

Agnès Rötig
Jean-Paul Bonnefont
Michel Colonna
Valérie Cormier
Pierre Rustin
Jean-Marie Saudubray
Arnold Munnich

Les remaniements du génome mitochondrial dans les déficits énergétiques de l'enfant : de nouvelles maladies de système ?

GLOSSAIRE

Atrophie optique de Leber : affection d'hérédité maternelle conduisant à la perte bilatérale et progressive de la vision centrale par destruction du nerf optique.

Maladie d'Alpers : maladie caractérisée : (1) anatomiquement, par la dégénérescence de la substance grise du cerveau et du cervelet, l'accumulation de lipides dans la microglie et la prolifération des astrocytes ; (2) cliniquement par un état de déchéance mentale, des contractures avec myoclonies, des convulsions, une choréo-athérose et une ataxie. L'évolution est rapidement mortelle.

Maladie de Pearson : pancytopenie de la première enfance avec insuffisance pancréatique.

Syndrome de Kearns-Sayre : syndrome caractérisé par l'association d'une ophtalmoplégie externe, d'une rétinite pigmentaire et de troubles de la conduction cardiaque.

Syndrome de Leigh : encéphalopathie nécosante subaiguë de l'enfant.

Le génome mitochondrial humain contient des informations génétiques nécessaires au métabolisme énergétique. Ce génome obéit à des lois génétiques très particulières et présente un taux de mutations beaucoup plus élevé que l'ADN nucléaire. La ségrégation cytoplasmique des mitochondries lors du développement permet de mieux comprendre la spécificité tissulaire des maladies affectant le génome mitochondrial. Ces maladies longtemps confinées aux seules affections neuromusculaires concernent vraisemblablement un domaine beaucoup plus large de la pathologie humaine. C'est ainsi que la maladie de Pearson, pancytopenie inexpliquée de la première enfance avec insuffisance pancréatique externe, vient d'être rapportée à sa véritable cause : un déficit du complexe I de la chaîne respiratoire dû à des réarrangements majeurs du génome mitochondrial.

Confinées depuis de longues années dans le registre des affections neuromusculaires, les maladies mitochondriales parviendront-elles à s'émanciper de la neurologie traditionnelle qui les abrite depuis leur reconnaissance ? Tout donne à le penser : dès lors qu'une seule maladie mitochondriale non neuromusculaire a été identifiée (la maladie de Pearson), bien d'autres devraient suivre... Notre intention est de proposer ici qu'un nombre important d'atteintes pluriviscérales inexpliquées, de pathologies d'organes comprises ou même de malformations sont en rapport avec une anomalie méconnue de la chaîne respiratoire mitochondriale.

Cette hypothèse n'est probablement pas saugrenue si l'on considère l'importance cruciale de l'information

contenue dans le génome mitochondrial, la fréquence élevée des mutations et l'absence de système de réparation dans ce génome, enfin le mode de ségrégation très particulier (non mendélien) des mitochondries lors des divisions cellulaires.

Avant d'illustrer notre propos avec quelques exemples concrets tirés d'observations cliniques et d'expériences personnelles datant des derniers mois, il nous faut d'abord faire l'éloge de cette vieille dame très digne, sur les mérites de laquelle biochimistes et généticiens pensaient avoir vraiment tout dit : la mitochondrie.

La parole est maintenant aux médecins qui, avertis de ce qui suit, doivent s'interroger, sans dogmatisme ni idée préconçue, sur l'éventualité d'une maladie mitochondriale derrière telle association morbide que rien n'explique ou sur tel syndrome

ADRESSE

A. Rötig : chercheur hors-statut, boursière de l'AFM. J.-P. Bonnefont : chef de clinique. M. Colonna : ingénieur hors-statut, boursier de l'AFM. V. Cormier : interne des hôpitaux. P. Rustin : chargé de recherche au Cnrs. J.-M. Saudubray : professeur. A. Munnich : chef de clinique. Clinique et unité de recherche de génétique médicale, Inserm U. 12, hôpital des Enfants-Malades, 149, rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15, France.

qui dort paisiblement dans un catalogue de maladies génétiques sous le nom de son inventeur ou sous un « numéro matricule »...

L'histoire naturelle de la maladie de Pearson est à cet égard particulièrement démonstrative...

Coût informatif et failles d'une symbiose réussie

Phosphorylation oxydative. « Devise énergétique » universelle, l'adénosine triphosphate (ATP) est synthétisée à partir d'ADP et de phosphate inorganique grâce à l'ATP synthétase. Cette phosphorylation est couplée à la respiration cellulaire, qui consomme de l'oxygène et des équivalents réduits pour produire de l'eau : c'est la phosphorylation oxydative, qui donne au métabolisme aérobie son rendement énergétique élevé. Cette réaction chimique très complexe s'effectue le long d'une « chaîne respiratoire » qui transfère les électrons depuis ses multiples donneurs (les équivalents réduits)

jusqu'à l'accepteur final qu'est l'oxygène.

La chaîne respiratoire est implantée dans la membrane mitochondriale interne. Comme nombre de ses substrats, une grande partie des protéines nécessaires à son édification sont produits dans un autre compartiment de la cellule, le cytoplasme. Ainsi, c'est près d'une centaine de polypeptides qui doivent être importés dans la mitochondrie pour le fonctionnement de la chaîne respiratoire.

Mais, fait essentiel, 13 des 70 polypeptides de la chaîne respiratoire sont codés par... le « 24^e chromosome », le génome mitochondrial, selon des lois génétiques et dans un compartiment entièrement distinct du noyau. De surcroît, la coopération entre ces deux génomes différents coûte très cher au génome nucléaire, qui doit fournir à la mitochondrie presque toute la machinerie génétique nécessaire à la réplication et à l'expression de son génome ! On est pourtant bien tenté

de parler de symbiose réussie à propos de la coopération entre le milieu intérieur et les mitochondries, véritables vestiges procaryotes dans un univers eucaryote, qui, par leur structure, donnent à la cellule les moyens d'un rendement énergétique élevé. Cette symbiose réussie n'est pourtant pas sans faille, du fait du taux élevé des mutations du génome mitochondrial (au moins dix fois plus fréquentes dans ce génome que dans le génome nucléaire) [1], mais aussi des possibles mutations dans les gènes nucléaires codant pour des protéines de la chaîne respiratoire, les unes et les autres pouvant être responsables de cytopathies mitochondriales.

