


Effet des polychlorobiphényles sur le métabolisme des muscles squelettiques

Par Camille Tremblay Laganier^{1,2}, Natalie Chapados¹, Mary-ellen Harper² et Céline Aguer^{1,2}

 Institut de recherche de l'Hôpital Monfort, Unité de recherche sur la nutrition et le métabolisme¹
Université d'Ottawa, Département de Biochimie, Microbiologie et Immunologie²

Introduction

- Les polychlorobiphényles (PCB) sont des polluants persistants autrefois utilisés dans la fabrication des transformateurs électriques, des moteurs de pompes, des fours à micro-ondes et des peintures.
- Aujourd'hui interdits dans la majorité des pays.
- Écotoxiques et cancérigènes probables.
- Les conséquences biologiques précises de l'exposition à ces polluants sont encore mal connues.

- Pour ce projet, nous avons choisi d'étudier l'effet des PCB126 sur le métabolisme oxydatif des muscles squelettiques de rats.
- Des résultats préliminaires ont démontré que l'exposition de rats aux PCB126 pendant une semaine diminue la consommation d'oxygène de manière significative des muscles squelettiques. (Figure 1)

- Notre hypothèse est donc que les PCB pourraient causer une augmentation du stress oxydatif ce qui aurait un effet négatif sur les enzymes de la chaîne respiratoire mitochondriale des muscles squelettiques soit en réduisant leur expression ou en affectant leur activité enzymatique.

Méthodes

- Seize rats, divisés en deux groupes, ont été utilisés pour produire des échantillons de muscles.
- Un des groupes a été exposé pendant une semaine à une concentration de 1,05 µmol/kg de PCB126 alors que le deuxième groupe (contrôle) n'y a pas été exposé.
- Les muscles utilisés sont des muscles glycolytiques blancs de type gastrocnemius.
- Les muscles ont été homogénéisés au polytron dans un tampon optimisé pour la solubilisation des protéines.
- Les échantillons protéiques ont ensuite tous été équilibrés à 2mg/mL à l'aide d'un essai de Bradford puis chargés sur un gel de SDS-PAGE 12% Bis-acrylamide afin d'effectuer un immunobuvardage de style Western.
- Une première immunodétection a été effectuée contre l'alpha-tubuline de souris afin de confirmer l'équilibrage des échantillons.
- Une deuxième immunodétection a ensuite été effectuée sur la même membrane avec un cocktail d'anticorps contre les complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale.

- En second lieu, un essai de détection d'oxydation protéique (oxyblot) a été réalisé sur les échantillons en utilisant le kit de Millipore.
- Cet essai permet de faire une immunodétection des groupements carbonyles introduits lors d'une oxydation par l'ozone, les oxydes d'azote ou catalysé par un métal.

Remerciements:

Merci à Céline Aguer, Natalie Chapados, Lucien Nadeau, Marie-Ève Girard et Mary-ellen Harper.

Coordonnées:

ctrem071@uottawa.ca
celineaguer@montfort.on.ca
613-746-4621 ext. 6047
<http://www.hopitalmontfort.com/fr/nutrition-et-metabolisme>



uOttawa

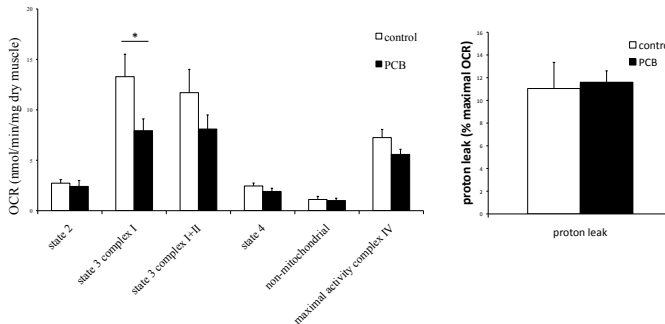


Figure 1: Résultats préliminaires obtenus par Céline Aguer avant mon arrivée dans le laboratoire. La condition "state 2" correspond à l'ajout des substrats malate et glutamate (substrat du complexe I) sans ADP, "state 3" est l'ajout d'ADP et de succinate (substrat du complexe II) et "state 4" est l'ajout d'oligomycine qui inhibe l'ATP synthase. Une différence significative entre les contrôles et les échantillons de rats exposés aux PCB est obtenue pour le complexe I dans "state 3". Le deuxième graphique montre que la fuite de protons est semblable pour les contrôles et les échantillons de rats traités aux PCB.

