

Cours n° 2 : UE bio cellulaire :  
Les maladies mitochondriales :

I. Les mitochondries :

Il y a 100 à 10 000 mitochondries par cellule. Elles possèdent 2 membranes, et donc deux compartiments (plastiques et mobiles).

Les conséquences d'un déficit de la chaîne respiratoire est une diminution de la synthèse d'ATP et une augmentation des produits de l'oxygène. Ceci entraîne une peroxydation lipidique, des mutations de l'ADN, et une oxydation des protéines.

Une maladie mitochondriale correspond à chaque défaut enzymatique ou fonctionnel qu'atteint les mitochondries, ou chaque défaut de la chaîne respiratoire.

II. La chaîne respiratoire mitochondriale :

Le métabolisme énergétique des cellules s'organise autour du cycle de Krebs.

Le transfert d'électrons à l'oxygène est fortement exergonique.

La synthèse d'ATP est couplée au flux d'électrons :

- Oxydation de 1 mole de  $\text{NADH}_2 \rightarrow 3 \text{ ATP}$
- Oxydation de 1 mole de succinate  $\rightarrow 2 \text{ ATP}$

III. L'ADN mitochondriale (ADN<sub>mt</sub>) :

Il comprend : 13 protéines, 22 ARNt et 2 ARNr, soit 37 gènes.

C'est une molécule circulaire bicaténaire dont 95% est codant. D'ailleurs, il n'y a pas d'introns et les gènes sont parfois chevauchants.

Il y a un brin H (heavy) riche en G et T, et un brin L (light) riche en C et A.

La séquence est entièrement connue

Le rôle de l'ADN<sub>mt</sub> : entièrement dévolu à la chaîne respiratoire et en partenariat avec le génome nucléaire.

L'ADN<sub>mt</sub> assure la transmission d'une information restreinte mais essentielle pour la constitution de la chaîne respiratoire. Le maintien de cet ADN est probablement lié au caractère très hydrophobe des protéines codées, difficilement importables dans le cytoplasme.

N.B : Pour ce qui est de la chaîne respiratoire, il y a une double origine génétique (mitochondriale et nucléaire) des sous-unités de ses complexes.

Quelques différences fondamentales entre l'ADN<sub>mt</sub> et l'ADN nucléaire :

Caractéristique	ADN nucléaire	ADN mitochondrial
Élément de base	Lots de 23 chromosomes	Molécule circulaire
Nombre de copies	2 X 23 chromosomes	De l'ordre du millier
Quantité absolue dans une cellule	5-6pg	0,045 pg
Nombre de gènes de protéines	~ 30 000	13
Transmission entre générations	Biparentale avec empreinte parentale	Uniparentale maternelle
Recombinaisons des génomes parentaux dans les lignées germinales	Oui, lors du stade pachytène de la prophase I	Non, impossible ou extrêmement rare
Transmission lors des divisions cellulaires	Etroitement contrôlée (lot de chromosomes strictement identiques pour chaque cellule fille)	Contrôlée de façon lâche (dérive de proportion des espèces possible en cas d'hétéroplasmie)
Code génétique	« universel »	spécifique

➤ Réplication :

Le nombre de copies est très variable d'un type cellulaire à l'autre (ex : cellules sanguines -> qq centaines // ovocytes -> 300 000)

De plus, la durée de vie des copies est très variable (ex : demi-vie plus courte dans le cœur que dans le cerveau). En effet, le renouvellement est constant pour des vitesses et des périodes variables selon l'action des effecteurs nucléaires.

La réplication a lieu pendant l'interphase, sans synchronisation avec la division cellulaire. Il y a deux origines de réplication distinctes : OH et OL. Et la réplication est asynchrone, c'est-à-dire qu'il y a synthèse du brin lourd jusqu'au 2/3, puis synthèse du brin léger.

➤ Transcription :

La transcription est polycistronique, bidirectionnelle et indépendante de chaque brin par une ARN polymérase non spécifique.

