

Article original, Editeur KJER France : rédigé : 02/06/2015; publié : 03/06/2015

Physiopathologie mitochondriale et Neuropathies Optiques Héréditaires

Exposé du Dr Guy LENAERS – 15 avril 2015 – AG KJER France

Présentation du PREMMI

PREMMI est l'acronyme du Pôle de Recherche et d'Enseignement en Médecine Mitochondriale. Le projet consiste à cibler les pathologies héréditaires et non-héréditaires qui impliquent un déficit mitochondrial. Ces maladies sont très nombreuses, comme par exemple : le diabète, les cardiopathies, les maladies neurodégénératives, le vieillissement, etc.

C'est donc un projet très large qui a reçu le soutien de la région Pays de la Loire, de l'agglomération Angers Loire Métropole, du CHU d'Angers et de l'Université d'Angers.

PREMMi dispose d'un budget d'équipement de 1,5 million d'euros sur 5 ans et d'un budget de fonctionnement de 1,5 million pour les 3 ans à venir. Ce financement a permis de recruter 8 personnes au 1^{er} janvier 2015, et assure un fonctionnement du programme autonome pendant les premières années, permettant de faire des demandes de financement pour les années suivantes, de créer une dynamique nouvelle et efficiente, en mettant en synergisant les travaux qui était menés auparavant à Montpellier et à Angers, et de produire de nouveaux résultats tangibles.

Les maladies de la vision

Pour l'essentiel, de 0 à 75 ans, les maladies de la vision sont dues: à des accidents oculaires, à des problèmes alimentaires (manque de vitamines A, par exemple), à la prise de médicaments comme certains antibiotiques, à des accidents vasculaires cérébraux (AVC), à des cécités dues à des parasites (dans des régions humides d'Afrique), au diabète entre autres. Ces maladies ne sont pas héréditaires.

On trouve aussi les maladies de la vue liées au vieillissement : cataracte, glaucome, DMLA qui apparaissent essentiellement vers l'âge de 60 ans.

Enfin, les maladies de la vue héréditaires : la rétinite pigmentaire traitée à Montpellier, Strasbourg et à l'Institut de la Vision à Paris, les neuropathies optiques héréditaires

Article original, Editeur KJER France : rédigé : 02/06/2015; publié : 03/06/2015

(NOH), qui concernent le nerf optique, traitées à Montpellier et à Angers. Ce sont des maladies génétiques qui trouvent leur origine souvent avant la naissance. Elles sont, en général, sévères et affectent le patient dès son plus jeune âge.

Neuropathies optiques et rétinites pigmentaires

La vision des patients atteints de Neuropathie Optiques Héréditaires (NOH) se caractérise par une tache aveugle claire centrale et une dyschromatopsie, ou atteinte de la vision des couleurs. Il y a donc une perte importante de l'acuité visuelle, mais la vision périphérique est préservée. Le patient atteint de NOH ne peut correctement lire, mais il conserve la vision de son environnement ce qui lui confère une certaine autonomie dans la vie quotidienne.

Les patients atteints d'une rétinite pigmentaire ont une diminution progressive de leur champ visuel périphérique, due à l'altération des bâtonnets. Ils conservent une relativement bonne acuité visuelle dans les premiers temps de la maladie, mais perdent progressivement la notion d'environnement, avec un champ visuel qui se réduit à une vision en tunnel très étroite. Ils finissent fréquemment totalement aveugles, car les bâtonnets synthétisent des facteurs trophiques pour les cônes, qui en fin de maladie vont aussi disparaître, avec la vision centrale. L'autonomie de ces patients est souvent plus réduite que celle des patients atteints de NOH.

L'œil

On distingue le pôle antérieur et le pôle postérieur. Le pôle antérieur contrôle la quantité de lumière (iris) et la profondeur de champ (cornée + cristallin). Le pôle postérieur constitué de la rétine, transforme l'information lumineuse en signaux électriques. Les neurones ganglionnaires de la rétine forment le nerf optique qui conduit l'information visuelle de l'œil au cerveau. La fovéa au centre de la macula est la zone de la rétine où la vision des détails est la plus précise. Elle est située dans le prolongement de l'axe visuel de l'œil.

