

Ataxie de Friedreich : 3 ans après l'identification du gène, un premier espoir d'enrayer le cours de la maladie

L'ataxie de Friedreich est la plus fréquente des ataxies héréditaires humaines. C'est une maladie neuro-dégénérative autosomique récessive touchant environ une personne sur 50 000, soit 1 500 à 2 000 personnes actuellement en France. L'atteinte neurologique s'accompagne dans une majorité des cas d'une atteinte cardiaque qui peut se révéler fatale. En 1996, le gène responsable de l'ataxie de Friedreich était identifié par un travail collaboratif entre les équipes française et canadienne de Michel Koenig et Massimo Pandolfo [1]. Ces équipes ont montré pour la première fois dans une maladie génétique autosomique récessive la responsabilité d'une expansion de triplets dans un gène, celui codant pour la frataxine. L'expansion présente dans le premier intron du gène est retrouvée chez la quasi-totalité des patients et varie de 150 à 1 000 chez les malades contre 7 à 25 dans la population normale. L'expansion entraîne une diminution quantitative du messenger de la frataxine résultant en une perte de fonction de la protéine.

En 1997, soit un an plus tard, plusieurs équipes travaillant sur la levure *Saccharomyces cerevisiae* concluaient à la localisation mitochondriale de la frataxine, montrant en outre que la perte de fonction de la protéine entraînait une accumulation anormale de fer dans la matrice mitochondriale [2-4]. A la même époque, nous montrions l'existence d'un déficit généralisé des protéines fer-soufre mitochondriales dans des biopsies endomyocardiques de jeunes patients [5, 6]. En revanche, de façon surprenante, ni les lymphocytes, ni les fibroblastes, ni même le muscle squelettique des patients ne présentaient d'atteintes biochimiques, cela

expliquant que l'origine mitochondriale de l'ataxie de Friedreich soit restée si longtemps méconnue. Nous complétons alors ce travail en montrant qu'un déficit identique existait chez les mutants de levure, accompagné en outre d'autres atteintes des enzymes de la chaîne respiratoire mitochondriale [5].

Il reste encore à déterminer la fonction de la frataxine : dans un premier temps, l'accumulation du fer observée dans la mitochondrie suggérait que la frataxine puisse jouer un rôle

dans le contrôle du transport du fer dans les mitochondries [3-5]. L'accumulation anormale de fer intramitochondrial, conduisant à une production de superoxydes, pouvait expliquer une destruction secondaire des protéines fer-soufre dont on sait qu'elles sont particulièrement sensibles aux anions superoxydes. Néanmoins, d'autres hypothèses peuvent également être envisagées qui pourraient rendre compte de façon également convaincante du phénotype biochimique. Ainsi selon une seconde hypothèse, la frataxine pourrait agir directement ou indirectement sur le contrôle des radicaux libres dans les mitochondries, perturbant ainsi secondairement l'homéostasie intramitochondriale du fer et entraînant la destruction des protéines fer-soufre. De ce point de vue, il est intéressant de noter que le déficit héréditaire en α -tocophérol, substance anti-oxydante qui est naturellement présente dans les membranes mitochondriales, entraîne une maladie qui ne se distingue pas cliniquement de l'ataxie de Friedreich. Enfin, selon une dernière hypothèse, la frataxine pourrait intervenir plus ou moins directement dans la synthèse des protéines fer-soufre. Cette fois, le fer ne pouvant s'intégrer dans ces protéines, du fait de la perte de fonction de la frataxine, s'accumulerait anormalement dans la matrice mitochondriale. Ce mécanisme expliquerait parfaitement le déficit très spécifique des protéines fer-soufre, alors que le reste des composants de la mitochondrie ne semble pas être significativement dégradé, au moins dans les étapes initiales de la maladie chez l'homme. En accord avec cette dernière hypothèse, des travaux

