



« Post doc » - Programme 2011

EPIGÉNÉTIQUE ET HYPERGLYCÉMIE : RÔLE DE LA MÉTHYLATION DANS LA RÉTINOPATHIE DIABÉTIQUE

Delphine Fradin

Post doctorant recruté : Kambiz Nadéri

19 Septembre 2012



DIABÈTE ET RÉTINOPATHIE DIABÉTIQUE (RD)

= atteinte de la microvascularisation rétinienne ainsi que des cellules gliales et neuronales

La prévalence de la RD chez les diabétiques de type 1 (T1D) ou dont le diabète a été diagnostiqué avant 30 ans varie de 47 à 75% selon les études.

L'incidence cumulée à 4 ans de la RD chez les T1D est de l'ordre de 60% (Winconsin study).

Dans les études plus récentes, l'incidence cumulée à 5 ans varie de 11 à 22% (Blue Mountains Study 1998, AusDiab Study 2004, Melbourne VIP 2000).



LA MÉMOIRE MÉTABOLIQUE

= perturbation précoce et transitoire de la glycémie ayant des conséquences durables même après retour à l'état «normal».

Engerman and Kern (1987)



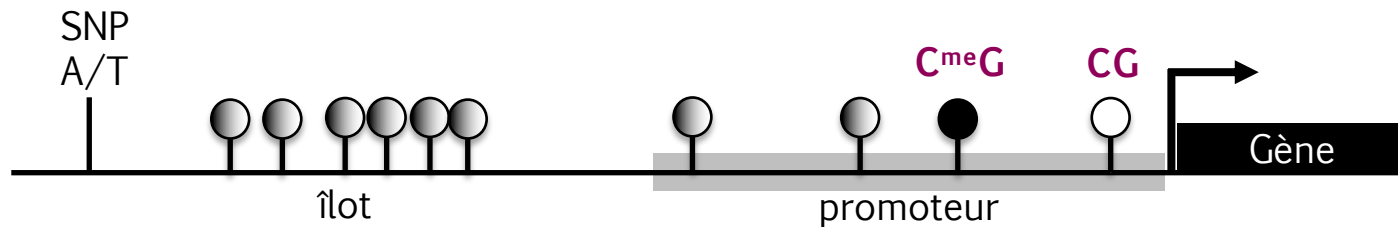
→ Hypothèse : Rôle des marques épigénétiques dans le maintien de cette mémoire métabolique.



ÉPIGÉNÉTIQUE

La **méthylation de l'ADN** sur les cytosines des dinucléotides CG

- Méthyltransférases = DNMT1, DNMT3a/b/o/L
- Groupements méthyles proviennent du cycle méthionine/folate