Les NOH sont des maladies du nerf optique, ce sont des pathologies de la transmission de l'information visuelle, alors que les rétinites pigmentaires sont des maladies de la rétine de la perception de l'information visuelle.

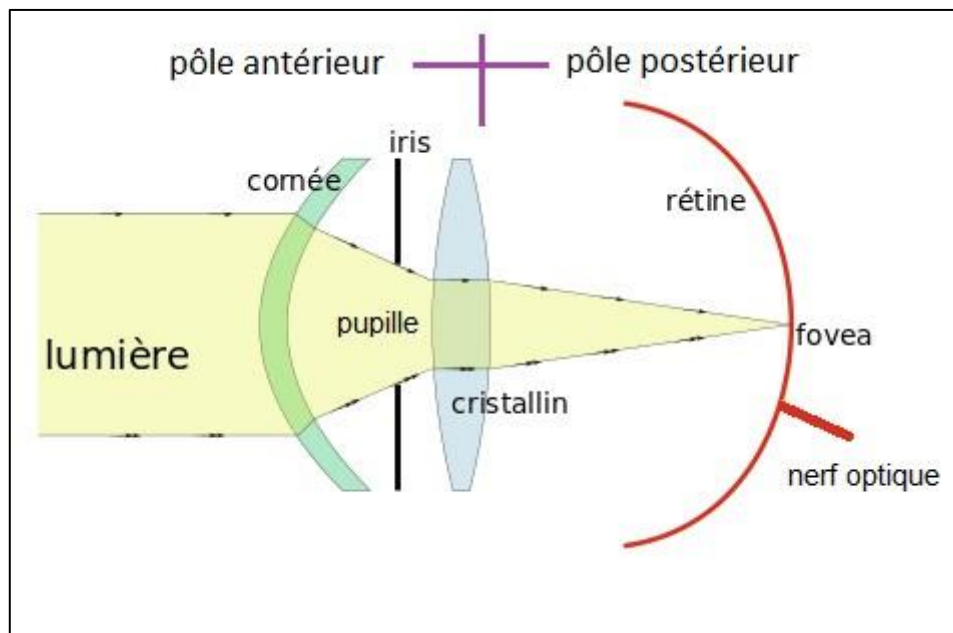


Figure 1 : coupe schématique de l'œil

La rétine

Chez l'homme, chaque rétine comporte 150 millions de photorécepteurs. Au centre de la rétine (fovéa) chaque photorécepteur est connecté à une cellule bipolaire, elle-même reliée à une seule cellule ganglionnaire, laquelle transmet l'information au cerveau via le nerf optique. A cet endroit, l'information visuelle est structurée, l'acuité visuelle est maximale. En s'écartant du centre de la rétine, les connections neuronales s'organisent selon une hiérarchisation pyramidale. Plusieurs photorécepteurs sont reliés à une cellule bipolaire et plusieurs cellules bipolaires sont reliées à une cellule ganglionnaire. L'axone de cette cellule véhicule vers le cerveau des informations issues de multiples photorécepteurs, donc moins précises mais plus sensibles à toute variation d'environnement visuel. Cette particularité explique pourquoi nos 150 millions photorécepteurs ne sont reliés qu'à 1,2 millions de cellules ganglionnaires. En vision périphérique, on ne perçoit que des mouvements et des contrastes. Ainsi, en voiture, on ne voit précisément que la voiture qui nous précède, et on perçoit clairement une sensation de mouvement en périphérie immédiate du champ visuel central.

Dans le cas des NOHs ce sont les neurones ganglionnaires de la rétine qui sont affectés et principalement ceux qui connectent la fovea au centre de la rétine. Cette susceptibilité des neurones centraux peut être due au fait que ces cellules y sont plus petites et plus exposées à la lumière qui représente une cytotoxicité certaine pour toutes les cellules.