- mtTFA permet la synthèse de l'amorce ARN destiné à la réplication du brin lourd (LSP) et active la transcription à partir de ce dernier. La synthèse d'ARN est continue à partir de chaque promoteur : on obtient de grands transcrits ARN primitifs polycistroniques.
- Des endonucléases de types RNase P clivent les grands transcrits : on obtient des ARNt, ARNm et ARNr.

➤ Traduction :

Elle ressemble à celle des bactéries. Les mitoribosomes sont situés dans la matrice (~100 par mitochondries) et sont très petits.

Le code génétique est différent pour permettre le confinement de l'expression des gènes mitochondriaux.

L'intensité de traduction est réglée par des facteurs cytoplasmiques.

#### IV. Transmission lors de fécondation et répartition tissulaire :

La transmission de l'ADN $mt$  est une hérédité uniparentale maternelle. En effet, il y a 300 000 copies maternelles transmises par l'ovocyte (transmission à la descendance). Les quelques centaines de copies paternelles introduites dans le zygote par le spermatozoïde seront dégradées par un mécanisme actif (pas de transmission à la descendance : notion d'impatte génétique). Cependant, on note un cas publié de transmission paternelle avec subsistance d'ADN $mt$  paternel restreinte au muscle. La controverse subsiste...

#### V. Mutation de l'ADN $mt$ :

Homoplasmie/hétéroplasmie :

- Homoplasmie sauvage : aucune des molécules d'ADN $mt$  d'une cellule n'est mutée.
- Hétéroplasmie : mutations dans une partie des molécules d'ADN $mt$  d'une cellule. Il y a donc coexistence dans une même mitochondrie ou dans une même cellule d'ADN $mt$  sauvages et d'ADN $mt$  mutés.
- Homoplasmie mutée : mutations dans toutes les molécules d'ADN $mt$  d'une cellule

Concernant l'hétéroplasmie :

Etant donné qu'il y a une ségrégation aléatoire des mitochondries lors des mitoses et des méioses, il y a existence de ce phénomène d'hétéroplasmie.

Les pourcentages de mutation sont donc variables d'une cellule à l'autre, d'un tissu à l'autre. De plus, cette répartition évolue avec l'âge.

Il existerait une relation entre le pourcentage d'ADN $mt$  muté et la sévérité de la pathologie (notion de seuil).

Sensibilité aux mutagènes :

Le taux de mutation dans l'ADN $mt$  est 10 fois supérieur à l'ADN nucléaire. En effet, il n'y a pas d'histones protectrices et l'ADN $mt$  est très exposé aux ions superoxydes mutagènes (stress oxydant). De plus, il n'existe pas de protéines réparatrices, mais des processus plus complexes et de moindre efficacité.

Hérédité des maladies mitochondriales :

- Maternelle : mutations ponctuelles de l'ADN $mt$
- Sporadique : délétion simple de l'ADN $mt$
- Autosomique dominante : dû à l'altération de gènes nucléaire de maintenance
- Autosomique récessive : déficit en SDH, COX...
- Liée à l'X

#### VI. Polymorphisme de l'ADN $mt$ :

Il y a de très nombreux polymorphisme : 1/28pb.

Etant donné qu'il n'y a pas de recombinaison de l'ADNmt, un polymorphisme définit un branchement et des haplogroupes.

Haplogroupes : combinaisons spécifiques de polymorphisme nucléotidiques qui reflètent l'évolution des populations.

On a ainsi pu, grâce à ses haplogroupes, décrire la migration des premières populations après la naissance de l'être humain en Afrique.

## VII. Exploration des déficits de la chaîne respiratoire :

### ➤ Examen clinique spécialisé

### ➤ Exploration morphologique :

- Histochimie et histoenzymologie : coloration au trichrome de Gomori, activité succinate déshydrogénase (SDH), activité cytochrome oxydase (COX).
- Analyse structurale et ultra-structurale : ex : MELAS avec mitochondries bien organisées parallèlement comme dans un garage

N.B : Dans le muscle, les mitochondries ont tendance à se placer en sous-sarcomique lorsqu'elles sont pathologiques.