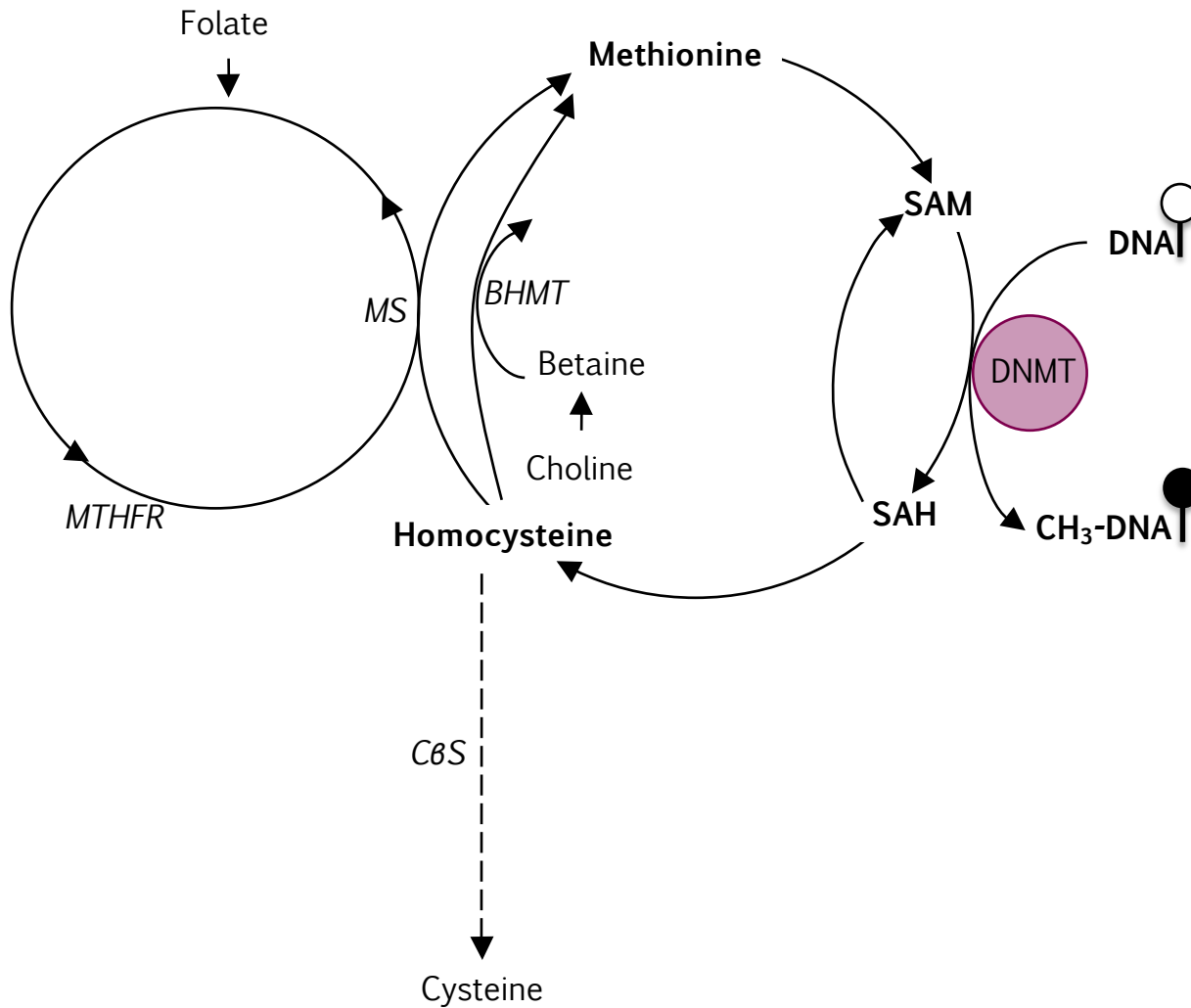


Autres variations épigénétiques :