Les substrats de la phosphorylation oxydative proviennent pour l'essentiel de la combustion des glucides et des acides gras. C'est ainsi que cinq équivalents réduits sont produits par l'oxydation du pyruvate dans le cycle de Krebs (quatre NADH_2 via l'acétyl CoA et un FADH_2 via le succinate). De même, l'oxydation des acides gras

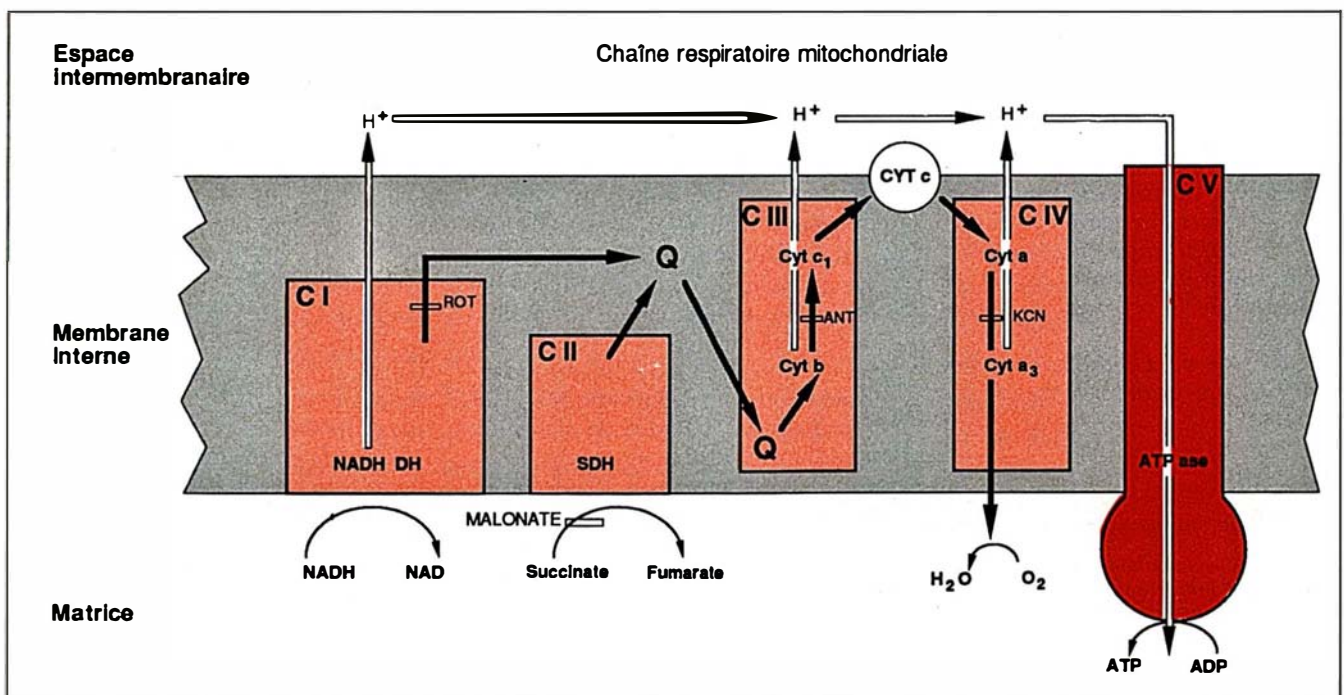


Figure 1. **La chaîne respiratoire mitochondriale.** C = complexe ; NADH DH = NADH déshydrogénase ; SDH = succinate déshydrogénase ; CYT = cytochrome ; ROT = roténone, inhibiteur du C I ; ANT = antimycine, inhibiteur du C III ; KCN = cyanure de potassium, inhibiteur du C IV.

produit un NADH_2 , un FADH_2 et un acétyl CoA par tour de spire dans la β -oxydation. La chaîne respiratoire mitochondriale oxyde alors les cofacteurs ainsi réduits et transfère leurs électrons jusqu'à l'oxygène moléculaire, *via* une série de transporteurs situés dans la membrane mitochondriale interne.

- Le complexe I prend en charge les électrons provenant du NADH_2 . Il comporte plus de 25 polypeptides, une flavine mononucléotide et plusieurs protéines fer-soufre enchâssées dans la membrane interne.

- Le complexe II, composé de cinq sous-unités, prend en charge les électrons du succinate, transférés *via* le FADH_2 par la succinate déshydrogénase.

- Le complexe III comporte 11 polypeptides dont deux protéines intégrales, les cytochromes b et c_1 . C'est lui qui prend en charge les électrons des complexes I et II, *via* un pool de quinones (le coenzyme Q) et les cède au cytochrome c, localisé à la face externe de la membrane interne. C'est encore au niveau du coenzyme Q que sont pris en charge les électrons provenant du FADH_2 produits par la β -oxydation des graisses.

- Le complexe IV (cytochrome oxydase) comporte 13 polypeptides, dont les cytochromes a et a_3 avec leurs atomes de cuivre. Ce complexe oxyde le cytochrome c réduit, avec production d'eau à partir de l'oxygène moléculaire.

- Enfin, le complexe V, qui compte 14 polypeptides, est le lieu de la récupération des protons, à laquelle est couplée la synthèse d'ATP. En effet, le transfert d'électrons s'accompagne d'une translocation de protons au niveau des complexes I, III et IV. Les protons s'accumulent dans l'espace intermembranaire, puis sont utilisés par l'ATP synthétase (complexe V) pour la synthèse d'ATP. Il y a donc une régulation du transfert des électrons le long de la chaîne respiratoire par le fonctionnement du complexe V. Trois ATP (un par complexe) sont produits pour chaque NADH_2 oxydé (figure 1).

Structure et expression du génome mitochondrial. *Organisation de l'ADN mitochondrial.* Les mitochondries possèdent leur propre génome qui ne code que pour des protéines impliquées dans la phosphorylation

