

Homéostasie du fer dans des modèles cellulaires d'AF - Agnès Rötig Génétique des Maladies Mitochondriales - Institut Imagine- Paris

Article de début de travaux - Janvier 2019



La frataxine, dont le déficit cause l'Ataxie de Friedreich, est une protéine mitochondriale impliquée dans la synthèse des centres fer-soufre (Fe-S). Le déficit en frataxine conduit à une accumulation de fer dans la mitochondrie mais il existe également des arguments pour penser que le contenu global en fer de la cellule est lui aussi augmenté.

Notre projet a pour but de caractériser cette accumulation en fer dans des fibroblastes en culture de patients. Nous nous intéresserons aux différents facteurs clés qui régulent l'entrée du fer et son stockage et à leur régulation.

Nous avons déjà obtenu des résultats préliminaires sur une seule lignée d'un patient indiquant que le récepteur à la transferrine, principal acteur de l'entrée du fer, est dérégulé. Ainsi au lieu de limiter l'entrée du fer, les fibroblastes de patients continuent à le faire entrer conduisant à une accumulation massive de fer qui va devenir toxique.

Nous allons essayer de comprendre la cause de cette dérégulation afin de définir de nouvelles pistes thérapeutiques pour cette maladie.

Homéostasie du fer dans des modèles cellulaires d'ataxie de Friedreich- Agnès Rötig

Article de fin de travaux - Janvier 2020

L'étude présentée ci-après a bénéficié d'un financement de l'AFAF dans le cadre de l'appel à projets de 2018.

L'ataxie de Friedreich (FRDA) est une maladie mitochondriale et nous avons été les premiers à démontrer, il y a une vingtaine d'années, que le déficit en frataxine conduisait à un déficit des protéines à centre fer-soufre ouvrant ainsi la voie à la compréhension de la fonction de cette protéine.

Plus récemment nous avons mis en évidence un défaut dans la régulation de l'homéostasie du fer (capacité des cellules à maintenir des concentrations adéquates de fer) dans les fibroblastes de patients atteints d'un groupe de maladies rares caractérisées par une neurodégénérescence avec accumulation de fer dans le cerveau (NBIA). Nous avons également identifié une molécule qui corrige cette anomalie. Des résultats préliminaires obtenus sur une seule lignée de fibroblastes d'un patient avec ataxie de Friedreich suggéraient le même type de dérégulation de l'homéostasie du fer. Notre projet était donc de mieux investiguer cette homéostasie dans l'ataxie de Friedreich dans le but de mettre en place une riposte thérapeutique.

Les résultats originaux obtenus depuis Septembre 2018 sont les suivants :

✓ Homéostasie du fer

Contenu en fer des fibroblastes FRDA

Nous avons quantifié le contenu en fer des fibroblastes FRDA mitochondrial et extra-mitochondrial, c'est-à-dire dans le cytosol. Nous avons montré que l'accumulation en fer ne se limitait pas à la mitochondrie comme c'était couramment accepté mais que le contenu en fer cytosolique était également significativement augmenté.

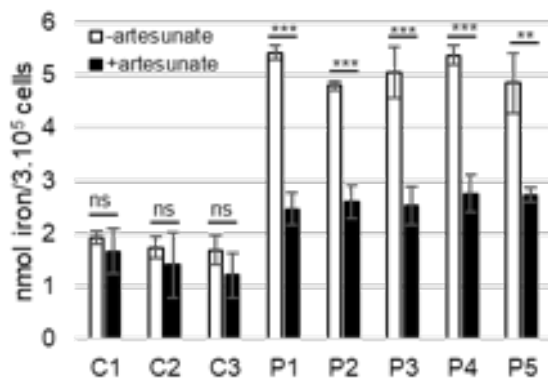
Régulation de l'homéostasie du fer.

La cellule régule l'homéostasie du fer en jouant essentiellement sur des protéines qui permettent son entrée, le récepteur à la transferrine (TfR1), et son stockage, la ferritine. Cette régulation se fait au niveau des transcrits, les produits directs du gène. Quand la concentration en fer augmente dans le milieu extérieur, la cellule limite l'entrée du fer en diminuant le transcrit du TfR1 ce qui diminuera la quantité

de protéine TfR1 synthétisée à partir de ce transcrite. En même temps, la cellule augmente le transcrite de la ferritine pour augmenter la quantité de la protéine ferritine et assurer le stockage du fer afin qu'il ne fasse pas de dégâts dans la cellule. Nous avons observé que cette régulation du taux des transcrits (régulation post-transcriptionnelle) fonctionne parfaitement bien dans les fibroblastes FRDA. Nous avons ensuite quantifié les protéines correspondantes (TfR1 et ferritine). Nous avons observé que quand on incubait les fibroblastes FRDA dans un milieu riche en fer, ces cellules étaient incapables de diminuer la protéine TfR1. Nous avons aussi montré que le TfR1 s'accumulait à la membrane cellulaire parce qu'il y avait une diminution drastique de ce qu'on appelle une modification post-traductionnelle par palmitoylation*, à savoir l'ajout d'une molécule de palmitate (un acide gras) sur le TfR1 qui permet de fluidifier ses déplacements dans la cellule.