- Modifications post traductionnelles des histones
- ARN non codant

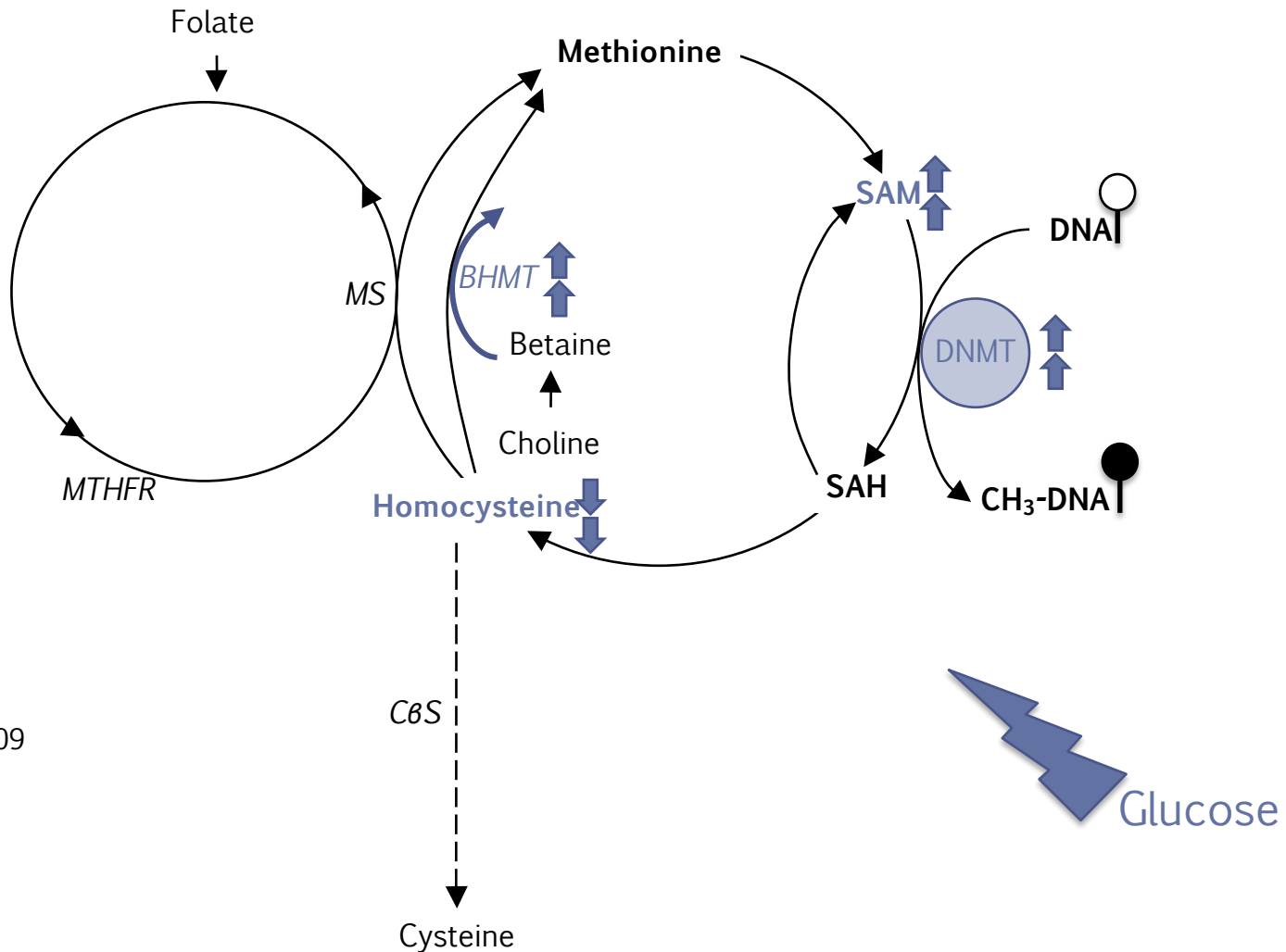


MÉTHYLATION DE L'ADN





MÉTHYLATION DE L'ADN ET GLUCOSE

