

## INFO-RECHERCHE...

### Ataxie de Friedreich: Nouveaux développements et perspectives

par Dr. Massimo Pandolfo

*Depuis 1996, le Dr. Pandolfo est professeur adjoint au département de neurologie et de neurochirurgie et professeur associé de recherche au département de médecine de l'université McGill à Montréal, au Canada. En 1996 le Dr. Pandolfo, en collaboration avec d'autres chercheurs, a découvert le gène de l'ataxie de Friedreich.*

Je vais essayer de présenter sommairement où nous en sommes dans nos recherches pour comprendre les causes de l'ataxie de Friedreich (AF) et de vous donner un aperçu de la direction que prend la recherche et de ce que nous prévoyons découvrir dans les prochaines années.

C'est en 1863 que le professeur Nicolas Friedreich, professeur de médecine à Heidelberg en Allemagne, a décrit la maladie. Les chercheurs et les cliniciens possédaient une description détaillée du tableau clinique de cette maladie, mais ils n'en connaissaient pas la cause. Tout ce que nous savions était que la maladie était héréditaire, selon un mode d'hérédité récessive. Nous n'avions pas d'idée de ce qu'était le gène, de quelle protéine il contenait l'information et pour quelle raison les gens atteints développaient des symptômes. En 1996, nous avons finalement identifié le gène de l'AF, c'est-à-dire le segment d'ADN contenant l'information génétique qui est anormale chez les gens qui ont la maladie.

Le gène est situé sur le chromosome 9 et contient l'information nécessaire à la fabrication d'une protéine appelée frataxine. La fonction de la frataxine n'a pas pu être déterminée au moment où le gène a été cloné. La première découverte, après la découverte du gène, a été la compréhension de l'anomalie au niveau de l'ADN. Nous avons trouvé que la majorité des individus qui ont l'AF sont porteurs d'une expansion instable d'une répétition d'un trinuécléotide, soit un nombre excessif de répétitions d'une séquence d'ADN compulsée de trois unités (GAA). Le trinuécléotide GAA, au lieu d'être répété moins de 40 fois comme c'est le cas sur un chromosome normal, est répété entre 100 et 700 fois et parfois plus de 1,000 fois. Depuis, nous avons appris qu'un nombre excessif de répétitions ne cause pas la production d'une protéine anormale comme c'est le cas dans toutes les ataxies dominantes, mais cause plutôt une déficience en protéine normale. Le fait d'avoir trop de répétitions fait que le patient atteint d'AF fabrique en petite quantité une protéine dont il a besoin en quantité beaucoup plus grande. La taille et la séquence d'acides aminés de la frataxine sont parfaitement normales chez le patient, il en a simplement trop peu. C'est la conséquence de l'expansion.

Nous avons également réalisé durant les 3 ans qui ont suivi la découverte du gène que cette expansion d'un trinuécléotide expliquait au moins en partie la variabilité clinique observée dans l'AF. L'âge de début, la vitesse de progression et la sévérité et l'étendue de neurones les plus sévèrement atteints. Ce sont les mêmes neurones sensitifs responsables

du sens de position qui est très atteint dans cette maladie. Le coeur, qui fabrique normalement de plus grandes quantités de frataxine que les autres organes du corps, est atteint par la maladie. Nous devons garder ceci à l'esprit quand nous essayons de comprendre les conséquences d'un déficit en frataxine. Les cellules fabriquent des quantités différentes de frataxine. Elles ne sont donc pas également sensibles à un déficit en frataxine.