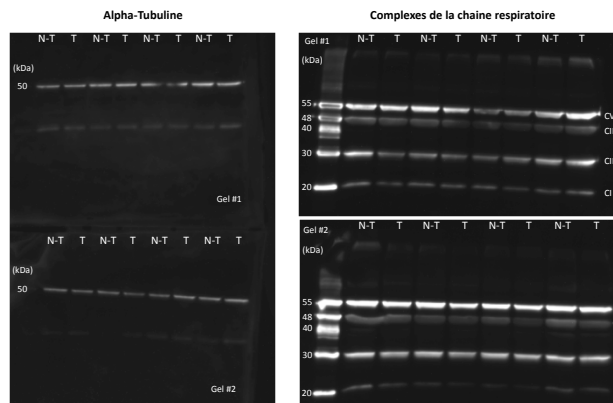


Figure 2: Western blots contre l'alpha-tubuline puis contre les complexes de la chaîne respiratoire. Les N-T correspondent aux échantillons de rats non-traités (contrôles) et les T à ceux de rats traités aux PCB. Le standard utilisé contenait des mitochondries de coeur de rat. On observe que le complexe IV n'est pas visible.

Résultats

- L'analyse des résultats des immunobuvardages montre que l'abondance relative des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale est la même pour le groupe contrôle et pour le groupe traité aux PCB.
- La brillance des bandes (en pixels) pour les complexes de la chaîne respiratoire a été normalisée avec la brillance de la bande correspondante pour l'alpha-tubuline. Les résultats pour les groupes contrôle et traité ont ensuite été comparés.
- Pour l'oxyblot, nous avons également obtenu une intensité similaire pour les échantillons de rats traités et contrôles.

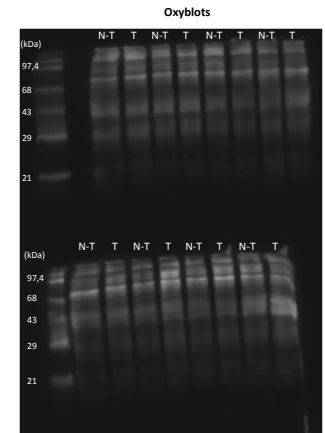


Figure 3: Oxyblots. Les N-T correspondent aux échantillons de rats non-traités (contrôles) et les T à ceux traités aux PCB. Le standard utilisé est celui fourni par Millipore.

Conclusion

- Pour conclure, nous avons trouvé que, malgré des résultats préliminaires montrant une différence dans la respiration des muscles après une exposition aux PCB, l'expression relative des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale ne semble pas en être affectée.
- Cependant, l'expression du complexe IV n'a pas pu être mesurée parce que nous avons chauffé nos échantillons. Il serait donc nécessaire de refaire un western blot avec des échantillons non-chauffés.
- Aussi, les PCB ne semblent pas non plus affecter l'oxydation de ces protéines. Les résultats de l'oxyblots ne permettent pas de déceler une différence d'intensité entre les contrôles et les échantillons de rats traités.
- Pour déterminer ce qui a pu faire varier la consommation d'oxygène lors des résultats préliminaires, nous pourrions faire des essais enzymatiques pour les enzymes majeures de la chaîne oxydative comme la cytochrome C oxidase et la citrate synthase.
- Également, nous pourrions refaire les expériences pour un type différent de muscles comme les muscles rouges oxydatifs gastrocnemius.