### ➤ Exploration biochimique :

- Lactatémie, corps cétoniques... s'accumulent dans les maladies mitochondriales (pédiatrie surtout). On peut réaliser leur dosage également lors d'épreuves dynamiques (test d'effort, analyse postprandiale)
- Enzymologie de la chaîne respiratoire :
  - Analyse globale : oxygraphie avec du tissu frais (mitochondries, fibres perméabilisées) : on met des substrats et on observe leur diminution au cours du temps par rapport à un témoin.
  - Analyse des complexes isolés : enzymologie sur homogénat enrichi avec une biopsie congeléeInterprétation : valeurs de référence et valeurs absolues vs ratio
- Immuno-détection :
- Dosage d'exclusion : profil des acylcarnitines sériques et de la carnitine et analyse des isoforme de la Tf.
- Autres : dosages urine

### ➤ Exploration de génétique moléculaire :

- ADN<sub>mt</sub> vs ADN nucléaire : les mutations nucléaires se retrouvent dans toutes les cellules et peuvent donc être diagnostiquées par une prise de sang, tandis que les mutations mitochondriales ne se retrouvent pas dans toutes les cellules.
- Mutations ponctuelles : des gènes de structure, d'assemblage ou d'import des s.u ou de maintenance : on recherche celles répertoriées et les nouvelles (séquençage, criblage)
- Réarrangements : duplication et délétions avec analyse par Southern Blot et par PCR « longue distance ».
- Déplétions : spontanées ou induites (médicament antirétroviraux, par exemple) avec analyse par Southern Blot ou par PCR quantitative

N.B : L'ADN<sub>mt</sub> code pour les complexes I, III, IV et V (pas le complexe II).

➤ Exploration par RMN :

➤ Explorations par analyse globale :

- Transcriptome
- Protéome
- Métabolome

Séparation et identification des espèces protéiques (électrophorèse 2D/analyse massique/séquençage)

VIII. Aspects génétiques des maladies mitochondriales :

CLASSIFICATION GENETIQUE		
Défaut ADN nucléaire	Défaut ADN mitochondrial	Défaut ADN mitochondrial Zaire
Différentes s.u Facteurs d'assemblage Synthèse protéique	Qualitative : - Mutations ponctuelles - Délétions isolées/duplications - Délétions multiples Quantitative : - Déplétion	
Autosomique dominant Autosomique récessive Lié à l'X	Deux premières ci-dessus : Hérédité maternelle/sporadique Deux dernières ci-dessus : Secondaire à anomalie de l'ADN <sub>mt</sub>	

DEFAUT DE LA CHAINE RESPIRATOIRE MITOCHONDRIALE	
DEFAUTS ISOLEES	DEFAUT COMBINES
- Mutation d'un gène codant pour une seule s.u protéique - Mutation d'un gène codant pour un facteur d'assemblage	- Mutations ARNt - Mutations ARNr - Délétions larges - Déplétion ADN <sub>mt</sub> - Défaut dans des gènes impliqués dans la synthèse protéique

IX. Aspects cliniques des maladies mitochondriales :

Diagnostic certain : 1 ou 2 majeurs + 2 mineurs

Diagnostic probable : 1 majeur + 1 à 3 mineurs

Diagnostic possible : 1 majeur ou 2 mineurs, avec 1 clinique

	Critères majeurs	Critères mineurs
Clinique	Encéphalo-myopathie clinique documentée OU Tableau avec les 3 conditions suivantes : - Symptômes multisystémiques incluant au moins 3 organes - Evolution progressive des phases aiguës ou une histoire familiale compatible avec une transmission mitochondriale - Exclusion des autres maladies métaboliques	Symptômes compatibles avec des défauts de la chaîne respiratoire
Histologie-enzymologie	- 2% RRF (Ragged Red Fibers) - COX - : >2% si <50 ans ou >5% si >50 ans - activité d'un complexe dans un tissu <20-30%	- RRF si <30 ans - 1-2% RRF si 30-50 ans - > 2% accumulation des mitochondries en sous-sarcomiques <16 ans - activité d'un complexe dans un tissu <30-40%
Bio Mol	Mutation nucléaire ou ADN <i>mt</i> pathogène	Variant nucléaire ou ADN <i>mt</i> à caractère pathogène potentiel
Métabolisme		Un ou plusieurs indicateurs métaboliques (lactate, acides aminés)
Etudes fonctionnelles	Synthèse d'ATP dans les fibres < 3SD	- Synthèse d'ATP dans les fibres ~2-3SD - Fibroblastes glucose +, galactose -