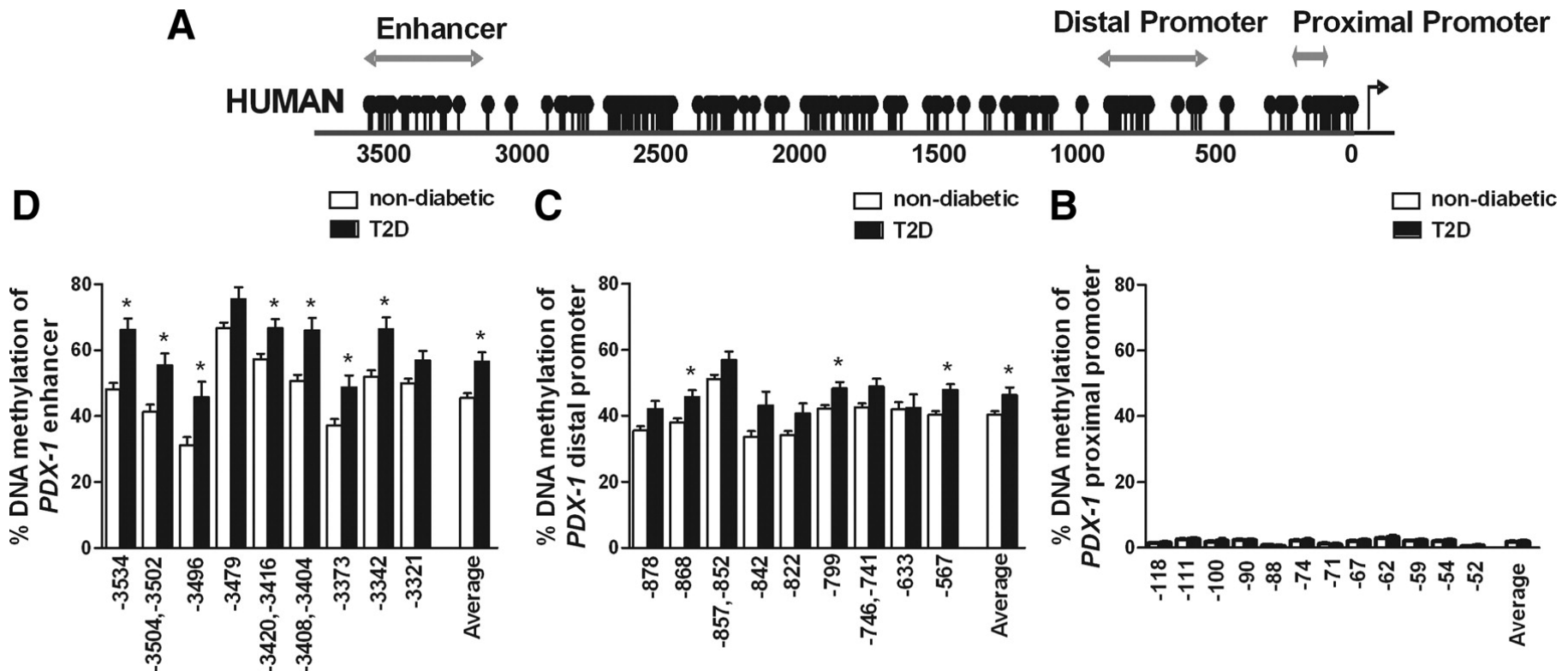


Brasacchio et al. 2009
 Chiang et al. 2009
 Fonseca et al. 2000
 Jacobs et al. 1998
 Liu et al. 2007
 Nieman et al. 2004
 Ratnam et al. 2006
 Ratnam et al. 2007