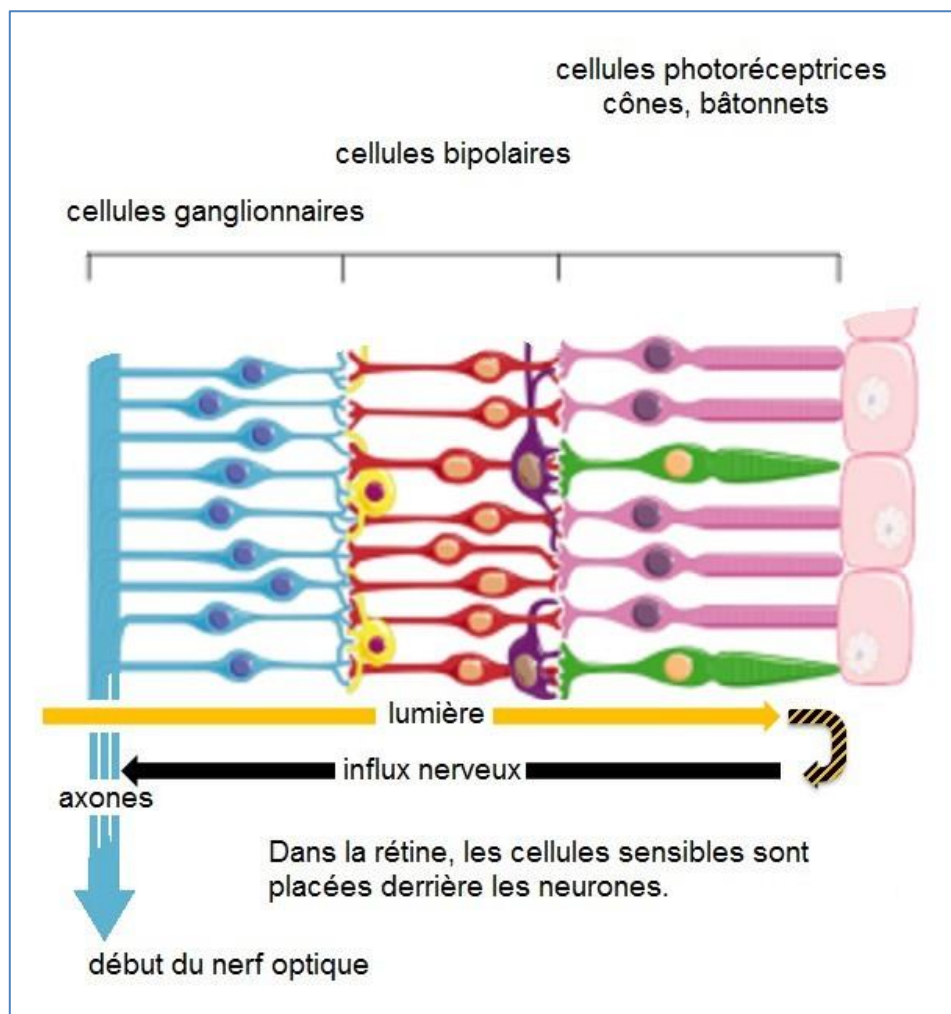


Figure 2: coupe schématique de la rétine (le pôle antérieur de l'œil est à gauche)

Les origines génétiques des NOH

Le gène *OPA1* a été identifié à Montpellier en 2000. En recherchant l'homologue humain d'une protéine mitochondriale de levure, il a été localisé à l'extrémité du chromosome 3, puis le professeur Christian Hamel et son équipe du CHU de Montpellier ont séquencé ce gène chez 6 familles de patients avec AOD et identifié une mutation causale c.2708_2711delTTAG dans le gène *OPA1*, responsable de cette maladie

