

Comprendre le mode d'action de la Pioglitazone - Paule Bénit, Pierre Rustin - 2017

« Mieux comprendre le mode d'action de la Pioglitazone, tester son effet thérapeutique »
- INSERM 1141 - Hôpital Robert Debré

La Pioglitazone que nous avons proposée comme thérapie possible pour lutter contre l'Ataxie de Friedreich (AF) exerce un effet bénéfique sur un sous-groupe des souris Harlequin (groupe répondeur). Cette souris est naturellement mutante pour un gène, le gène appelé AIF (un acronyme anglais pour Apoptosis-Inducing Factor) localisé dans le noyau des cellules. La protéine fabriquée à partir des informations de ce gène est ensuite acheminée vers les mitochondries où elle est impliquée dans la mise en place de constituants de la chaîne respiratoire (CR). La chaîne respiratoire va permettre le transfert des électrons provenant de la dégradation des substrats (composés provenant de notre nourriture) jusqu'à l'oxygène. L'énergie libérée lors de cette dégradation va être récupérée par la chaîne respiratoire des mitochondries pour synthétiser de l'énergie : l'ATP (Fig.1). La souris Harlequin présente une ataxie cérébelleuse d'origine mitochondriale, comme dans l'AF. On retrouve une grande variabilité dans les atteintes, certaines souris étant malades très rapidement alors que d'autres ne le sont que tardivement, de nouveau comme dans l'AF. Cette grande analogie nous a décidé à utiliser cette souris pour tester différentes substances, dont la Pioglitazone (PIO), cette étude, qui a duré plus de cinq années, a été soutenue au démarrage par l'AFAF.

Le complexe I de la chaîne respiratoire est affecté (il l'est aussi dans l'AF) dans les tissus atteints chez ces souris et nous avons étudié le mécanisme par lequel la PIO exerce un effet bénéfique.

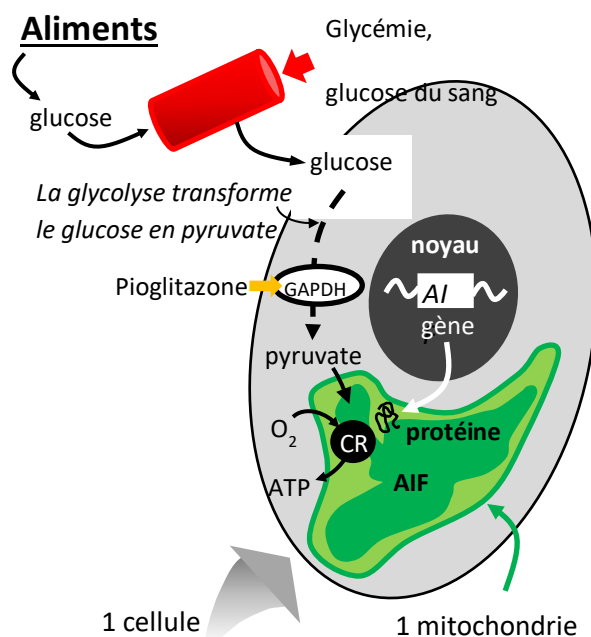
Nous avons tout d'abord étudié les cibles déjà décrites dans la littérature : activation de gènes impliqués dans la biogénèse (fabrication) des mitochondries, activation des enzymes antioxydantes (qui assurent le contrôle des dérivés nocifs naturellement produits à partir de l'oxygène) ou encore les systèmes contrôlant l'inflammation des tissus. Résultat : aucune de ces trois grandes voies n'est impliquée dans l'amélioration du phénotype, car nous n'avons pas observé leur modification.

Nous nous sommes ensuite intéressés à la glycémie qui était basse au départ chez cette souris et avons dosé, pour cela, le taux de glucose dans le sang. L'hypoglycémie initiale (glucose faible dans le sang), est normalisée par la PIO pour un sous-groupe d'individus.

Remarques :

- Cet effet est totalement paradoxal puisque la PIO est un hypoglycémiant (elle devrait faire baisser le glucose et non l'augmenter). Une précision, sur des souris contrôle nous observons bien son effet « classique » d'hypoglycémiant (diminution du taux de glucose).
- Il se trouve que c'est ce même sous-groupe qui voit ses capacités musculaires et neurologiques améliorées par la Pioglitazone, c'est notre groupe « répondeur ».

En étudiant ce sous-groupe, nous avons pu montrer que la normalisation de la glycémie est corrélée à une diminution de la quantité d'une protéine (appelée GAPDH), impliquée dans la glycolyse, (voie d'utilisation dans les cellules du glucose provenant de l'alimentation). Cette glycolyse produit au final un composé (le pyruvate) qui sera utilisé comme substrat par les mitochondries (Fig.1). On observe donc en simplifiant, deux groupes, un avec une GAPDH réduite par la Pioglitazone (les « répondeurs ») et un autre avec une GAPDH augmentée (les « non répondeurs »). Si l'on fait une moyenne avec tous ces points, on gomme cette grande différence dans la réponse et les statistiques concluent qu'il n'y a pas d'effet significatif.