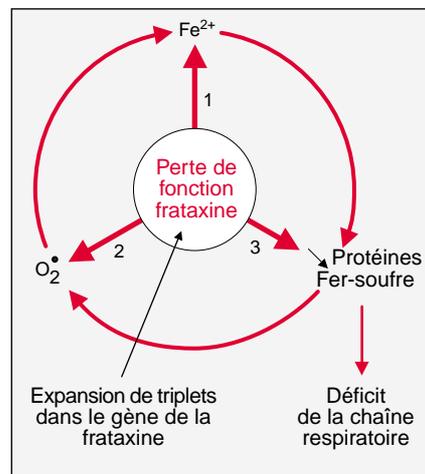
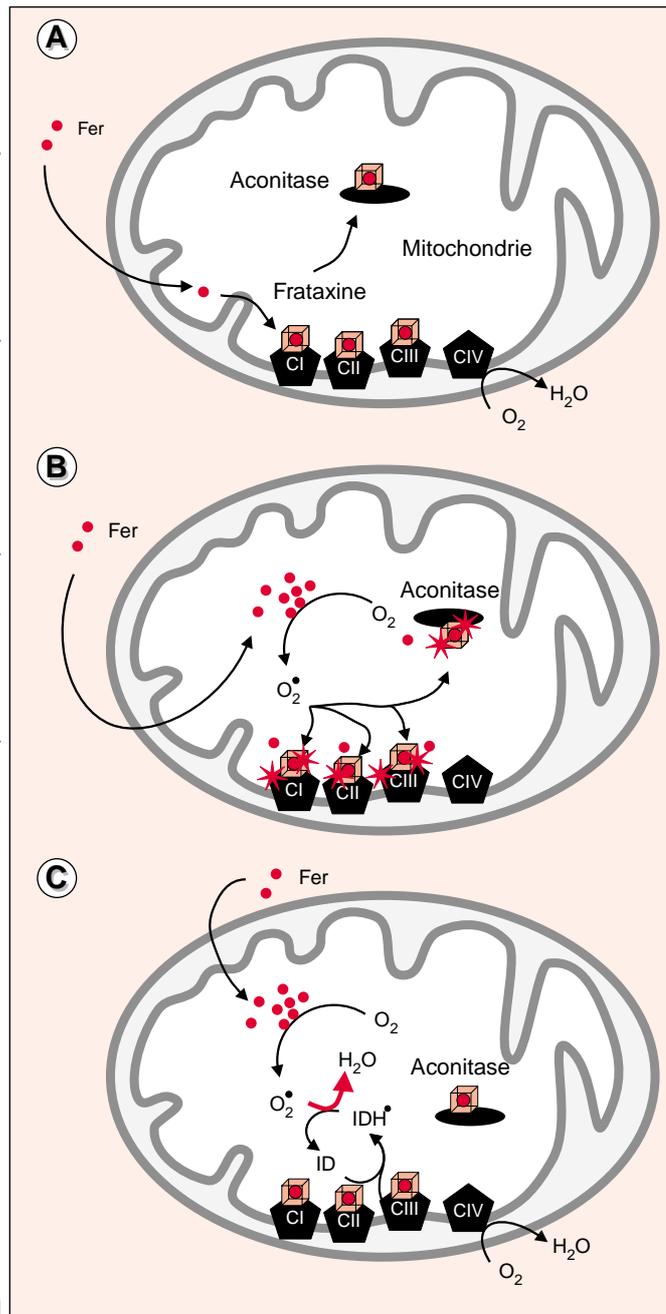


Figure 1. **Les différentes hypothèses actuelles concernant le rôle de la frataxine dans les mitochondries.** 1. La frataxine contrôle les mouvements du fer à travers les membranes mitochondriales. 2. La frataxine exerce un effet anti-oxydant. 3. La frataxine intervient dans la synthèse des protéines fer-soufre. Les trois hypothèses résultent toutes en l'accumulation anormale de fer, la surproduction d'anions superoxydes et la destruction des protéines fer-soufre.

récents, toujours réalisés sur la levure, montrent que des levures délétées pour Yfh1, l'homologue de la frataxine, cultivées dans un milieu dont le contenu en fer est contrôlé, présentent toujours un déficit en protéines fer-soufre sans que l'on observe d'accumulation excessive de fer dans les mitochondries [7]. De fait, il est actuellement difficile de conclure quant au mécanisme primaire d'action de la frataxine. Le schéma de la *figure 1* résume le cycle qui relie ces trois différentes hypothèses et qui, dans tous les cas de figure, conduit à une accumulation de fer, à une perte de protéines fer-soufre et à la surproduction d'anions superoxydes.