✓ Recherche de molécule thérapeutique

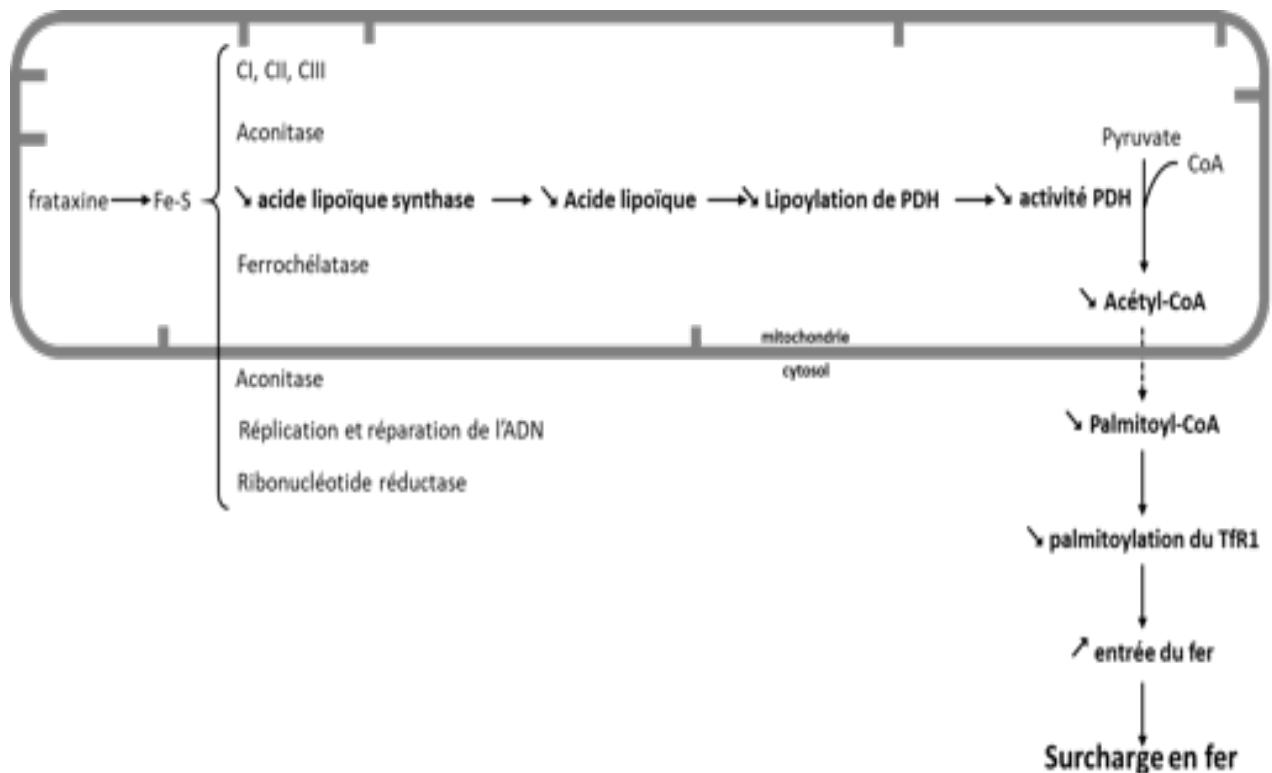
L'artésunate, un dérivé de l'artémisinine, utilisé comme agent anti-malaria est connu pour augmenter la palmitoylation du TfR1 et par là diminuer son accumulation à la membrane et ainsi diminuer le contenu en fer cellulaire. Nous avons montré que l'artésunate diminue le contenu en fer de fibroblastes FRDA en faisant ainsi une molécule thérapeutique candidate.



Contenu en fer de fibroblastes contrôles (C1-C3) et de patients FRDA (P1-P5) traités par de l'artésunate 25 μ M (48 h).

✓ Lien entre déficit en frataxine et diminution de la palmitoylation* du TfR1

Il a ensuite fallu comprendre comment le déficit en frataxine, qui a un rôle central dans les premières étapes de la synthèse des protéines à centre fer-soufre, conduit à un défaut de palmitoylation. Le déficit en frataxine conduit à un déficit de toutes les protéines à centre fer-soufre, dont une est l'acide lipoiqye synthase qui permet la synthèse de l'acide lipoiqye (figure ci-dessous). Cet acide lipoiqye est indispensable pour le fonctionnement de la pyruvate déshydrogénase (PDH). Nous avons montré que dans les fibroblastes FRDA la PDH est déficitaire ce qui conduit à une diminution de la synthèse de l'acétyl-Coenzyme A (acétyl-CoA), précurseur du palmitoyl qui permet la palmitoylation du TfR1.



Mécanisme conduisant à l'accumulation de fer dans les fibroblastes FRDA

Palmitoylation* : formation d'une liaison covalente entre un acide gras, comme l'acide palmitique, et un résidu de cystéine, moins fréquemment de sérine ou de thréonine, généralement sur une protéine membranaire.

L'ensemble de cette étude est disponible sur le site internet de l'AFAF.