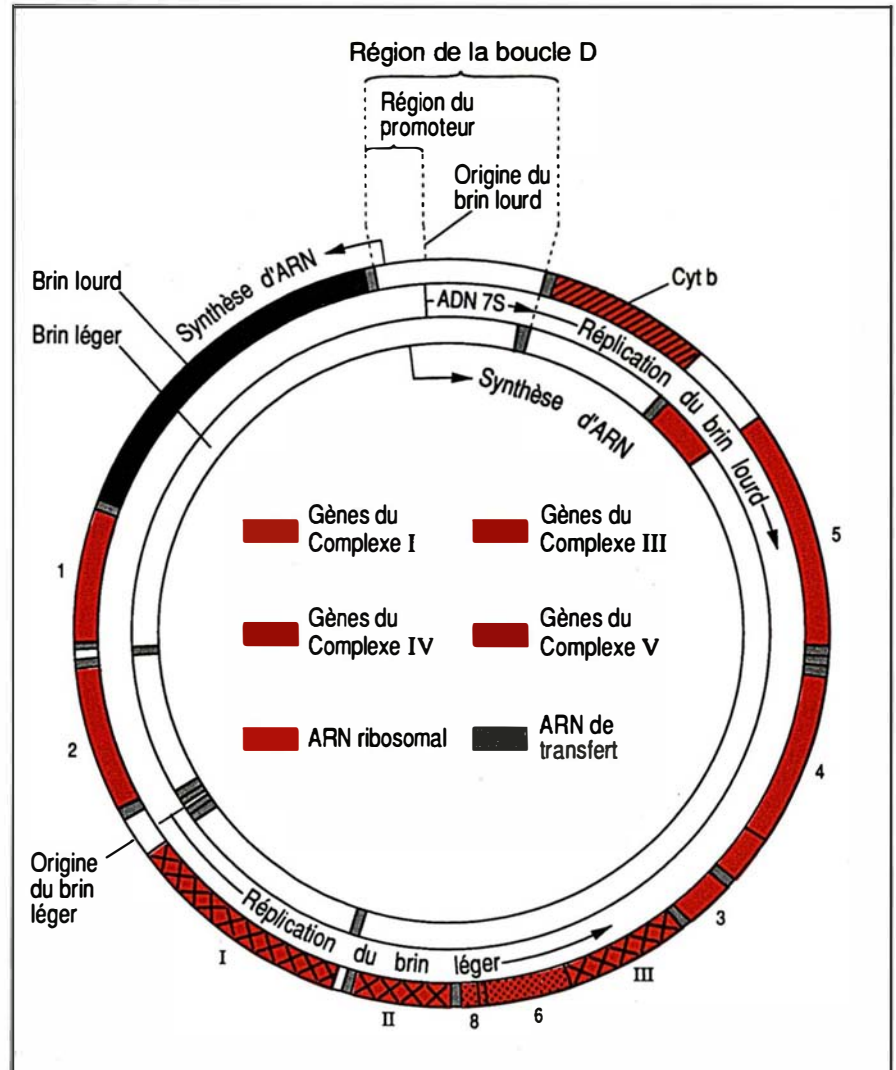


Figure 2. **Organisation du génome mitochondrial.** (D'après Wallace [39].)

oxydative. En effet, le génome mitochondrial (mt) code pour 13 protéines sur les 70 que compte la chaîne respiratoire. Ce déséquilibre au bénéfice des protéines nucléaires, nettement majoritaires, contraste avec l'abondance de l'ADNmt, qui représente jusqu'à 1% de l'ADN cellulaire total (5 000 copies d'ADNmt par génome diploïde, dix copies par mitochondrie environ).

La particularité majeure de ce génome bicaténaire circulaire (16 569 paires de bases) est sa grande compaction. Les deux brins sont codants et comportent des gènes contigus, sans intron, parfois même chevauchants [2] ou sans codon de terminaison.

Le brin lourd (HS) comporte les gènes pour les ARN ribosomiaux 12S et 16S, pour 22 ARNt et pour 12 protéines. Le brin léger (LS) code pour 8 ARNt et une protéine (figure 2).

Transcription de l'ADN mitochondrial. Chaque brin d'ADN mitochondrial est transcrit en un grand ARN polycistronique, à la manière des procaryotes. Ce grand transcrit est ensuite clivé par des ARNases spécifiques, au niveau des ARN de transfert qui ponctuent les gènes structuraux. Les ARN messagers sont alors polyadénylés, permettant la forma-

1. Cann RL, Stoneking M, Wilson AL. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature* 1987 ; 325 : 31-6.
2. Fearnley IM, Walker JE. Two overlapping genes in bovine mitochondrial DNA encode membrane components of ATP synthase. *Embo J* 1986 ; 5 : 2005-8.
3. Fisher RP, Topper JN, Clayton DA. Promoter selection in human mitochondria involves binding of a transcription factor to orientation-independent upstream regulation elements. *Cell* 1987 ; 50 : 247-58.
4. Christianson TW, Clayton DA. *In vitro* transcription of human mitochondrial DNA : accurate termination requires a region of DNA sequence that can function bidirectionally. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986 ; 83 : 6277-81.
5. Gaines G, Rossi C, Attardi G. Markedly different ATP requirements for tRNA synthesis and mt DNA light strand transcription versus rRNA synthesis in isolated human mitochondria. *J Biol Chem* 1987 ; 262 : 1907-15.
6. Barrell BG, Bankier AT, Drouin J. A different genetic code in human mitochondria. *Nature* 1981 ; 290 : 457-75.
7. Fox TD. Nuclear gene products required for translation of specific mitochondrially coded mRNA in yeast. *Trends Genet* 1986 ; 2 : 97-100.
8. Clayton DA. Replication of animal mitochondrial DNA. *Cell* 1982 ; 28 : 693-705.
9. Chang DD, Clayton DA. Priming of human mitochondrial DNA replication occurs at the light strand promoter. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985 ; 82 : 351-5.
10. Chang DD, Clayton DA. A mammalian mitochondrial RNA processing activity contains nucleus-encoded RNA. *Science* 1987 ; 235 : 1178-84.
11. Masters BS, Stohl C, Clayton DA. Yeast mitochondrial RNA polymerase is homologous to those encoded by bacteriophages T3 and T7. *Cell* 1987 ; 51 : 89-99.
12. Luft R, Ikkos D, Palmieri G, Ernster L, Afzelius D. Severe hypermetabolism of non thyroid origin with a defect in the maintenance of mitochondrial respiratory control: a correlated clinical, biochemical and morphological study. *J Clin Invest* 1962 ; 41 : 1776-804.
13. Willem JL, Monnens LAH, Trijbels JMF, et al. Leigh's encephalomyopathy in a patient with cytochrome c oxidase deficiency in muscle tissue. *Pediatrics* 1977 ; 60 : 850-7.

tion de codons stop pour les ARN se terminant par U ou UA (\rightarrow UAA). Le taux de transcription des gènes mitochondriaux varie considérablement d'un brin à l'autre et d'un point à l'autre d'un même brin. Ces faits résultent avant tout de l'inégale efficacité transcriptionnelle des promoteurs des brins lourds (HSP) (HSP, *heavy strand promoter*) et légers (LSP) (LSP, *light strand promoter*) [3]. En effet, quoique très proches par la structure et la distance (90 paires de bases) entre les séquences liant leur facteur transcriptionnel commun (mt TF), le HSP et le LSP fonctionnent néanmoins indépendamment, en direction opposée et avec une efficacité transcriptionnelle trois fois supérieure pour ce dernier. L'asymétrie transcriptionnelle observée résulte aussi de l'existence d'un puissant système de terminaison/antiterminaison comparable à celui des procaryotes. En effet, le taux de synthèse des ARN ribosomiaux 12S et 16S est 50 à 100 fois supérieur à celui des autres gènes du brin lourd. C'est qu'il existe, entre les gènes de l'ARN ribosomal 16S et celui de l'ARNt Leu, un terminateur actif sur les deux brins, entraînant l'arrêt de la transcription dans les deux directions [4]. L'arrêt de la transcription du brin léger à ce niveau peut être, du reste, rapproché de l'absence de gènes au-delà du terminateur. Cette asymétrie dans l'expression des gènes résulte enfin de différences dans les demi-vies des ARN messagers et, dans une certaine mesure, de la quantité d'ATP disponible dans la mitochondrie car, pour des raisons encore obscures, la synthèse des ARNr et la transcription du brin léger requièrent plus d'ATP que la synthèse des ARNm.