 Wijekoon et al. 2005



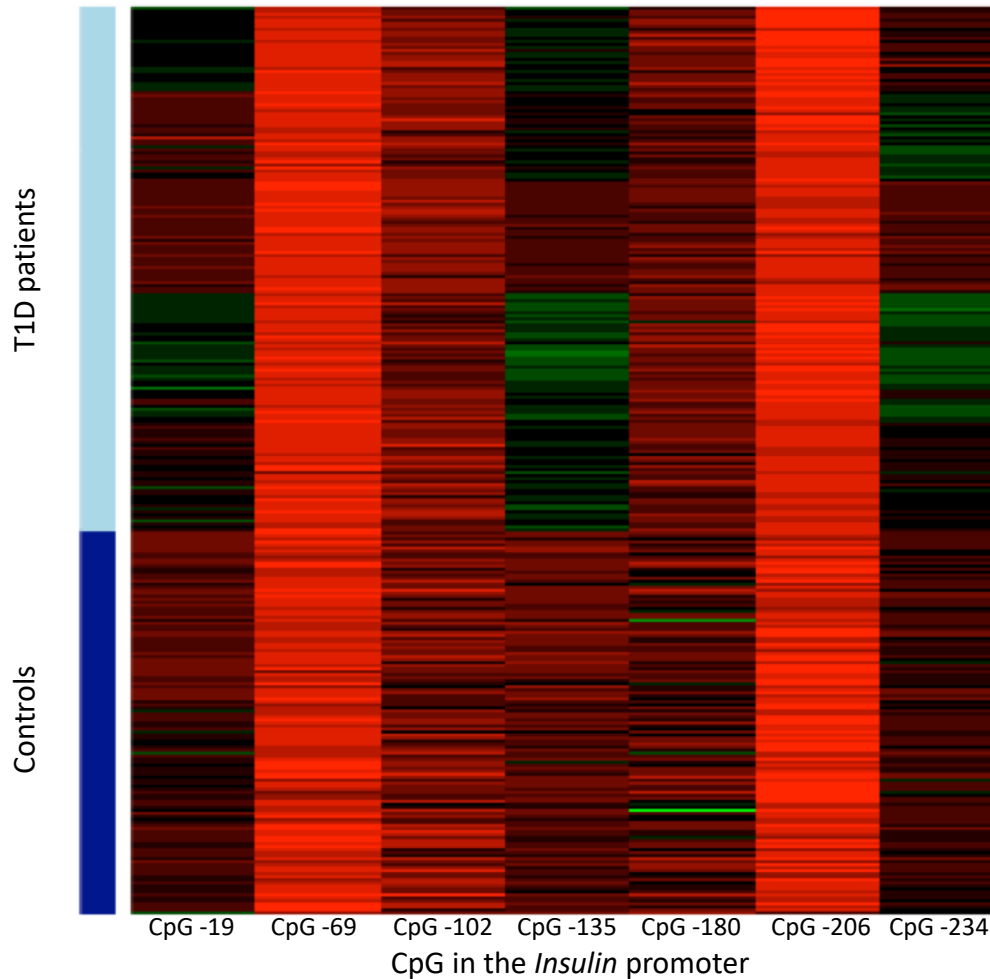
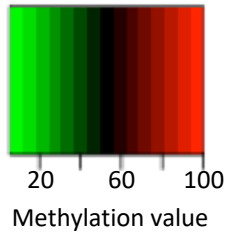
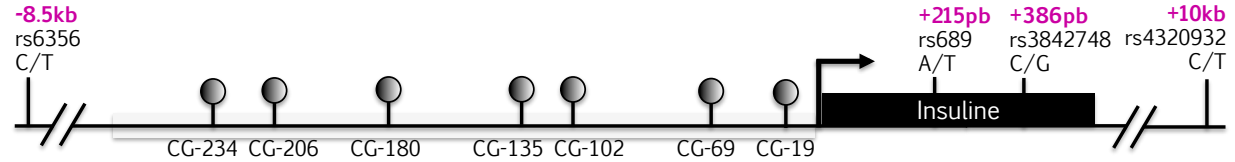
MÉTHYLATION DE L'ADN ET DIABÈTE