C'est une étape très importante d'identifier le gène d'une maladie parce que sans la connaissance du gène responsable, on ne peut envisager de travailler sur cette maladie. Actuellement, sur l'ensemble des patients qui présentent une AOD, on ne peut donner un diagnostic génétique que pour 50 % d'entre eux, pour l'autre moitié, le gène impliqué reste inconnu. Par ailleurs, 80 % des patients qui ont un diagnostic génétique ont une mutation du gène *OPA1*. En 2004, le professeur Pascal Reynier a identifié un nouveau gène,

Article original, Editeur KJER France : rédigé : 02/06/2015; publié : 03/06/2015

OPA3, responsable d'une AOD avec cataracte associée. Aujourd'hui, seuls ces deux gènes ont été publiés pour les AOD. L'effort actuel porte sur la recherche des gènes responsables des 50 % de patients dont le diagnostic génétique n'est pas établi.

L'identification du gène *OPA1* a montré d'emblée que l'AOD était une maladie mitochondriale. Une autre NOH, la maladie de Leber, est également d'origine mitochondriale comme nombre de pathologies fort diverses qui sont aussi causées par des altérations fonctionnelles mitochondriales. Avec le recul, on constate que dans beaucoup de maladies mitochondriales dont les symptômes premiers sont musculaires, visuels, auditifs etc., on trouve souvent, de façon secondaire, une atrophie du nerf optique.

La mitochondrie

Les mitochondries sont des anciennes bactéries sur lesquelles s'est focalisé le projet PREMMi. Elles se trouvent dans le cytoplasme qui entoure le noyau de chaque cellule. Elles ont plusieurs rôles :

- Elles produisent et distribuent l'ATP, l'énergie indispensable à toutes les réactions biologiques. Les mitochondries fournissent, chaque jour, notre propre poids d'ATP. Cette production s'accompagne d'un dégagement de chaleur responsable de notre température corporelle.
- Les mitochondries sont aussi impliquées dans les voies métaboliques. La mitochondrie a gardé des capacités métaboliques de son origine bactérienne. Des acides aminés, des acides gras, des hormones, de l'ADN sont spécifiquement synthétisés dans la mitochondrie. C'est l'objet des recherches conduites actuellement par le Pr Reynier, qui consistent à identifier les métabolites associés à une maladie mitochondriale, et qui pourraient avoir un rôle clé dans la pathologie et son développement.
- Les mitochondries contrôlent l'équilibre entre la vie et la mort des cellules par apoptose. Quotidiennement le corps élimine de façon normale des cellules inutiles, inactives ou endommagées. Il a été démontré qu'en cas de dysfonctionnement mitochondrial, l'équilibre vie/mort est déplacé vers la mort, processus impliqué dans la dégénérescence des neurones ganglionnaires dans l'AOD.

Les mitochondries fonctionnent à partir de la nourriture que nous mangeons, les carbohydrates (CHO) vont servir de carburant essentiel au fonctionnement des

Article original, Editeur KJER France : rédigé : 02/06/2015; publié : 03/06/2015

mitochondries. La « combustion » des carbohydrates nécessite de l'oxygène, que l'on respire à chaque instant de la vie.

Néanmoins, la combustion des carbohydrates s'accompagne de la production de deux types de déchets :

- Du gaz carbonique dont le corps se débarrasse facilement lorsqu'on expire,
- Les réactifs oxygénés (ROS) qui oxydent à la fois les protéines, les membranes, l'ADN. Les ROS peuvent être très toxiques pour les cellules, d'autant plus que leur production est accrue drastiquement par les mitochondries dysfonctionnelles que l'on trouve dans les maladies mitochondriales.

La dynamique des mitochondries

Les mitochondries sont dynamiques: leur structure change. Elles peuvent être petites, avoir une forme sphérique avec un contenu clair, ou plus grandes, avoir une forme tubulaire avec un contenu foncé. Il existe un mécanisme qui coupe les mitochondries (fission) et un mécanisme qui les assemble (fusion). On sait depuis 5 ans environ que ces mécanismes sont extrêmement importants pour le maintien de la fonctionnalité des mitochondries. Depuis 15 ans, on sait que le gène *OPA1* assure la fusion des mitochondries. Lorsqu'*OPA1* est inopérant les mitochondries sont petites, sphériques et claires.