C'est sur cette base que nous avons recherché des substances susceptibles d'interrompre un tel cycle, quel qu'en soit le mécanisme primaire. Pour ce faire, nous avons utilisé un système *in vitro* (un homogénat de cœur humain) dans lequel la manipulation des quantités de fer nous permettait d'induire une destruction des protéines fer-soufre identique à celle qui était observée *in vivo*. Nous avons conclu que ceux des agents anti-oxydants qui, telle la vitamine C, pouvaient réduire le fer, en augmentaient encore la toxicité. Si les agents chélateurs hydrosolubles du fer (EDTA, desferral) protégeaient bien les composés membranaires, ils entraînaient en revanche, en déplaçant le fer des membranes vers la phase aqueuse, une destruction massive des protéines fer-soufre solubles et, à ce titre, ne constituaient pas des agents très prometteurs pour un traitement futur de la maladie. Dès lors, nous nous sommes attachés à identifier des agents antioxydants susceptibles d'être fournis oxydés – donc de ne pas réduire le fer – et d'être ultérieurement réduits *in situ* et exercer ainsi une action anti-oxydante effective vis-à-vis des superoxydes. Cela nous a conduits à tester différents analogues de l'ubiquinone, qui, une fois réduits par la chaîne respiratoire, peuvent effectivement exercer une action anti-oxydante. Il est ainsi apparu possible de protéger tant les enzymes membranaires que les enzymes solubles dans notre système *in vitro*. Dès lors, certains de ces ana-

Figure 2. Physiopathologie de l'ataxie de Friedreich et protection de la chaîne respiratoire par l'idébénone. **A.** Dans la mitochondrie normalement fonctionnelle, la frataxine participe à l'utilisation du fer pour construire les complexes (CI, CII, CIII) de la chaîne respiratoire, ainsi que l'aconitase (une autre protéine fer-soufre). Le fer ne s'accumule pas. **B.** Dans les mitochondries malades, la frataxine manque, le fer s'accumule anormalement et provoque la formation de radicaux libres (O_2^{\cdot}) et la destruction des complexes de la chaîne respiratoire. **C.** L'idébénone (ID) protège la chaîne respiratoire de l'action des radicaux libres (flèche rouge).



logues étant disponibles à l'étranger sous forme médicamenteuse et ne présentant pas d'effets nocifs connus chez l'homme, nous avons traité quelques patients avec un de ces composés, l'idébénone, un analogue à chaîne courte de l'ubiquinone. Le traitement – la prise de trois comprimés par jour (5 mg/kg/j) – s'est révélé avoir un effet très spectaculaire sur l'hypertrophie cardiaque

chez les trois patients (1 enfant et deux jeunes adultes), puisque après seulement quelques mois de traitement (4-9 mois), une réduction de l'ordre de 30 % à 40 % de l'épaisseur des parois initialement hypertrophiées a pu être observée [8]. En outre, l'amélioration de l'état général des patients et du contrôle des mouvements fins laisse aussi espérer une action plus large, en particulier

sur l'état neurologique, avec un temps de traitement plus long.

A la suite de cet essai préliminaire, un essai thérapeutique ouvert incluant plus de cinquante patients, enfants et adultes, a démarré en avril 1999 pour une période de deux années. Mais déjà, après trois mois de traitement, les résultats des études cardiaques réalisées chez 10 premiers enfants montrent, pour 8 d'entre eux, une diminution très conséquente de l'hypertrophie, confirmant ainsi les espoirs suscités par l'essai préliminaire réalisé chez les 3 patients. Cela devra aussi amener rapidement la mise en œuvre des moyens nécessaires à la reprise de la production de l'idébénone, puisque cette substance, jusqu'à présent préparée uniquement par la firme Takeda au Japon, n'est, d'après les informations dont nous disposons, désormais plus fabriquée par cette firme.

Il n'aura ainsi fallu que 3 ans pour trouver une première voie vers le

traitement de cette affection génétique. Il s'agit là d'une retombée directe des fantastiques progrès réalisés ces dernières années dans le décryptage des gènes humains, puisque partant de l'identification du gène en cause et de l'établissement du mécanisme physiopathologique de la maladie.