Traduction des ARN mitochondriaux. La traduction des ARN mitochondriaux présente plusieurs particularités : c'est l'existence d'un code génétique propre à la mitochondrie et d'une puissante régulation traductionnelle. Ainsi, le codon UGA (signal stop pour les ARN nucléaires) code-t-il, dans la mitochondrie, pour un tryptophane [6]. De même, le codon AUA (isoleucine dans le code universel) code pour une méthionine dans la mitochondrie. Comme chez *E. Coli*, la traduction

début par un groupement formyl-méthionine et est inhibée par le chloramphénicol, qui bloque la peptidyl transférase des ribosomes en se fixant sur l'ARN 16S de la sous-unité 50S. Enfin, des facteurs cytoplasmiques règlent l'intensité de la traduction, comme en atteste l'existence de mutations nucléaires bloquant la traduction des ARN messagers mitochondriaux de la levure [7].

Réplication de l'ADN mitochondrial. L'ADNmt contient deux origines de réplication différentes. La réplication débute par la synthèse du brin lourd à partir de son origine de réplication située dans la « boucle de déplacement » ou *D-loop*, qui contient également les promoteurs de transcription et se poursuit de manière unidirectionnelle jusqu'à l'origine de réplication du brin léger, située à 8 heures (figure 2). L'origine de réplication du brin léger une fois atteinte, sa réplication est alors amorcée dans le sens inverse du brin lourd. Lorsque la réplication des deux brins est terminée, leurs extrémités libres sont réunies par une ligase et une ADN gyrase procède à l'enroulement des molécules [8]. La réplication du brin lourd est amorcée par un petit ARN dont la transcription est initiée à partir du promoteur du brin léger [9]. L'amorce d'ARN est alors spécifiquement clivée au niveau de séquences conservées (*conserved sequences block*, CSB) par une ARNase qui nécessite un petit ARN de 135 nucléotides comme cofacteur. Ce petit ARN étant codé par le génome nucléaire, il doit par conséquent être transporté à travers les membranes mitochondriales, ce qui constitue un fait moléculaire remarquable [10]. La réplication du brin léger débute également par une amorce d'ARN, en présence d'une ADN primase dont le cofacteur est un ARN ribosomal cytoplasmique (5.8S). A l'exception des ARN ribosomiaux 12S et 16S et des ARNt, toute la machinerie transcriptionnelle, traductionnelle et répllicative du génome mitochondrial est codée dans le noyau [11]. Les produits de ces gènes nucléaires doivent donc être importés dans la mitochondrie pour exercer leurs fonctions. Enfin, malgré la grande compaction de son information, l'ADN mitochondrial

présente un certain degré de polymorphisme, inégalement réparti sur son génome : les régions les plus polymorphes sont situées aux extrémités de la *D-loop* et, à un bien moindre degré, dans les régions codantes.

Des myopathies aux cytopathies mitochondriales : vers la généralisation d'un concept. Le terme de myopathie mitochondriale a été utilisé pour la première fois par Luft en 1962 [12] à propos d'un adulte présentant un hypermétabolisme non thyroïdien et, à la biopsie musculaire, un aspect de *ragged red fibers* (fibres rouges en lambeaux) (aspect de coups d'ongle sous-sarcolemmaux à la coloration au trichrome de Gomori, en rapport avec des mitochondries anormales). Ultérieurement, la constatation de *ragged red fibers* a été à la base de l'identification de myopathies mitochondriales dans d'autres circonstances, d'abord chez des malades adultes présentant une ophtalmoplégie externe, un ptosis et une myopathie, puis rapidement dans des syndromes variés comportant des myopathies associées à d'autres signes neurologiques : syndrome de Leigh, maladie d'Alpers, épilepsie myoclonique avec fibres rouges en lambeaux (*myoclonus epilepsy ragged red fibers*, MERRF), encéphalopathie mitochondriale, acidose lactique, pseudo-accidents vasculaires cérébraux (*mitochondrial encephalopathy lactic acidosis stroke like episodes*, MELAS), syndrome de Kearns-Sayre, ophtalmoplégie externe chronique progressive (*chronic progressive external ophthalmoplegia*, CPEO) [12-18].

Il règne en fait une grande confusion dans ces affections, décrites par des médecins de spécialités différentes, selon des critères tantôt anatomiques (syndrome de Leigh, maladie d'Alpers), tantôt cliniques (MERRF, MELAS, CPEO, syndrome de Kearns-Sayre), tantôt enzymologiques (déficits en cytochrome c oxydase, en NADH CoQ réductase...). De surcroît, jusqu'à une date récente, aucune classification ne prenait en compte les aspects métaboliques et génétiques, la compartimentation possible des mutations dans les génomes mitochondriaux et nucléaires, ni l'éventuelle présence de ces anomalies dans d'autres tissus. Le

caractère souvent multiviscéral des anomalies morphologiques fait, du reste, parler maintenant de cytopathies mitochondriales. Une série d'arguments métaboliques, enzymologiques et moléculaires viennent conforter, nous le verrons, le caractère pluriviscéral de ces nouvelles maladies.

Des levures et des hommes ou les leçons d'une génétique non mendélienne

Singularité génétique des mitochondries. La répartition du capital mitochondrial au cours des divisions cellulaires se fait au hasard. Si la cellule parentale contient deux populations de mitochondries, on conçoit qu'au bout de plusieurs divisions, les cellules filles puissent ne plus contenir qu'une seule population de mitochondries. L'émergence de clones cellulaires ne comportant qu'un seul type de mitochondries dans la descendance d'une cellule qui en contenait deux (ou plus) est appelée **ségrégation mitotique**. C'est par elle qu'on explique la coexistence de mitochondries normales et mutées dans une même cellule (hétéroplasmie) et donc le mosaïcisme des mutations mitochondriales. C'est également ainsi qu'on explique la spécificité tissulaire des déficits enzymatiques et des anomalies moléculaires mitochondriales chez l'homme.

Par ailleurs, lorsqu'un zygote diploïde parental entre dans un cycle méiotique, chaque cellule fille reçoit le même patrimoine mitochondrial. Cette ségrégation non mendélienne des mitochondries est dite **hérité cytoplasmique**, par opposition à la transmission mendélienne des gènes nucléaires. Chez la levure, l'hérité cytoplasmique est biparentale, chaque parent contribuant également au patrimoine mitochondrial de sa descendance. Chez l'homme, au contraire, seul l'ovule contribue au patrimoine mitochondrial du zygote et l'hérité cytoplasmique revient, dans notre espèce, à une **hérité maternelle**. Ce caractère uniparental de l'hérité mitochondriale chez l'homme joint au polymorphisme de l'ADNmt a, du reste, permis d'établir un arbre généalogique maternel des

différentes races humaines [1].

Les réarrangements du génome mitochondrial chez les levures. Il existe une catégorie de levures porteuses de grandes délétions de leur ADNmt, qui abolissent toute synthèse des protéines mitochondriales. Ces souches sont appelées **petites mutantes** parce qu'elles forment de petites colonies lorsqu'elles poussent sur un milieu pauvre en glucose. Les levures pouvant vivre indifféremment en aérobiose comme en anaérobiose, la perte des fonctions mitochondriales force, par conséquent, la souche mutante à adopter un style de vie anaérobie. Ces délétions sont donc des mutations « conditionnelles létales », pour lesquelles seules les conditions de croissance anaérobie constituent des conditions permissives.