L'autre découverte importante est la localisation de la frataxine dans la structure cellulaire, c'est-à-dire dans quelle structure à l'intérieur de la cellule se retrouve la frataxine. Nous et d'autres chercheurs avons réalisé plusieurs expériences qui confirment toutes que la frataxine est fabriquée dans les mitochondries. Que sont les mitochondries? Ce sont des milliers de petites structures à l'intérieur de chaque cellule de notre corps. Ce sont les génératrices d'énergie de la cellule. Les mitochondries sont les structures de la cellule où se produit une réaction chimique très importante appelée la respiration cellulaire. C'est l'endroit où les composés chimiques provenant de la nourriture que nous mangeons sont brûlés pour générer l'énergie. Les molécules qui proviennent des aliments et l'oxygène sont combinés pour produire de l'énergie dans les mitochondries. La frataxine est localisée dans la structure qui génère l'énergie et qui brûle les aliments pour produire l'énergie.

Quelle est la fonction de la frataxine à l'intérieur des mitochondries? L'élucidation de ce problème était tout un défi. Elle ne ressemblait à aucune des protéines dont nous connaissions la fonction. Cependant, le fait que nous avons réalisé que tous les organismes vivants fabriquent une protéine qui ressemble à la frataxine nous a aidés: les souris, les mouches à fruits, les vers et la levure de boulanger. La levure de boulanger fabrique une protéine qui est presque identique à la frataxine humaine et est localisée dans les mitochondries de la levure. Le fait que la levure fabrique une protéine identique à la frataxine est un atout précieux parce qu'il est plus facile de faire des manipulations génétiques chez la levure que chez la souris.

Certains chercheurs, dont le Dr. Jerry Kaplan de l'Université du Utah, ont produit des cellules de levure qui ne contiennent pas de frataxine. La chose la plus frappante à propos de ces cellules qui n'ont pas de frataxine est la perturbation sévère du métabolisme du fer. Ces cellules de levure incorporent beaucoup plus de fer que les cellules normales de levure et l'excès de fer incorporé par les cellules se retrouve dans les mitochondries. La conséquence d'un excès de fer dans les mitochondries rend les cellules très sensibles au stress oxydatif.

Dans les mitochondries, l'oxygène circule à travers les complexes protéiques appelés complexes de la chaîne respiratoire. Une petite quantité d'oxygène qui circule à travers ces complexes dans les membranes mitochondriales peut former ce que nous appelons des radicaux libres. Ceci peut entraîner la formation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans les mitochondries et le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> réagit avec le fer pour former le radical hydroxyle. On sait que le radical hydroxyle est une substance qui endommage les protéines mitochondriales, les membranes et l'ADN. Le fait d'avoir trop de fer dans les mitochondries n'est pas désirable. Après avoir fait cette étude initiale chez la levure, il était extrêmement important de voir si nous pouvions

trouver quelque chose dans la maladie chez l'humain qui indiquait que la situation était la même. Les données actuelles montrent que la situation est vraisemblablement la même dans la maladie chez l'humain. Si nous faisons une coloration pour le fer sur des tissus du coeur provenant de patients atteints d'AF, nous retrouvons des dépôts de fer. Cette constatation avait été faite il y a environ 20 ans par un neuropathologiste Canadien. Cependant, à cette époque, on ne pouvait pas interpréter cette observation. Dans les tissus atteints comme le coeur, nous observons des dépôts de fer comme ceux qui sont présents dans le modèle de la levure. Ces dépôts de fer se retrouvent dans le coeur des patients atteints d'AF, mais pas dans le coeur de patients qui ont tout autre type de maladie du coeur. C'est une observation spécifique à la maladie. Nous observons une distribution anormale du fer, trop de fer dans les mitochondries et probablement pas assez de fer à l'extérieur des mitochondries, plutôt qu'une accumulation généralisée.

Dans les années 60, une étude a été faite par un neurologue Hongrois dans laquelle il injectait du fer radioactif chez des patients atteints de différentes maladies neurologiques. Il s'est aperçu que le fer est retenu en plus grande quantité dans le cerveau de patients atteints d'AF que dans celui de patients atteints d'autres maladies ou d'individus normaux. C'était un autre indice enfoui dans la littérature médicale. Il y a quelque chose d'anormal dans le métabolisme du fer chez les patients atteints d'AF. Les tissus non affectés comme les muscles squelettiques ne présentent pas d'accumulation de fer dans cette maladie.