1. Campuzano V, Montermini L, Molto MD, *et al.* Friedreich's ataxia: autosomal recessive disease caused by an intronic GAA triplet expansion. *Science* 1996; 271: 1423-7.
2. Babcock M, de Silva D, Oaks R, *et al.* Regulation of mitochondrial iron accumulation by Yfh1p, a putative homolog of frataxin. *Science* 1997; 276: 1709-12.
3. Foury F, Cazzalini O. Detection of the yeast homologue of the human gene associated with Friedreich's ataxia elicits iron accumulation in mitochondria. *FEBS Lett* 1997; 411: 373-7.
4. Wilson RB, Roof DM. Respiratory deficiency due to loss of mitochondrial DNA in yeast lacking the frataxin homologue. *Nat Genet* 1997; 16: 352-7.
5. Rötig A, de Lonlay P, Chretien D, *et al.* Frataxin expansion causes aconitase and mitochondrial

iron-sulfur protein deficiency in Friedreich ataxia. *Nat Genet* 1997; 17: 215-7.

6. Rötig A, Munnich A, Rustin P. Ataxie de Friedreich et mitochondrie : le puzzle reconstitué. *Med Sci* 1998; 14: 104-5.

7. Foury F. Low iron concentration and aconitase deficiency in a yeast frataxin homologue deficient strain. *FEBS Lett* 1999; 456: 281-4.

8. Rustin P, von Kleist-Retzow JC, Chantrel-Groussard K, Sidi D, Munnich A, Rötig A. Effect of idebenone in Friedreich's ataxia: a preliminary study. *Lancet* 1999; 354: 477-9.

Pierre Rustin
Jürgen-Christoph von Kleist-Retzow
Karine Chantrel-Groussard
Daniel Sidi
Arnold Munnich
Agnès Rötig

Unité de recherches sur les handicaps génétiques de l'enfant, Inserm U. 393, Hôpital des Enfants-Malades, 149, rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15, France.

Cours de Biologie Moléculaire de la Cellule

Enseignement pratique

13 mars - 14 avril 2000

Ce cours, conjointement organisé par l'Institut Pasteur et l'Institut Curie, se déroulera du 13 mars au 14 avril 2000 à plein temps, à l'Institut Pasteur à Paris. Il est destiné à des chercheurs du secteur public et privé, ayant une formation des facultés de sciences, de médecine, de pharmacie ou des écoles vétérinaires. Les candidats doivent avoir une bonne connaissance, niveau maîtrise, en biologie moléculaire. Les techniques de base de biologie moléculaire ne seront pas enseignées (exemple : clonage, séquençage de gènes, etc.). Ce cours donne lieu à un diplôme de l'Institut Pasteur suite à un examen qui se déroulera à la fin du mois d'avril.

Le thème central de ce cours concerne l'étude de la cellule eucaryote. Cet enseignement est très orienté vers l'initiation expérimentale, et fera une large place aux nouvelles techniques ainsi qu'à la démarche scientifique actuelle pour l'étude des fonctions cellulaires. Les travaux pratiques seront accompagnés de conférences théoriques sur les thèmes suivants :

- Organisation fonctionnelle de la cellule : compartiments membranaires, cytosquelette, polarité cellulaire.
- Les routages intracellulaires : transport des protéines membranaires et sécrétées, endocytose des macromolécules.
- Les contacts et la communication entre cellules.
- La différenciation cellulaire.
- La signalisation et la transduction des messagers cellulaires.
- Le cycle cellulaire.

Les techniques mises en œuvre seront celles de l'analyse génétique, la transfection et l'expression de gènes clonés, la culture cellulaire, la reconstitution in vitro des fonctions cellulaires, la visualisation des constituants cellulaires y compris par les techniques les plus récentes de microscopie confocale et d'imagerie.

Avec la participation de : Ch. Babinet, M. Bornens, P. Bregestovski, R. Bruzzone, P. Cossart, A. Dautry-Varsat, F. Dautry, M. Dubois-Dalq, S. Dufour, E. Fabre, B. Goud, B. Hoflack, C. Hopkins, L. Johannes, E. Karsenti, D. Louvard, P. Mangeat, U. Nehrbass, J.-C. Olivo, J. Pouysségur, J.-P. Thiéry et M. Weiss. Les cours théoriques seront assurés par des enseignants français et européens.

Responsables du cours : A. Dautry-Varsat et D. Louvard.

Renseignements et Inscriptions, date limite le 1^{er} décembre 1999

Mme Banisso, Secrétariat des Enseignements et des Stages
Institut Pasteur, 28, rue du Dr-Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.
Tél. : 01 45 68 81 41 ou 01 40 61 33 62 – Fax : 01 40 61 30 46
E-mail : rbanisso@pasteur.fr