Les remaniements du génome mitochondrial dans ces mutations sont, en fait, de deux types : (1) les mutations petites neutres (ρ^0) où l'ADN mitochondrial est totalement absent ; (2) les mutations petites suppressives (ρ^-), où l'ADN mitochondrial est présent mais délété. L'ADN restant est fréquemment amplifié, soit par accroissement de la ploïdie (du nombre de molécules), soit par répétitions en tandem (directes ou inversées) du génome délété, conduisant à une quantité totale d'ADNmt par cellule voisine de celle des souches sauvages [19].

L'analyse de la séquence des extrémités de ces fragments excisés ou amplifiés a révélé, dans certains cas, l'existence de courtes séquences répétées de quelques paires de bases [20]. Des phénomènes de recombinaison homologue entre ces séquences répétées seraient donc responsables de la formation des mutants petites suppressives. Il est frappant de constater, du reste, que tout fragment d'ADN mitochondrial peut être excisé et amplifié pour donner un mutant ρ^- , qu'il contienne ou non une origine de réplication. On peut donc penser que, dans le cas où le segment excisé ne contient pas d'origine normale de réplication, d'autres séquences fonctionnent comme des origines de réplication « alternatives ». Les mutations petites suppressives sont tantôt stables, tantôt très instables, susceptibles de former alors d'autres réarrangements avec

RÉFÉRENCES

14. Gabreels F, Prick MJJ, Reinet W, *et al.* Progressive infantile poliodystrophy (Alpers' disease) with disturbed NADH oxidations lipid myopathy and abnormal muscle mitochondria. In: Busch HFM, *et al.*, eds. *Mitochondrial and Muscular Diseases*. Beetsberg-waag : Mefer JV, 1981 ; 165-71.
 15. Garcia Silva MT, Aicardi J, Goutières F, Chevrie J. The syndrome of myoclonic epilepsy with ragged-red-fibers. Report of a case and review of the literature. *Neuropediatrics* 1987 ; 18 : 200-4.
 16. Pavlakis SG, Philips PC, DiMauro S, *et al.* Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke like episodes (MELAS): a distinctive clinical syndrome. *Ann Neurol* 1984 ; 16 : 481-8.
 17. Peterson PL, Martens ME, Lee CP, *et al.* Is Kearns-Sayre syndrome due to an enzyme deficiency of the mitochondrial respiratory chain? *Neurology* 1985 ; 35 : 96-9.
 18. Johnson MA, Turnbull DM, Kick DJ, Sherratt HSA. A partial deficiency of cytochrome c oxidase in chronic progressive external ophtalmoplegia. *J Neurol Sci* 1983 ; 60 : 31-53.
 19. Dujon B.E. In: Strathern Mitochondrial genetics and functions. *et al.*, eds. *Molecular Biology of the Yeast Saccharomyces*. Cold Spring Harbor : Cold Spring Harbor Laboratory, 1981 : 505-635.
 20. Turker MS, Domenico JM, Cummings DJ. Excision-amplification of mitochondrial DNA during senescence in *Podospora anserina*. A potential role for a 11 base-pair consensus sequence. *J Mol Biol* 1987 ; 198 : 171-85.
 21. Holt IJ, Harding AE, Morgan-Hughes JA. Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature* 1988 ; 331 : 717-9.
 22. Saifuddin Noer A, Marzuki S, Trounce I, Byrne A. Mitochondrial DNA deletion in encephalomyopathy. *Lancet* 1988 ; 2 : 1253.
 23. Lestienne P, Ponsot G. Kearns-Sayre syndrome with muscle mitochondrial DNA deletion. *Lancet* 1988 ; 1 : 885.
 24. Zeviani M, Moraes CT, DiMauro S, *et al.* Deletions of mitochondrial DNA in Kearns-Sayre syndrome. *Neurology* 1988 ; 38 : 1339-46.
 25. Poulton J, Deadman ME, Gardiner RM. Duplications of mitochondrial DNA in mitochondrial myopathy. *Lancet* 1989 ; 1 : 236-9.
 26. Wallace DC, Singh G, Lott M, *et al.* Mitochondrial DNA mutation associated with Lebers's hereditary optic neuropathy. *Science* 1988 ; 242 : 1427-30.
- l'ADNmt d'autres souches. Enfin, dans une certaine proportion des cas, le croisement d'une souche petite suppressive rho⁻ et d'une souche sauvage ne donne naissance qu'à une descendance de souches petites. L'ADNmt sauvage a disparu. Il s'agit du phénomène de suppression, probablement en rapport avec la répllication préférentielle de l'ADNmt des souches petites (par amplification des origines de répllication, par exemple).
- Les réarrangements du génome mitochondrial chez l'homme.** En 1988 a été démontrée pour la première fois l'existence de délétions semblables aux mutations petites suppressives de levure dans le génome mitochondrial d'adultes présentant des myopathies mitochondriales [21] (*Tableau I*). Des constatations identiques ont été ensuite effectuées chez des malades atteints d'encéphalomyopathies [22], de syndrome de Kearns-Sayre [23, 24] (*Tableau I*). Peu après, des duplications de molécules d'ADNmt ont été observées chez des malades très comparables [25]. Dans ces observations de délétions comme dans les duplications, les remaniements sont présents à l'état hétéroplasmique dans le muscle, mais également dans d'autres tissus (lymphocytes, foie), ce qui se conçoit bien, compte tenu du mode de ségrégation mitotique des mitochondries (*Tableau I*).
- Tous ces réarrangements suppriment au moins un gène d'ARNt (et parfois plusieurs), de sorte que seule une complémentation entre génomes mutants et sauvages (c'est-à-dire une véritable hétéroplasmie dans la mitochondrie) peut permettre à l'organisme muté de subsister. La proportion respective des deux populations de molécules conditionne du reste l'expression de la maladie dans un tissu donné : lorsque les molécules normales sont présentes en quantité suffisante pour satisfaire la demande énergétique de l'organe atteint, l'expression phénotypique est faible, voire inexistante. Au-dessous d'un certain seuil, la maladie s'exprime et cette expression clinique dépend évidemment de la consommation énergétique des tissus, au premier rang desquels le cerveau, les muscles et le cœur (la consommation de glucose d'un cerveau adulte est considérable : 6 g/kg/h).
- Il existe naturellement d'autres mécanismes que l'effet de seuil pour expliquer l'expression phénotypique d'un remaniement du génome mitochondrial. Ainsi, lorsqu'une délétion supprime les signaux de clivage du transcrit primitif, mais respecte le cadre de lecture, une protéine chimérique peut être produite. On peut concevoir qu'elle perturbe l'édifice multimérique d'un complexe enzymatique, comme on l'observe dans les maladies dominantes autosomiques.
- Toutes les délétions rapportées à ce jour chez l'homme respectent les origines de répllication, ce qui n'est pas surprenant car une telle mutation doit conduire à l'élimination rapide de la molécule en cause. A l'inverse, une duplication incluant les origines de répllication doit avantager les molécules remaniées et favoriser ainsi leur expansion, comme on le constate dans le phénomène de suppression chez la levure. Un autre mécanisme peut également rendre compte de la prépondérance des molécules d'ADNmt délétées : c'est le simple fait que la vitesse de répllication d'une molécule est directement fonction de sa longueur. Ainsi, les molécules délétées se répliquant plus vite que les molécules sauvages, leur nombre croîtrait à chaque génération.
- Dans ces affections mitochondriales, les mutations ponctuelles restent encore exceptionnelles en regard des remaniements majeurs, de détection plus simple. Le seul exemple de mutations faux-sens publié à ce jour concerne l'atrophie optique héréditaire de Leber [26], affection d'hérédité maternelle conduisant à la perte bilatérale et progressive de la vision centrale par destruction du nerf optique entre 20 et 30 ans. Il a été récemment montré, chez plusieurs malades, l'existence de substitutions homoplasmiques d'un G par un A au codon 340 de la NADH déshydrogénase (nt 11778), remplaçant ainsi une arginine par une histidine et supprimant un site de restriction Sfa NI. Cette mutation ponctuelle réduirait la production d'ATP dans le nerf optique et conduirait à la cécité. En fait, le mode de transmission de ces affections soulève de difficiles problèmes. Si elles sont classique-