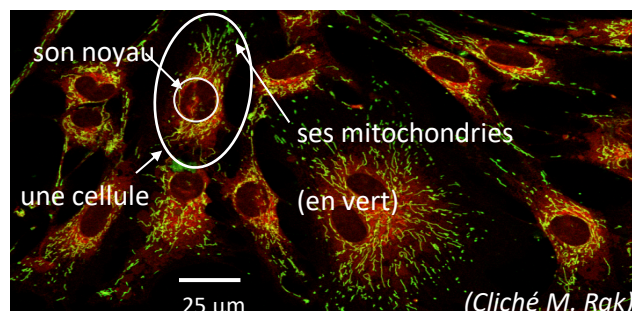


Intrigués par notre observation, nous avons regardé s'il pouvait y avoir un effet potentiel direct de la PIO sur la GAPDH (notre enzyme qui semble être la cible de la PIO dans la glycolyse). Résultat : La PIO est capable d'inhiber l'activité de la GAPDH sur des cellules mutantes de patients AIF, et ceci en fonction de l'état d'oxydation (de dégradation) de la protéine GAPDH. En effet la GAPDH est une enzyme qui peut subir de nombreuses modifications et exister sous plusieurs formes, entraînant une localisation dans la cellule qui change et qui change aussi la fonction de la GAPDH.

En résumé, nous avons pu établir que la PIO est bénéfique pour un sous-groupe d'individus (environ un quart), et que cette amélioration passe très probablement par une interaction de la PIO avec la GAPDH.

Cette étude publiée (en anglais, la langue d'échange des scientifiques) dans la toute nouvelle revue, *EBioMedicine*¹ en février 2017 établit que dans le cas de ce type de maladie rare (maladie mitochondriale) où seul un petit nombre d'individus est (et heureusement) concerné, avec un fond génétique hétérogène (gènes non strictement tous identiques d'un individu à l'autre) et un phénotype très variable, seule sans doute une « médecine personnalisée », s'attachant à la réponse de chaque individu plutôt que globalement à celle d'un groupe permettra de progresser.

De fait, dans le cas des maladies mitochondriales, dont l'AF fait partie, un groupe suffisant pour l'application fonctionnelle des lois statistiques est quasi-impossible à réunir, et quand bien même il serait possible de réunir des milliers d'individus (qui n'existent pas), un tel groupe serait de toute façon extrêmement hétérogène (tant du point de vue de la gravité que de l'évolution de la maladie) pour conclure de façon satisfaisante. Dans ce contexte, identifier un paramètre (dosable dans le sang par exemple) qui permettrait de prédire et/ou de suivre la réponse de chaque personne (ce que l'on appelle un biomarqueur) serait bien évidemment un grand plus pour le suivi objectif de chaque personne.



Cellules de la peau en culture

Ces résultats s'ils sont importants pour la conception et l'interprétation des essais cliniques, ne sont en réalité pas une grande surprise ! Intuitivement on s'attend à ce type de variabilité dans la réponse à ce type de médicament qui n'agit pas directement sur le gène muté. Il s'agit désormais d'un véritable enjeu pour la pharmacogénétique dans les années à venir : prédire la réponse aux médicaments en fonction de nos gènes qui diffèrent, pour partie, d'une personne à l'autre !

¹Bénit P, Pelhaitre A, Saunier A, Bortoli S, Coulibaly A, Rak M, Shiff M, Kroemer G, Zeviani M, Rustin P. 2017 Paradoxical inhibition of glycolysis by pioglitazone opposes the mitochondriopathy caused by AIF deficiency.

Effet de la Pioglitazone sur des fibroblastes de patients atteints d'ataxie de Friedreich- *Paule Bénit, Pierre Rustin - Février 2020*

Article de fin des travaux

1- Les échantillons biologiques utilisés pour l'étude

Nous disposons de cultures de fibroblastes issus d'une biopsie de peau de 4 patients atteints d'une Ataxie de Friedreich (FRDA). Les fibroblastes présentent des tailles d'expansion GAA différentes dans le gène codant pour la frataxine mises en évidence auparavant (Bayot et al 2013).

Parmi ces 4 prélèvements de fibroblastes, après mise en culture, l'un d'entre eux présente une mortalité dans un milieu qui force l'utilisation des mitochondries, milieu sans glucose mais avec de la glutamine (Mitomax). Ce prélèvement correspond aux fibroblastes qui présentent la plus grande taille d'expansion GAA dans le gène de la frataxine. Cette description d'un phénotype de mort cellulaire observé dans des fibroblastes humains, malgré une chaîne respiratoire normale, tout du moins avec un déficit indétectable, a été publié récemment (Bénit et al 2019). Il nous amène à penser qu'il devient possible de tester un effet bénéfique concret de la Pioglitazone sur la survie de fibroblastes placés en condition de demande énergétique.

2-Tester la Pioglitazone sur les cultures de fibroblastes (en cours)

A ce jour, une première étude de compensation de la mortalité par la Pioglitazone montre des premiers résultats encourageants. Il faut néanmoins confirmer ces résultats en répétant les expériences. Dans un second temps, nous avons dans l'idée de caractériser les modifications biochimiques qui pourraient rendre compte de l'effet de la Pioglitazone. En regardant l'activité des enzymes antioxydantes et des enzymes de la glycolyse (GAPDH, G6PDH, Hexokinase), enzymes que nous avons décrites précédemment comme étant modifiées dans notre étude sur la souris Harlequin, cela pour les seules souris améliorées par le traitement par la Pioglitazone (Bénit et al 2017).