

Entretien de la structure osseuse chez les mammifères (Extrait du sujet Agro Vétô 2014 – Epreuve B)

Chez les mammifères, la mise en place et l'entretien de la structure osseuse après la croissance sont réalisés par des cellules spécialisées : les ostéoblastes. La perturbation de l'activité des ostéoblastes par certains médicaments, comme les antidépresseurs, peut engendrer des anomalies de la structure osseuse. Or les antidépresseurs sont décrits pour augmenter la quantité d'un neuromédiateur : la sérotonine.

Vous montrerez, à partir de l'analyse des différents documents, comment la sérotonine peut influencer la minéralisation de la matrice extracellulaire, une étape fondamentale dans la mise en place et le renouvellement de la structure osseuse. Vos conclusions seront résumées par un schéma bilan.

Document 1 : Implication de la sérotonine dans l'entretien de la structure osseuse chez la souris adulte

La sérotonine ou 5-hydroxytryptamine (5HT) est synthétisée à partir d'un acide aminé, le tryptophane. Cette réaction est catalysée par une enzyme (la tryptophane hydroxylase ou TPH) qui existe sous deux isoformes : TPH₁ dans tout l'organisme et TPH₂ spécifiquement dans le cerveau.

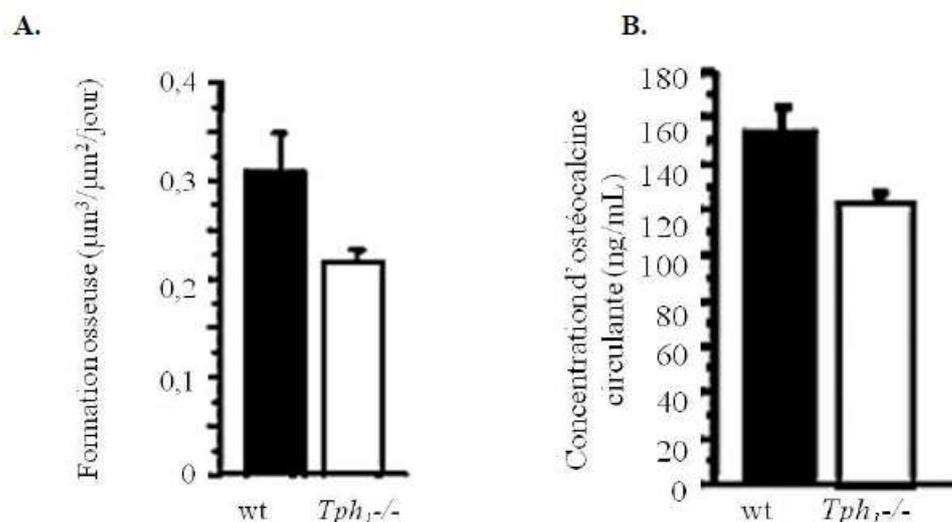
Soient deux lots de souris adultes, sauvages (wt) ou mutées homozygotes pour l'enzyme TPH₁ (*Tph1*^{-/-}).

Document 1.A : Renouvellement osseux quotidien

La formation osseuse est le volume d'os nouvellement formé par jour rapporté au squelette (surface de tissu osseux déjà en place). La formation osseuse est évaluée chez les souris sauvages (wt) et les souris mutées *Tph1*^{-/-}.

Document 1.B : Etude d'un marqueur biochimique de la formation osseuse.

La concentration d'ostéocalcine a été mesurée dans la circulation sanguine des deux souches de souris : sauvages (wt) ou mutées *Tph1*^{-/-}. L'ostéocalcine est une hormone sécrétée par les ostéoblastes, augmente la concentration locale de calcium extracellulaire et le fixe sur le tissu osseux immature. Son taux circulant est mesuré dans le sang.



Document 2 : Structure osseuse chez la souris adulte mutée pour un récepteur à la sérotonine

Le récepteur 5HT_{2B} (noté 5HT_{2BR}) est le principal récepteur à la sérotonine exprimé dans les membranes plasmiques d'ostéoblastes. Les astérisques indiquent des différences significatives.