Tableau I
RÉCAPITULATION DES REMANIEMENTS DE L'ADNmt RAPPORTÉS A CE JOUR

Nature du remaniement	Affection	Position	Gènes remaniés	Transmission	Hétéroplasmie
Délétions	Myopathie mitochondriale	2578 \approx 5274	16S ARNr ND1 ND2	S	+
		7441 \approx 12871 (21)	Cox II-ND5	S	+
		12173 \approx 14258	ND5 ND6		+
		9020 \approx 13364 (27)	ATPase 6-ND5	M	+
	Kearns-Sayre	7850 \pm 400 \approx 13000 (23)	Cox II-ND5	S	+
		5275 \approx 11680	ND2-ND4	S	+
		9020 \approx 16048	ATPase 6-cyt b	S	+
		8286 \approx 13701	ATPase 8-ND5	S	+
		7440 \approx 10256	Cox II-ND3	S	+
		10256 \approx 16048 (24)	ND3-cyt b	S	+
		0,4 kb (22)	ND5	S	-
	Encéphalomyopathies	9400 \approx 13700 (28)	Cox III-ND5	S	+
	Lowe	7,4 kb (29)		S	
	Pearson	8483 - 13460	ATPase 8-ND5	S	+
		11232 - 13980 (30)	ND4-ND5	S	+
Duplications	Encéphalomyopathie	6033 \approx 15000	Cox I-cyt b	S	+
		7200 \approx 16000 (25)	Cox II-cyt b	S	+
	Pearson	14700 \approx 10000 (31)	Cox III-ND5	S	+
Mutation ponctuelle	Atrophie optique de Leber	nt 11778 G \rightarrow A (arg \rightarrow his) (26)	ND4	M	-

ND : NADH déshydrogénase ; Cox : cytochrome oxydase ; Cyt : cytochrome ; S : sporadique ; M : maternelle ; nt : nucléotide.

ment transmises sur le mode maternel (MERRF, atrophie optique de Leber), leur mode d'hérédité est bien loin d'être évident. En effet, les remaniements de l'ADNmt apparaissent le plus souvent sporadiques, évoquant des néomutations survenues lors de la gamétogenèse maternelle ou de l'embryogenèse (*Tableau I*). Rien n'interdit toutefois de penser que, pour des raisons de ségrégation mitotique des mitochondries, une mère puisse être porteuse d'un mosaïque germinale et donner naissance tantôt à des enfants sains, tantôt à des enfants malades.

Jusqu'à une date récente, on ignorait tout des mécanismes moléculaires des réarrangements de l'ADNmt chez l'homme. Comme nous le verrons, nous avons eu la chance de mettre en évidence, dans une redoutable maladie de l'enfant de cause génétique jusque-là inconnue, la maladie de Pearson, l'existence de remaniements

majeurs de l'ADNmt[30] impliquant, comme chez les levures, de courtes séquences d'ADN répétées (voir plus loin). Fait remarquable, ces mêmes répétitions directes, normalement présentes dans notre ADNmt, pourraient être impliquées dans une maladie de l'adulte d'expression clinique radicalement différente, le syndrome de Kearns-Sayre[32]. Comment un même génotype peut-il donner lieu à des manifestations phénotypiques si différentes ? Là encore, le phénomène de ségrégation mitotique de mitochondries porteuses de remaniements germinaux ou somatiques pourrait rendre compte de la spécificité tissulaire ou, au contraire, du caractère systémique de maladies génétiques (voire de malformations) de cause encore inconnue. Toutes les conditions ne seraient-elles donc pas réunies pour l'identification de nouvelles maladies de système ?

De nouvelles maladies de système...

A la recherche d'éléments d'orientation. Au fil des années, les cytopathies mitochondriales de l'adulte comme celles de l'enfant sont devenues l'exclusivité des maladies neuromusculaires, parce que c'est dans le muscle qu'avaient été observées les premières mitochondriopathies... Comme toutes les idées reçues, cette contrevérité a également la vie longue... Pour tenter d'illustrer l'hétérogénéité clinique des cytopathies mitochondriales, nous présentons ici sept observations où un déficit de la chaîne respiratoire a été formellement mis en évidence (*Tableau II*) : coma acidocétosique néonatal, cardiomyopathie familiale, tubulopathie, ataxie ou pancytopénie « idiopathique »... Ces présentations cliniques sont effectivement si poly-

Tableau II
HÉTÉROGÉNÉITÉ CLINIQUE DES CYTOPATHIES MITOCHONDRIALES

Observation	Age de début	Signes d'appel	Evolution	Métabolisme Intermédiaire	Histologie du muscle	Déficit enzymatique
1	< 2 mois	Myocardiopathie familiale	Cataracte Décès : 7 mois	$L < 1,5$ $L/P < 15$ $\beta OH/Ac Ac < 1$	Lipidose Anomalies mitochondriales	Complexe I Muscle et lymphocytes
2	12 mois	Tubulopathie	Retard de croissance (- 3DS) Rétinopathie Myopathie Surdité Ataxie Epilepsie Diabète	$L = 3$ $L/P > 20$ $\beta OH/Ac Ac = 1$	Lipidoses Anomalies mitochondriales	Complexe III Muscle et lymphocytes Insertion ADNmt
3	Néonatal	Pancytopenie	Insuffisance pancréatique externe Cytolyse hépatique (syndrome de Pearson) Décès : 2 ans	$L = 4-8$ $L/P > 20$ $\beta OH/Ac Ac = 7 \text{ à } 8$	Normale	Complexe I Lymphocytes Délétion ADNmt
4	18 mois	Régression psychomotrice	Retard de croissance Myopathie Atrophie corticale Leucodystrophie Décès : 3 ans 1/2	$L = 3-6$ $\beta OH/Ac Ac = 1,5-2$	Lipidose	Complexe IV Muscle et lymphocytes
5	1 ^{re} année	Ataxie chronique	Trichorrhexie noueuse Retard psychomoteur Décès : 5 ans	$L < 1,5$ $L/P = 15$ $\beta OH/Ac Ac < 1$	Lipidose Anomalies mitochondriales discrètes	Complexe I Muscle (lymphocytes non faits)
6	4 mois	Coma acidocétosique	Myocardiopathie Insuffisance hépato cellulaire Décès : 4 mois	$L = 15-19$ $L/P > 40$ $\beta OH/Ac Ac = 5-12$	Lipidose massive Anomalies mitochondriales majeures	Complexe I Muscle (lymphocytes non faits)
7	Néonatal	Hypotonie Dysmorphie	Dégradation neurologique Cytolyse hépatique Retard de croissance Décès : 6 mois	$L = 17-21$ $L/P > 50$ $\beta OH/Ac Ac = 3,5-5$	Lipidose Anomalies mitochondriales	Complexe IV Muscle (lymphocytes non faits)