L'expression du gène PDX1 est diminuée dans les îlots pancréatiques des patients T2D tandis que la méthylation de son promoteur est augmentée comparé aux témoins.





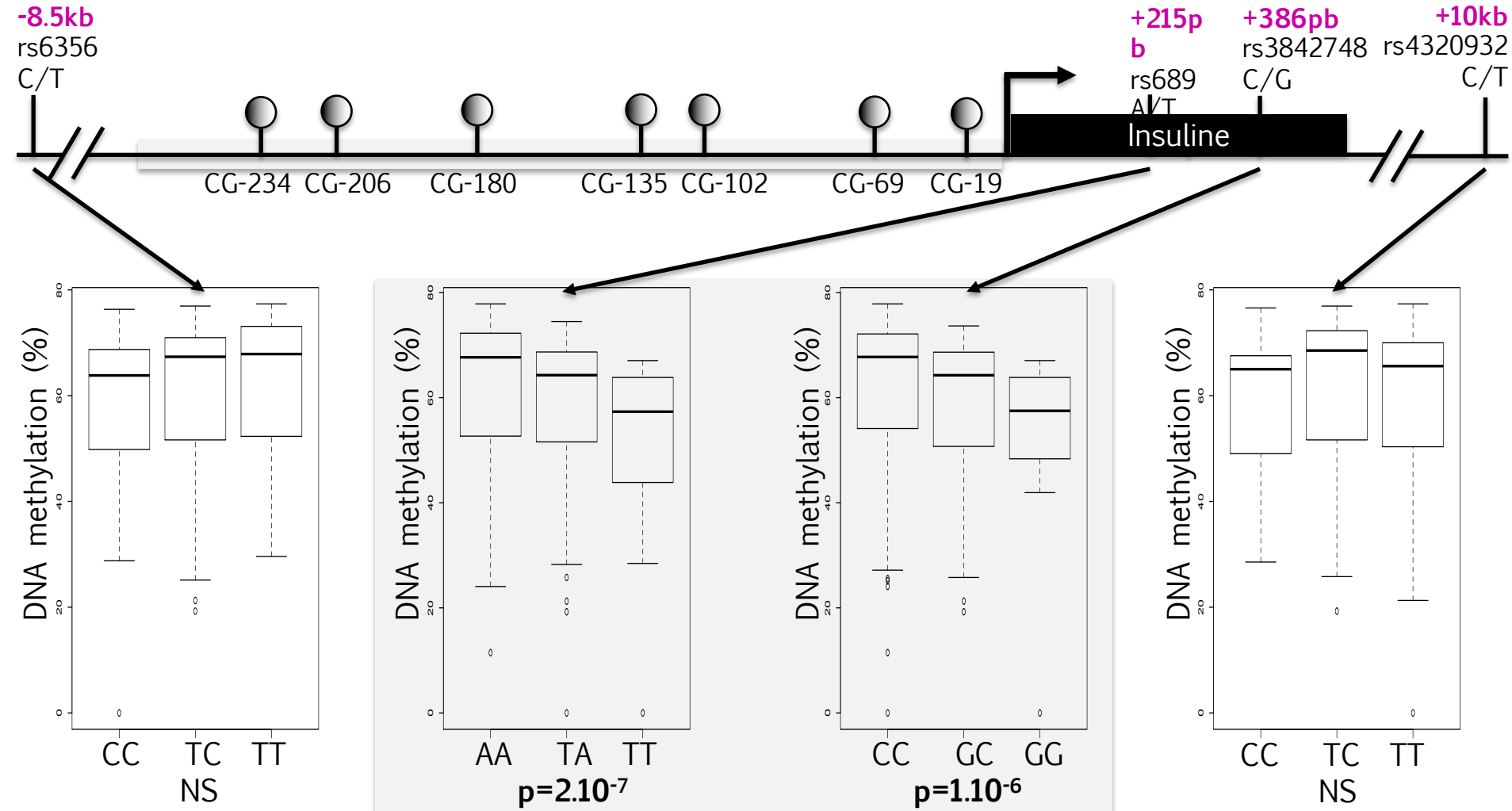
MÉTHYLATION DE L'ADN ET DIABÈTE



Le gène de l'insuline a un profil de méthylation différent entre les PBMCs des T1D et des contrôles.



MÉTHYLATION DE L'ADN ET DIABÈTE



➤ La méthylation du promoteur est influencée par les SNPs les plus proches.



PROGRAMME DE RECHERCHE

- 1 – Etude génome entier des marques épigénétiques associées à la RD : étude cas / contrôles
- 2 – Etude intra-cas des corrélations entre méthylation et Hba1c
- 3 – Approche cellulaire des effets du glucose sur la méthylation de l'ADN