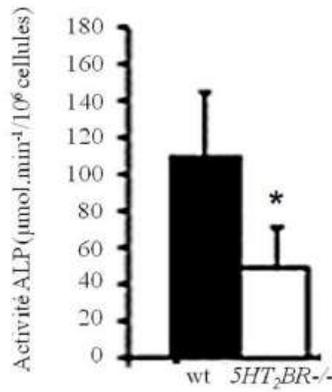
Document 2.A : Etude de l'activité de la phosphatase alcaline dans les ostéoblastes

L'activité de la phosphatase alcaline (ALP) a été mesurée dans les ostéoblastes de deux souches de souris : sauvages (wt) ou n'exprimant pas 5HT_{2BR} (*5HT2BR*^{-/-}). Elle est exprimée en µmole.min⁻¹/10⁶ cellules. La phosphatase alcaline (ALP), enzyme synthétisée par les ostéoblastes, est indispensable à la croissance osseuse en favorisant la minéralisation du tissu osseux immature, c'est-à-dire la formation d'une matrice dense constituée de phosphate de calcium.

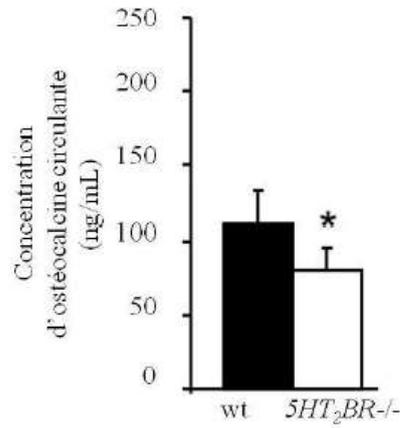
Document 2.B : Etude d'une hormone synthétisée par les ostéoblastes

La concentration d'ostéocalcine dans la circulation sanguine est mesurée chez les souris sauvages et mutées pour le gène codant 5-HT_{2BR}.

A.

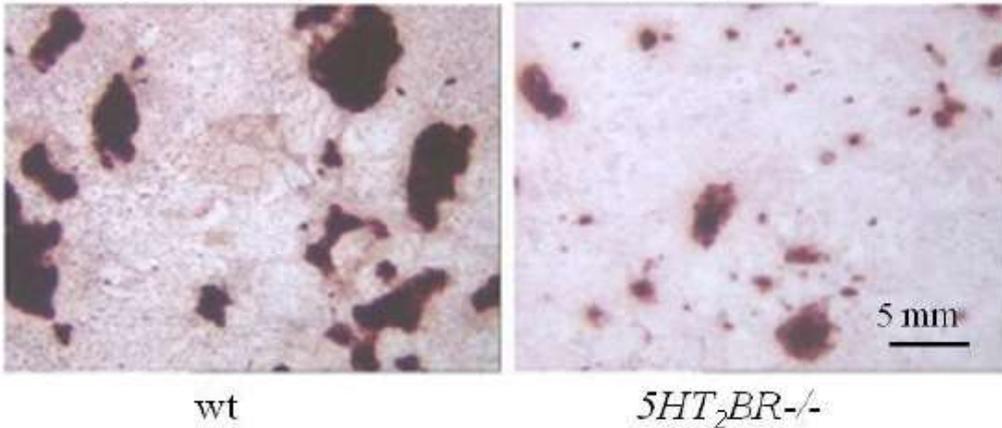


B.



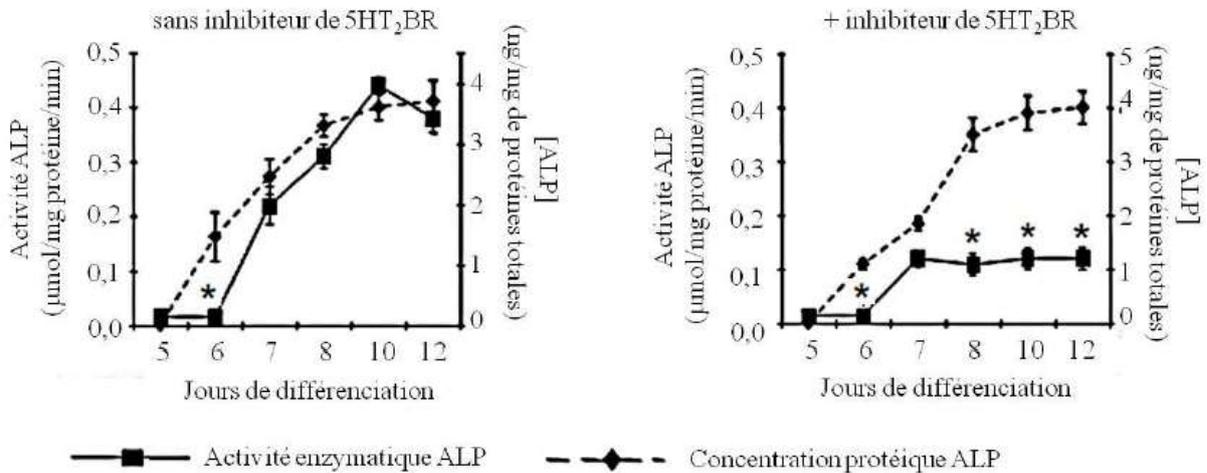
Document 3: Etude *in vitro* de la mise en place de la structure osseuse à l'aide de lignées ostéoblastiques