*L : lactate ; P : pyruvate ; 3OH : 3-hydroxybutyrate ; Ac Ac : acétoacétate ; DS : déviation standard ; * Valeurs normales : L = 0,6 – 2,4 ; L/P < 20 ; $\beta OH / AcAc < 2$. Les valeurs sont données en mmoles/litre.*

morphes que seuls de solides arguments métaboliques pouvaient mettre sur la voie d'une cytopathie mitochondriale.

Le véritable problème est en effet de définir les critères métaboliques qui vont conduire à l'exploration approfondie de la chaîne respiratoire. Cette exploration est longue, difficile et nécessite de disposer d'un plateau technique métabolique, enzymologique et moléculaire intégré. En effet, les explorations décisives pour le diagnostic sont effectuées sur des échantillons de sang ou de muscle fraîchement prélevés, près du laboratoire, pour permettre l'isolement rapide des mitochondries, l'étude extemporanée de la consommation d'oxygène par les lymphocytes ou encore le dosage du lactate, du pyruvate, des corps cétoniques et de leur rapport d'oxydoréduction au cours de la journée.

Pourquoi étudier les rapports d'oxydoréduction plasmatique chez les patients? D'après ce qui précède, une enzymopathie de la chaîne respiratoire mitochondriale devrait entraîner *in vivo*: (a) une perturbation profonde du potentiel d'oxydoréduction de la mitochondrie, dont le retentissement est une élévation du rapport β -hydroxybutyrate/acétoacétate (β -OH/ACAc) dans le plasma (figure 3); (b) une anomalie d'utilisation périphérique des substrats avec hyperlactacidémie et élévation des rapports lactate/pyruvate (figure 3); (c) une production exagérée de corps cétoniques par le foie qui, incapable d'oxyder complètement le glucose (car le cycle de Krebs est ralenti), devrait dériver l'acétyl CoA vers la synthèse des corps cétoniques, de manière permanente et en particulier à l'état nourri, ce qui est paradoxal (cétonémie paradoxale) (figure 3).

Nos hypothèses ont été pleinement validées dans des enzymopathies patentées de la chaîne respiratoire (Tableau II). Ainsi, les anomalies métaboliques les plus fréquemment retrouvées sont: une hyperlactacidémie/lactatorachie: 19 fois sur 19; une élévation du rapport plasmatique lactate/pyruvate: 15/18; une élévation du rapport plasmatique β -OH/ACAc: 13/15; une cétonémie permanente: 7/15; une cétonémie paradoxale: 7/14.

m/s n° 7 vol. 5, septembre 89

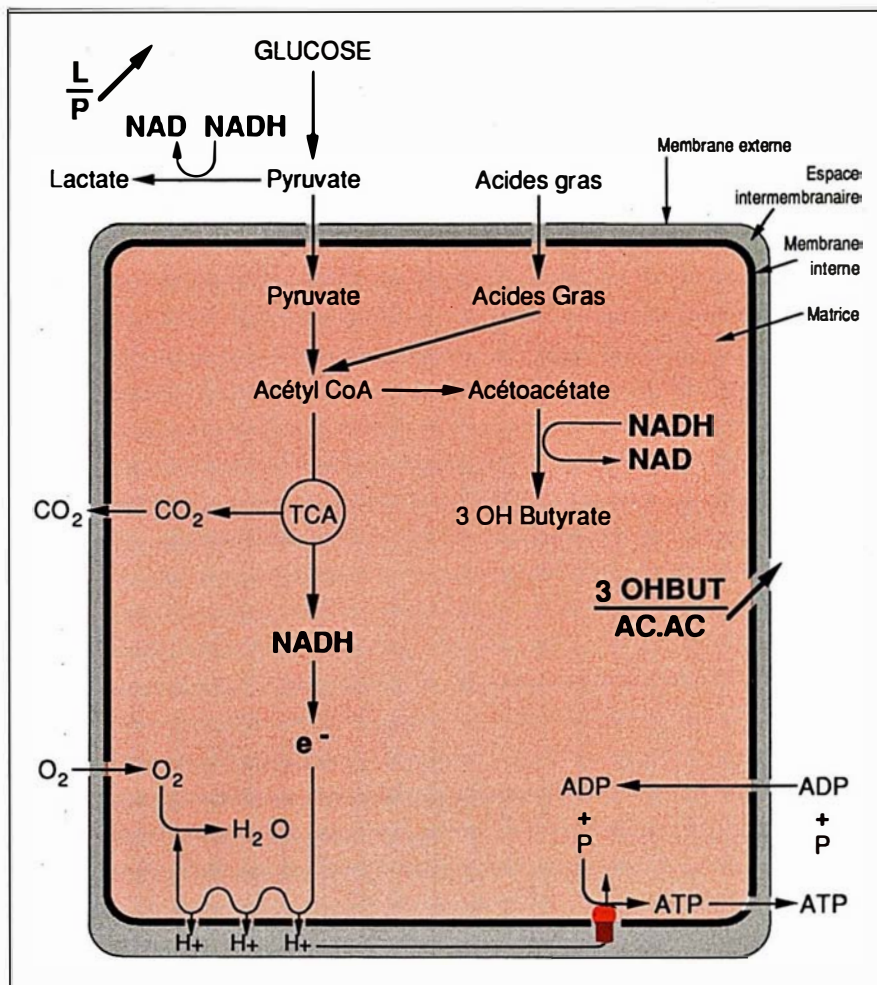


Figure 3. **Métabolisme énergétique mitochondrial.** Le pyruvate provenant de la glycolyse ainsi que les acides gras pénètrent dans la mitochondrie et sont transformés en acétyl CoA. L'acétyl CoA entre à son tour dans le cycle de Krebs et produit du NADH qui est oxydé au niveau de la chaîne respiratoire. Le pyruvate cytoplasmique peut également être réduit en lactate en condition d'anaérobiose. L'acétyl CoA, en cas de jeûne, participe à la cétogenèse en produisant de l'acétoacétate, lui-même en équilibre redox avec le 3-hydroxybutyrate. TCA = tricarboxylic cycle acid (cycle de Krebs); 3OH BUT = 3 hydroxybutyrate; Ac Ac = acétoacétate; L = lactate; P = pyruvate.

