



## Faculté de Pharmacie

Ecole Doctorale en Sciences Pharmaceutiques

### **La présence intrigante de la myéloperoxydase dans les cellules épithéliales de la prostate, serait-elle impliquée dans les lésions prostatiques ?**

**Caroline NOYON**

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences  
Biomédicales et Pharmaceutiques

#### **Promoteur et co-promoteur :**

Promoteur : Prof. Pierre Van Antwerpen (Laboratoire de Chimie Pharmaceutique Organique)  
Co-Promoteur : Dr Thierry Roumeguère (Service d'Urologie de l'hôpital Erasme)

#### **Composition du jury :**

Prof. David Vermijlen (ULB) - Président  
Prof. Véronique Mathieu (ULB) - Secrétaire  
Prof. Kris De Braekeleer (ULB)  
Prof. Bertrand Blankert (Université de Mons)  
Prof. Dr David Waltregny (Université de Liège)

Année académique 2017-2018

## **TABLE DES MATIÈRES**

<b>1. INTRODUCTION GÉNÉRALE .....</b>	<b>12</b>
<b>2. SYSTEME MYÉLOPEROXYDASE/PEROXYDE D’HYDROGÈNE/CHLORURE.....</b>	<b>14</b>
2.1. Localisation et rôle de la MPO.....	15
2.2. Synthèse de la MPO.....	16
2.3. Structure de la MPO.....	18
2.4. Activité de la MPO et le système MPO/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Cl <sup>-</sup> .....	22
2.5. Modifications des biomolécules par la MPO .....	25
2.5.1. Protéines et MPO.....	26
2.5.2. Lipides et MPO .....	27
2.5.3. Acides nucléiques et MPO .....	28
2.6. Implication de la MPO dans les cancers .....	38
<b>3. PATHOLOGIES PROSTATIQUES .....</b>	<b>41</b>
3.1. Introduction .....	42
3.1.1. Anatomie et localisation de la prostate.....	42
3.1.2. Physiologie de la prostate.....	44
3.2. Hyperplasie bénigne de la prostate (ou adénome prostatique).....	45
3.2.1. Epidémiologie .....	45
3.2.2. Anatomopathologie, symptômes et diagnostic.....	46
3.2.3. Traitements.....	48
3.3. Cancer de la prostate.....	50
3.3.1. Epidémiologie .....	50
3.3.2. Anatomopathologie et symptômes .....	52
3.3.4. Traitements.....	56
<b>4. SPECTROMETRIE DE MASSE .....</b>	<b>61</b>
4.1. Principe de base.....	62
4.2. Le spectromètre de masse Agilent Q-TOF 6250 .....	62
4.3. Le spectromètre de masse Agilent QqQ 6490 .....	65
4.4. Fragmentation des acides nucléiques par spectrométrie de masse.....	66
<b>5. BUTS DU TRAVAIL .....</b>	<b>68</b>
<b>6. MATÉRIEL ET MÉTHODES .....</b>	<b>71</b>
6.1. Matériel et instruments.....	72
6.2. Méthodes : Partie 1: Développement et validation des méthodes .....	74
6.2.1. Analyses des nucléosides par LC/MSMS.....	75
6.2.2. Extraction, purification et hydrolyse des acides nucléiques .....	77
6.2.3. Chloration d’ADN de saumon et d’ARN transcrit in vitro .....	78

6.2.4. Procédure de validation.....	78
6.2.5. Applications in vitro et in vivo .....	80
6.3. Méthodes : Partie 2 : Détermination de l'activité de la MPO au sein de la prostate ....	81
6.3.1. Détection des produits d'activité de la MPO dans des biopsies prostatiques .....	81
6.3.2. Détection des produits d'activité de la MPO dans les cellules épithéliales de prostates en culture .....	82
6.3.3. Colocalisation de la MPO et de son activité au sein de la prostate.....	83
6.4. Méthodes : Partie 3 : Pénétration intracellulaire et incorporation dans l'ADN et l'ARN de chloronucléosides.....	85
6.4.1. Chloration des cellules endothéliales par l'HClO ou par le système MPO/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Cl <sup>-</sup> (système MPO).....	85
6.4.2. Analyses de plasma de patients hémodialysés.....	86
6.4.3. Pénétration cellulaire et incorporation de nucléosides modifiés .....	86
6.4.4. Transcription et traduction in vitro .....	87
6.4.5. Activité de l'ADN polymérase .....	90
6.4.6. Activité de la ribonucléotide réductase.....	91
<b>7. RÉSULTATS.....</b>	<b>94</b>
7.1. Partie 1: Développement et validation des méthodes.....	95
7.1.1. Introduction .....	95
7.1.2. Résultats.....	96
7.1.3. Discussion.....	105
7.1.4. Conclusion.....	107
7.2. Partie 2 : Détermination de l'activité de la MPO au sein de la prostate .....	109
7.2.1. Introduction .....	109
7.2.2. Résultats.....	110
7.2.3. Discussion.....	118
7.2.4. Conclusion.....	120
7.3. Partie 3 : Pénétration intracellulaire et incorporation dans l'ADN et l'ARN de chloronucléosides .....	122
7.3.1. Introduction .....	122
7.3.2. Résultats.....	123
7.3.3. Discussion.....	137
7.3.4. Conclusion.....	141
<b>8. CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>142</b>
<b>9. BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>148</b>
<b>10. ANNEXES.....</b>	<b>159</b>