Les lignées ostéoblastiques sont des cellules inductibles capables de récapituler *in vitro* toutes les étapes de la différenciation ostéogénique *in vivo* menant à la formation d'une matrice osseuse sous la forme de nodules de minéralisation. Des cellules ostéoblastiques issues de souris sauvages (wt) ou mutées 5HT₂BR^{-/-} sont cultivées *in vitro* pendant 21 jours. Ces cultures ont été induites à se différencier vers le programme ostéogénique. Les nodules de minéralisation obtenus à la fin de la différenciation sont colorés à l'alizarine, un colorant rouge spécifique des cristaux de phosphate de calcium.



Document 4 : Evolution de l'activité alcaline phosphatase au cours de la différenciation ostéogénique

La concentration et l'activité alcaline phosphatase (ALP) sont mesurées dans des ostéoblastes à différents stades de différenciation ostéogénique (des jours 5 à 12), en présence de sérotonine 5HT. Dans la moitié des cultures un inhibiteur du récepteur 5HT₂BR est ajouté



Document 1 :

- La réaction TRP (Tryptophane) → 5HT (Sérotonine) est catalysée par l'enzyme Tph1
- On étudie l'impact de la mutation du gène codant cette enzyme sur la formation osseuse
- OBS 1A : On observe que le mutant *tph1* présente une réduction de la formation osseuse ($0,22\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2/\text{jour}$ contre $0,31\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2/\text{jour}$ pour le sauvage : témoin). Les barres d'erreur ne se recouvrent pas : différences exploitables
- CCL 1A : L'enzyme TPH1 (et donc la sérotonine) sont impliqués dans la formation osseuse
- OBS 1B : La concentration d'ostéocalcine (OCN) diminue (130 contre 160 ng/mL pour le sauvage).
- CCL 1B : L'enzyme TPH1 (et donc la sérotonine) sont impliqués dans la synthèse (ou libération) d'OCN
- Mise en relation (MER) 1A/1B : La baisse de la formation osseuse pourrait être liée à la baisse de l'OCN circulante
- Limite/Esprit critique 1A/1B : Dosage de 5HT ? Autres facteurs impliqués pour l'ossification ? Essais antagonistes avec un ajout de sérotonine ?
- Transition : Comment agit la sérotonine ? Action directe ? Via un récepteur ?

Document 2 :

- On étudie le récepteur 5HT₂BR via un mutant chez la souris.
- OBS 2A/B : On observe que le mutant *5HT₂BR* présente une réduction de l'activité ALP et de la concentration d'OCN circulante (+ valeurs). Les barres d'erreur ne se recouvrent pas ou peu : différences exploitables (limite pour OCN mais l'étoile est une note pour dire que c'est significatif).
- CCL 2A/2B : Le récepteur 5HT₂BR (et donc la sérotonine) est impliquée dans l'activité ALP et la libération d'OCN → Donc probablement dans la formation osseuse (limite/critique : paramètre non montré → cf. DOC 3)
- Hypo 2A/2B : Le récepteur induit une cascade de signalisation qui conduit à ces phénomènes

Document 3 :

- On étudie la formation osseuse chez des mutants de souris pour le récepteur 5HT₂BR
- OBS 3 : La matrice osseuse présente de nombreux nodules chez le sauvage et très peu chez le mutant. Ceci s'explique par les phénomènes vus précédemment.

Document 4 :

- On étudie également la synthèse et l'activité de l'ALP chez les mutants *5HT₂BR*/-
- OBS 4A : Chez le sauvage, on constate que la synthèse de l'ALP débute vers le jour 5 et augmente jusqu'au 12^{ème} jour. Elle est corrélée à l'activité qui est fonction de la concentration en enzyme. Ceci permet la mise en place d'une matrice riche en phosphate de calcium
- OBS 4B : Chez le mutant, on constate que la synthèse de l'ALP n'est pas impactée. Par contre, l'activité est fortement réduite (4 fois moins importante que chez le sauvage). Ceci explique la réduction de la minéralisation de la matrice et de la formation osseuse.