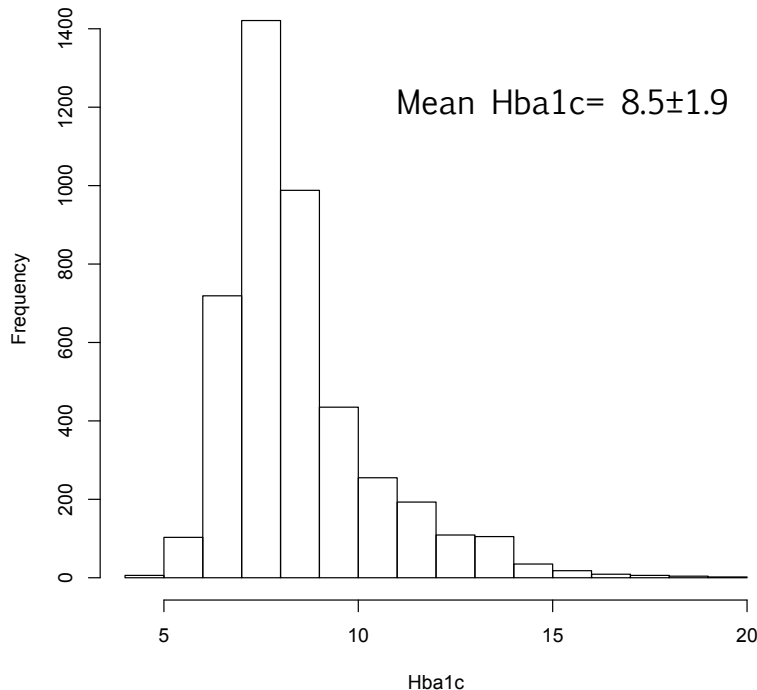


APPROCHE GÉNOME ENTIER DE LA MÉTHYLATION DE L'ADN

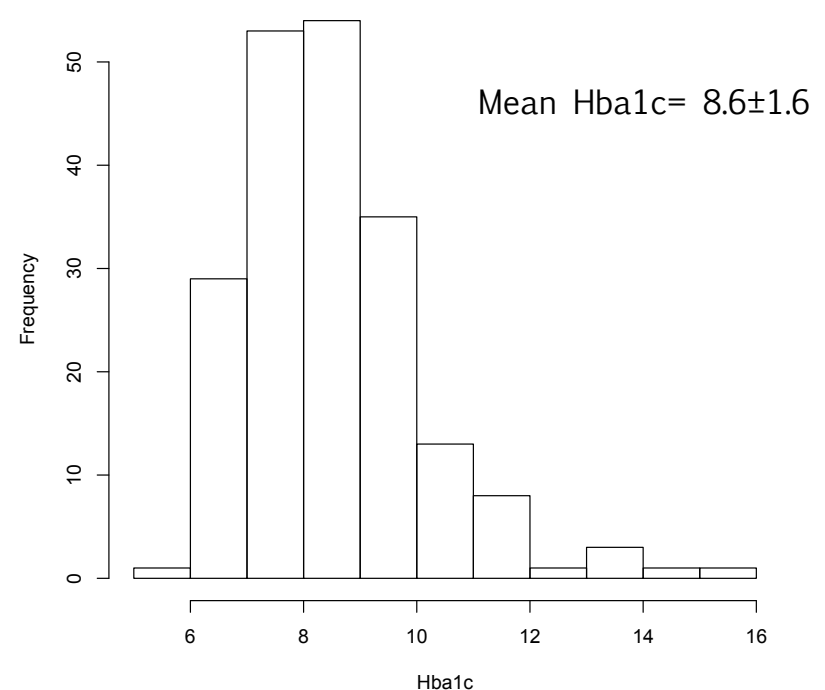
Cas et contrôles normoglycémiques issus de la cohorte ISIS-Diab (actuellement 5437 T1D suivi depuis 2007 et >1000 contrôles)

➤ 205 patients ont une RD (âge moyen 39.8 ± 13.3 ans)

Distribution des valeurs Hba1c dans la cohorte ISIS-Diab



Distribution des valeurs Hba1c chez les individus T1D atteints de RD





APPROCHE GÉNOME ENTIER DE LA MÉTHYLATION DE L'ADN

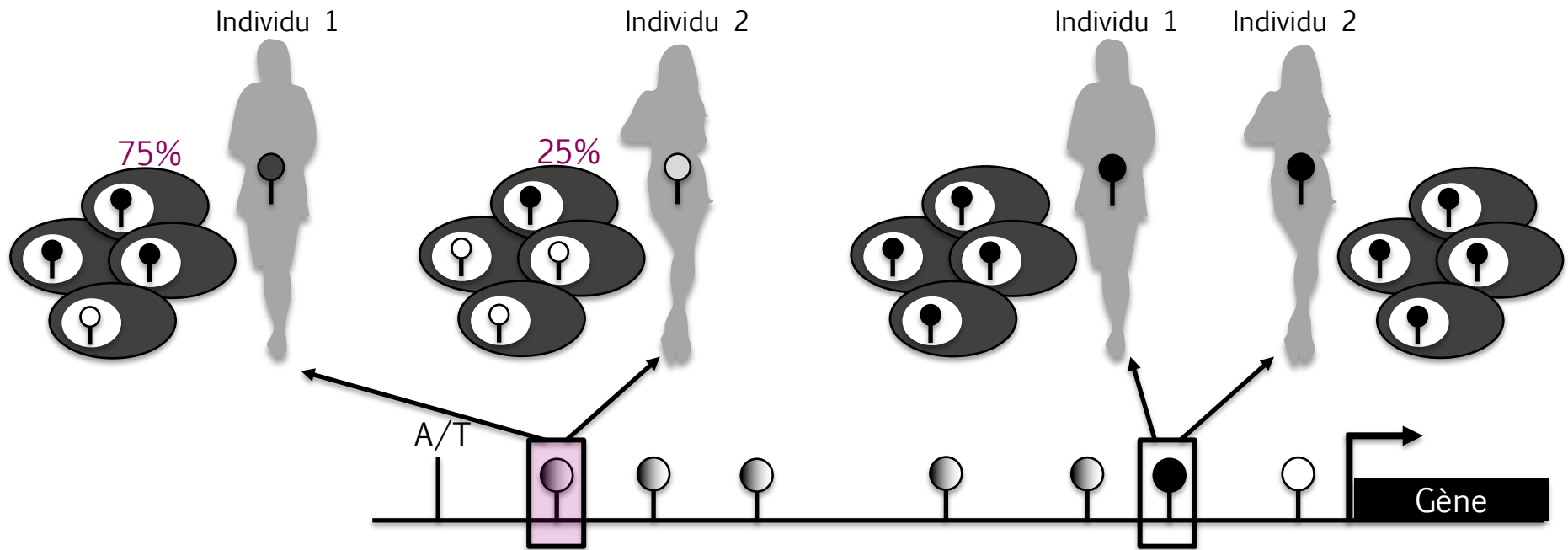
Choix au hasard des patients T1D-RD et des contrôles