Ceci signifie qu'il s'agit d'un processus spécifique affectant les tissus. Le fer s'accumule-t-il réellement dans les mitochondries? Nous avons des données récentes très excitantes qui démontrent que, dans le coeur de patients atteints d'AF, il y a une accumulation de matériel qui a toutes les caractéristiques du fer dans les mitochondries, mais nous ne voyons pas cela dans les mitochondries du coeur d'autres personnes qui ont toute autre maladie cardiaque. C'est très spécifique à l'AF. Nous avons commencé à recueillir des observations selon lesquelles l'accumulation de fer dans les mitochondries se retrouve dans les tissus affectés par la maladie chez les patients souffrant d'AF. Nous étendons présentement cette étude à des échantillons de tissus nouveaux.

Une légère augmentation du fer mitochondrial peut être observée dans des cellules qui ne sont pas atteintes par la maladie comme les cellules de la peau. Quelles sont les conséquences d'un excès de fer dans les mitochondries? La conséquence spécifique est que certaines enzymes mitochondriales qui ont un centre contenant du sulfure de fer sont inactivés par un excès de fer. Ceci entraîne une dysfonction de la chaîne respiratoire et une perte d'énergie au niveau des cellules. De plus, ceci cause une hypersensibilité des cellules aux agents oxydants et les cellules atteintes meurent. Nous pensons que la déficience en frataxine provoque une augmentation du fer mitochondrial et ceci provoque une augmentation de la production de radicaux libres et des dommages aux mitochondries. D'une part, ceci provoque un manque d'énergie et les cellules n'ont pas assez d'énergie pour fonctionner adéquatement. Ceci peut provoquer la mort de fibres nerveuses tant dans les nerfs périphériques que dans la moelle épinière. D'autre part, les dommages aux mitochondries peuvent déclencher directement un processus appelé mort cellulaire programmée ou suicide cellulaire.

Ceci peut être le mécanisme sous-jacent à la perte de cellules que nous observons dans le cœur et dans certaines parties du système nerveux central, il est important de dire que nous avons des données sur ce processus dans les cellules en culture au laboratoire, mais que nous n'avons pas d'évidence que ce processus est en cause chez les patients. C'est un objectif de la recherche dans l'avenir.

Nous aimerions avoir un modèle animal de l'AF et il y a présentement 7 ou 8 approches différentes qui sont à l'essai pour générer un modèle de souris AF. Nous espérons que d'ici quelques mois ou un an nous y arriverons.

Deuxièmement, l'idée que les patients ont trop de fer dans les mitochondries suggère des traitements possibles à essayer pour ralentir la progression de la maladie. Il sera difficile de retirer l'excès de fer parce que le fer est séquestré dans les structures où les agents chélateurs qui sont présentement disponibles ne peuvent pas pénétrer efficacement. Nous pouvons essayer ce que nous appelons des antioxydants pour tamponner une partie des radicaux libres qui sont produits dans cette maladie. Parmi les antioxydants utilisés en laboratoire, les dérivés du co-enzyme Q semblent être les plus efficaces pour limiter la toxicité du fer pour les structures mitochondriales. Quelques groupes de recherche comme le groupe Français tentent d'évaluer cette substance par un essai thérapeutique contrôlé chez des patients et nous projetons de faire une étude similaire à Montréal. Nous nous attendons à un ralentissement dans la progression de la maladie tel que suggéré par les données préliminaires. Cet effet pourrait être limité et transitoire. Il ne faut donc pas y mettre trop d'espoir. Ce qui est important est que même si le premier traitement que nous essayons ne résout pas le problème, nous commençons à comprendre le processus de la maladie, ce qui nous permettra à l'avenir d'identifier des cibles possibles pour des essais thérapeutiques chez les patients. Ceci constitue une révolution importante depuis que le gène a été cloné.

“Eldorado” automne 2000