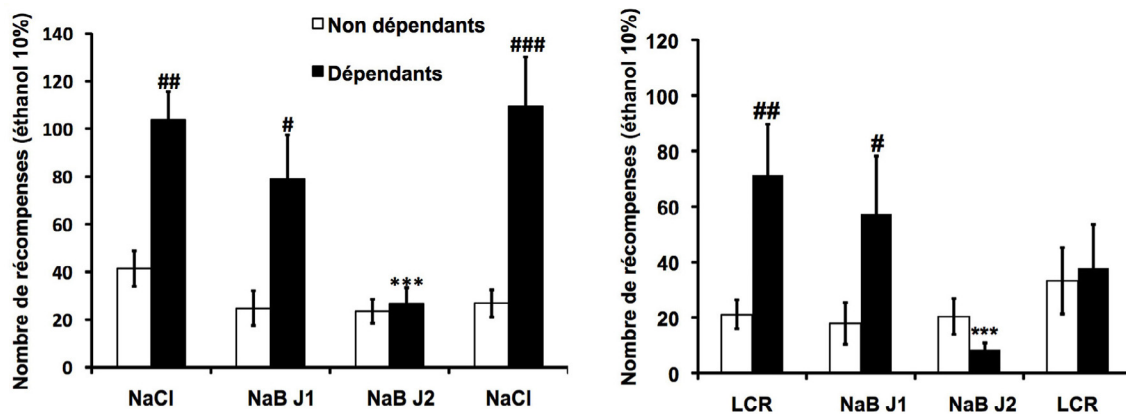


Fig. 4. Nombre de récompenses (0,1 ml d'éthanol 10 %) consommées par les rats témoins (non dépendants) et dépendants après injection de solution saline (NaCl) ou de butyrate de sodium (NaB, 600 mg/kg, i.p.) le 1^{er} jour d'injection (J1) et le 2^{ème} (J2). A gauche, injection par voie intrapéritonéale et à droite, par voie intra-cérébro-ventriculaire (LCR, liquide céphalorachidien).

Références

- Agudelo, M., Gandhi, N., Saiyed, Z., Pichili, V., Thangavel, S., Khatavkar, P., Nair, M. (2011). Effects of alcohol on histone deacetylase 2 (HDAC2) and the neuroprotective role of trichostatin A (TSA). *Alcohol Clin Exp Res*, 35, 1550–1556.
- Botia, B., Legastelois, R., Alaux-Cantin, S., Naassila, M. (2012). Expression of ethanol-induced behavioral sensitization is associated with alteration of chromatin remodeling in mice. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047527>
- Broide, R. S., Redwine, J. M., Aftahi, N., Young, W., Bloom, F. E., Winrow, C. J. (2007). Distribution of histone deacetylases 1-11 in the rat brain. *J Mol Neurosci*, 31, 47–58.
- Jeanblanc, J., Lemoine, S., Jeanblanc, V., Alaux-Cantin, S., Naassila, M. (2015). The Class I-Specific HDAC Inhibitor MS-275 Decreases Motivation to Consume Alcohol and Relapse in Heavy Drinking Rats. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyv029>
- Kazantsev, A. G., Thompson, L. M. (2008). Therapeutic application of histone deacetylase inhibitors for central nervous system disorders. *Nat Rev Drug Discov*, 7 854–868.
- Kopp, P. (2015). Le coût social des drogues. OFDT. <http://www.ofdt.fr/publications/collections/rapports/rapports-d-etudes/rapports-detudes-ofdt-parus-en-2015/le-cout-social-des-drogues-en-france-decembre-2015/>
- Legastelois, R., Botia, B., Naassila, M. (2013). Blockade of ethanol-induced behavioral sensitization by sodium butyrate : descriptive analysis of gene regulations in the striatum. <https://doi.org/10.1111/acer.12088>
- McClung, C. A., Nestler, E. J. (2008). Neuroplasticity mediated by altered gene expression. *Neuropsychopharmacol*, 33, 3–17.
- Paille, F., Reynaud, M. (2015). Alcohol : one of the major causes for hospitalization in France. *Bull Epidémiol Hebd*, 24-25, 440-449.
- Pandey, S. C., Ugale, R., Zhang, H., Tang, L., Prakash, A. (2008). Brain chromatin remodeling : a novel mechanism of alcoholism. *J Neurosci*, 28, 3729–3737.
- Renthal, W., Nestler, E. J. (2009). Histone acetylation in drug addiction. *Sem Cell Dev Biol*, 20, 387–94.
- Simon-O'Brien, E., Alaux-Cantin, S., Warnault, V., Buttolo, R., Naassila, M., Vilpoux, C. (2015). The histone deacetylase inhibitor sodium butyrate decreases excessive ethanol intake in dependent animals. <https://doi.org/10.1111/adb.12161>