- 10 patients avec une Hba1c ≤ 7
- 10 patients avec une Hba1c ≥ 10
- 10 contrôles appariés sur l'âge au prélèvement et le sexe



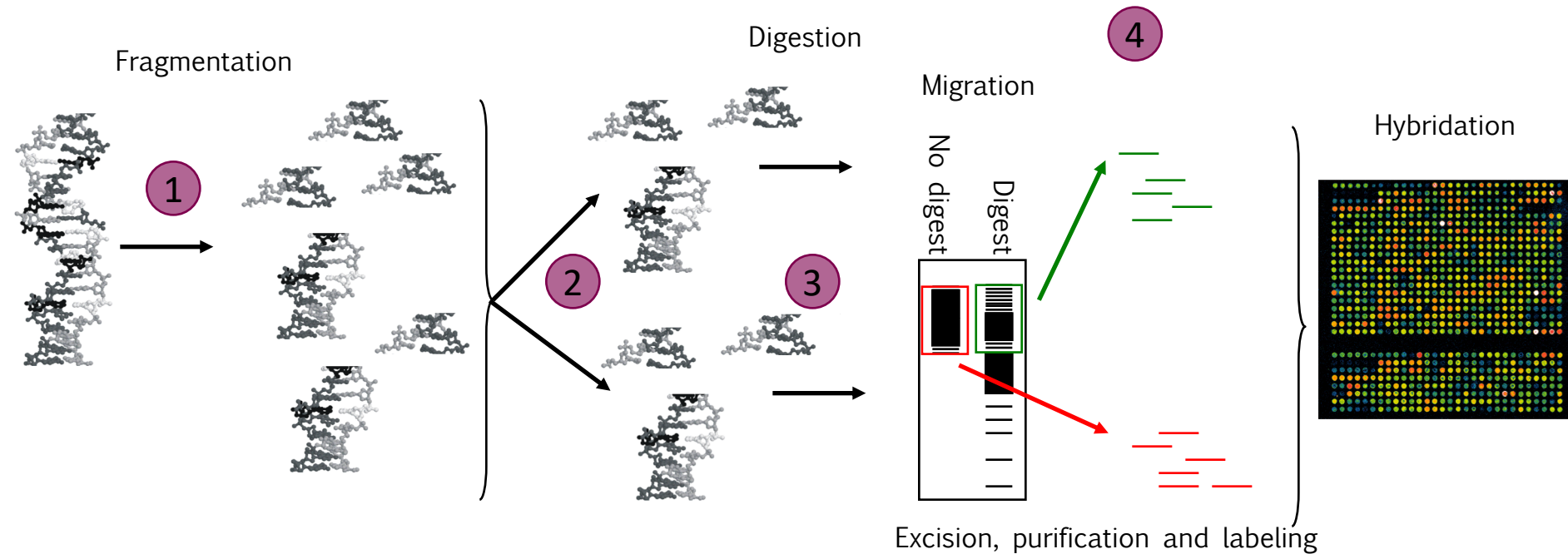
MESURE DE LA MÉTHYLATION DE L'ADN

La méthylation d'un CG, mesurée dans un échantillon (sanguin, tissu, culture) correspond à la proportion de cellules méthylées et déméthylées pour ce CG, constituant l'échantillon.





MESURE DE LA MÉTHYLATION DE L'ADN PAR PUCE



- 1 - Fragmentation mécanique de l'ADN
- 2 - Séparation en deux fractions de taille identique
- 3 - Digestion d'une des 2 fractions avec une enzyme sensible à la méthylation
- 4 - Découpe sur gel des fragments de tailles identiques entre les échantillons digérés et non digérés et hybridation sur puce de méthylation