On a trouvé, récemment, dans 3 familles présentant un tableau clinique typique d'AOD, des mutations dans un nouveau gène, *OPA10* dont le rôle est de contrôler la fission des mitochondries, à l'inverse de la fonction d'*OPA1*. Deux gènes qui ont des effets opposés sont donc responsables de la même maladie ! Cela montre qu'en biologie trop et trop peu sont tout aussi toxiques, la normalité du fonctionnement se situe dans une fenêtre très étroite. Dans les AOD, l'équilibre entre fusion/fission, entre *OPA1/OPA10* est au cœur de la pathologie.

Une propriété unique des neurones de la rétine tient au fait que les axones des cellules ganglionnaires (figure 2) ne sont pas myélinisés dans la rétine, les fibres ne sont pas gainées. Par contre, ces mêmes axones deviennent myélinisés après la lame criblée dans le nerf optique. Au microscope électronique, on voit que les mitochondries sont nombreuses, petites, sphériques avec un contenu clair dans la partie non-myélinisée, sans doute parce qu'à cet endroit le transport de l'influx nerveux nécessite plus d'énergie dans

Article original, Editeur KJER France : rédigé : 02/06/2015; publié : 03/06/2015

des fibres non-gainées. Par contre, on voit que les mitochondries sont moins nombreuses, plus grandes, tubulaires et plus foncées dès que les axones sont gainés de myéline. Selon l'endroit, sur le même axone, les mitochondries sont donc différentes.

Le processus de transformation mitochondriale va impliquer la dynamique mitochondriale et des étapes indispensables de fusion et fission. Dans les cellules nerveuses, les mitochondries sont transportées le long de l'axone depuis le noyau jusqu'à la synapse, où elles exercent leur fonction énergisante, puis reviennent vers le noyau pour y être recyclées. En même temps qu'elles se déplacent, les mitochondries se transforment. Donc, pour avoir l'énergie nécessaire pour transporter l'information visuelle de l'œil au cerveau, il y a *OPA1* à l'œuvre dans le processus de fusion dans le sens aller (antérograde) et, sans doute, *OPA10* dans celui de fission pour le retour (rétrograde).

Ceci a pu être vérifié sur une souris porteuse d'une mutation d'*OPA1*. On s'aperçoit qu'effectivement dans la partie myélinisée de l'axone, les mitochondries n'ont pas la structure attendue (grandes, tubulaires, foncées), mais celle de la partie non-myélinisée (petites, sphériques, claires). Qu'en sera-t-il dans la souris *OPA10* ?

Les traitements des Neuropathies Optiques Héréditaires (NOH)

Dans le domaine des thérapies géniques, depuis 4 ans, à Montpellier, des essais ont eu lieu avec un vecteur thérapeutique pour injecter le gène *OPA1* à une souris mutante pour ce gène. Les résultats ne sont pas très probants, probablement du fait que si on exprime trop *OPA1* on va induire trop de fusion, ce qui est similaire à un défaut d'*OPA10*, donc toxique. Il faut de ce fait respecter un équilibre très subtil entre fusion et fission, difficile à reproduire par une démarche de thérapie génique classique de surexpression d'un gène.

Pour contourner cet écueil, une nouvelle méthode est actuellement développée à Angers. Plutôt que d'apporter un « complément » extérieur au gène muté, on cherche à corriger le transcrit codé par le gène. Ce sont des manipulations très complexes et délicates. Il faut d'abord établir la preuve de principe au niveau moléculaire et cellulaire, avant de pouvoir la transférer et la tester chez l'animal. La recherche menée, soutenue par le projet PREMMi, porte actuellement sur la construction de ces nouveaux vecteurs thérapeutiques, dont il faudra tester la validité au niveau cellulaire, avant de rentrer dans des phases pré-cliniques.