RRF (Ragged Red Fibers) -> Fibres rouges déchiquetées

COX -> cytochrome oxygénase

Age de début :

Néonatale -> ARN*mt*

Infantile -> ARN*mt*

Adulte -> ADN*mt* ou ARN*mt*

Spécificité tissulaire :

Les atteintes sont multisystémiques ou tissu-spécifiques.

Les tissus avec les demandes énergétiques les plus élevées seront les tissus les plus atteints : SNC, muscle squelettique, cœur, foie, rein...

Les tableaux cliniques, les tissus atteints, l'âge de début et la sévérité sont très variables.

Mais : Surtout pour les mutations de l'ADN*mt*, le phénotype clinique ne peut être seulement rapporté à un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire, D'autres mécanismes peuvent influencer les différences phénotypiques entre les différentes mutations.

Les différences dans la présentation clinique peuvent être corrélées avec :

- L'expression tissulaire

- L'hétéroplasmie
- D'autres fonctions inconnues des produits des gènes
- Le rôle des ARN $mt$  dans la signalisation ??
- Les gènes modificateurs
- Les facteurs environnementaux

N.B : L'acidose lactique est absente dans la plupart des cas...

❖ Atteintes du SNC :

- Retard psychomoteur ou régression
- Episode « stoke-like »
- Hypotonie/spasticité
- Ataxie (atrophie cérébelleuse)
- Dystonie
- Céphalée
- Dysphagie
- Dysfonctionnement du tronc
- Nystagme

N.B : L'épilepsie primaire n'est pas fréquente. Plus fréquente sont les convulsions secondaires aux lésions corticales.

❖ Myopathies :

- Faiblesse, hypotonie avec CPK normales ou légèrement augmentée
- Chez l'adulte : intolérance à l'exercice, myoglobinurie et CPK élevé

❖ Atteinte cardiaque :

- Cardiomyopathie hypertrophique
- Insuffisance cardiaque
- Bloc Atrio-Ventriculaire

N.B : Ces atteintes débutent le plus souvent dans l'enfance (mais aussi à l'âge adulte). Ne pas confondre l'acidose lactique secondaire à l'insuffisance cardiaque et l'acidose lactique primaire des maladies mitochondriales.

❖ Atteinte rénale :

- Tubulopathie
- Néphrite tubulo-interstitielle
- Insuffisance rénale
- Syndrome néphrotique

❖ Atteinte hépatique :

- Insuffisance hépatique (fréquemment aiguë ou rapidement progressive)

❖ Atteinte endocrinienne :

- Diabète
- Hypoparathyroïdie

- Petite taille
  
- ❖ Atteinte hématologique :
  - Anémie sidéroblastique
  - Pancytopénie
  
- ❖ Atteinte oculaire :
  - Rétinite pigmenteuse
  - Atrophie optique
  - Cataracte
  
- ❖ Atteinte gastro-intestinale :
  - Pseudo obstruction intestinale
  
- ❖ Atteinte de la peau/ des tissus mous :
  - Lipomes multiples
  - Hypertrichose
  
- ❖ Quelques syndromes spécifiques :
  - Syndrome de Leigh -> atteinte SNC ++
  - CPEO (Chronic Progressive External Ophthalmoplegia) -> atteinte musculaire ++
  - MELAS (Mitochondrial Encephalopathy Lactic Acidosis Stroke)
  - MERRF (Myoclonic Epilepsy associated with Ragged-Red Fibers)
  - NARP (Neuropathy Ataxia Retinis Pigmentosa)
  - ...