Dans le but de porter à bon escient les indications de l'exploration enzymologique de la chaîne respiratoire, nous avons, depuis, pris le parti de rechercher ces stigmates métaboliques chez tous nos enfants suspects de cytopathie mitochondriale, c'est-à-dire présentant une pathologie d'organe: (a) précoce, (b) inexpliquée, (c) familiale ou non et (d) compatible avec un déficit énergétique

que (cardiomyopathie, tubulopathie, rétinite pigmentaire, retard staturopondéral, détresse métabolique avec acidocétose, retard psychomoteur, hypotonie, coma).

L'indication d'une exploration enzymologique une fois portée, notre stratégie d'étude peut être décomposée en trois temps (figure 4, p. 468): (1) étude polarographique de la consommation d'oxygène sur les

27. Ozawa T, Yoneda M, Tanaka M, *et al.* Maternal inheritance of deleted mitochondrial DNA in a family with mitochondrial myopathy. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 154 : 1240-7.

28. Johns DR, Drachman DB, Hurko O. Identical mitochondrial DNA deletion in blood and muscle. *Lancet* 1989; 1 : 393-394.

29. Moraes CT, Zeviani M, Vlcek BM, *et al.* Lowe syndrome: deletion of mitochondrial DNA in a girl. *Am Soc Hum Genet* 1988; 43 (suppl.): A.90.

30. Rötig A, Colonna M, Bonnefont JP, *et al.* Mitochondrial DNA deletion in Pearson's marrow-pancreas syndrome. *Lancet* 1989; 1 : 902-3.

31. Rötig A, Colonna M, Bonnefont JP, *et al.* Rearrangements of the mitochondrial genome might involve directly-repeated sequences in Pearson's syndrome. Soumis pour publication..

32. Shon EA, Rizzuto R, Moraes CT, *et al.* A direct repeat is a hotspot for large-scale deletion of human mitochondrial DNA. *Science* 1989; 244 : 346-9.

33. Estabrook RW. Mitochondrial respiratory control and the polarographic measurement of ADP : O ratios. *Methods Enzymol* 1967; 10 : 41-7.

34. Sottocasa GL, Kuylensstiern AB, Ernster L, Bergstrand A. An electron transport system associated with the outer membrane of liver mitochondria. *J Cell Biol* 1967; 32 : 415-38.

35. Rötig A, Colonna M, Blanche S, *et al.* Deletion of blood mitochondrial DNA in pancytopenia. *Lancet* 1988; 2 : 567-8.

36. Pearson HA, Lobel JS, Kocoshis SA, *et al.* A new syndrome of refractory sideroblastic anemia with vacuolization of marrow precursors and exocrine pancreatic dysfunction. *J Pediatr* 1979; 95 : 976-84.

37. Dujon B, Belcour L. Mitochondrial DNA instabilities and rearrangements in yeasts and fungi. In : *DNA Mobility*. 1988, (sous presse).

38. Linnase AW, Marzuki S, Ozawa T, Tanaka M. Mitochondrial DNA mutations as an important contributor to ageing and degenerative diseases. *Lancet* 1989; 1 : 642-5.

39. Wallace DC. Mitochondrial DNA mutations and neuromuscular disease. *Trends Genet* 1989; 5 : 9-13.

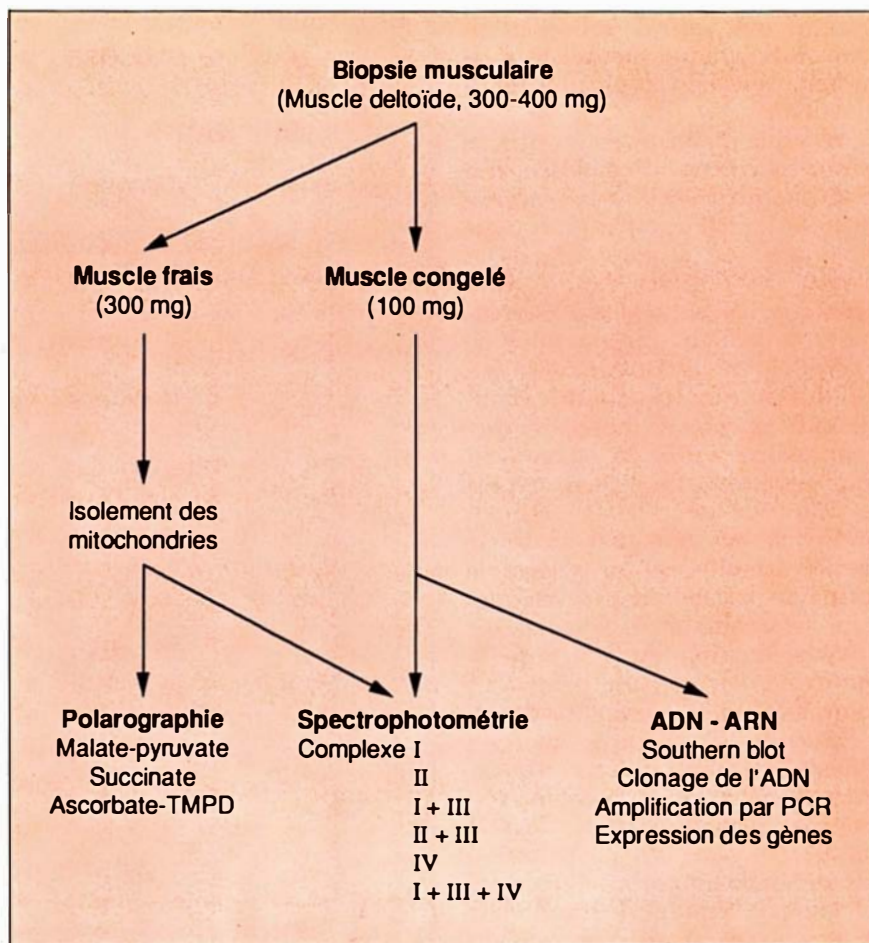


Figure 4. **Stratégie d'étude enzymologique et moléculaire des enzymopathies de la chaîne respiratoire mitochondriale.** TMPD = tétraméthylphénylène diamine.

mitochondries fraîchement isolées [33]; (2) dosage enzymatique des complexes par spectrophotométrie [34]; (3) étude de la consommation d'oxygène par les lymphocytes entiers, purifiés sur gradient de Ficoll.

Ce test permet d'étudier le fonctionnement de la chaîne respiratoire et son approvisionnement en substrats par le cycle de Krebs ou par la β -oxydation. Cette méthode de dépistage rapide des déficits énergétiques, sur un prélèvement facilement accessible (une simple prise de sang), est originale et n'avait jamais été rapportée auparavant [35].

C'est ainsi que nous avons été ame-

nés à porter l'indication d'une exploration enzymologique chez 150 malades depuis le 1^{er} février 1987. Parmi eux, 39 patients (26 %) présentaient un déficit enzymatique avéré (27 déficits du complexe I, 3 déficits du complexe III, 9 déficits du complexe IV).

Les prélèvements faits chez ces 39 patients (muscle ou lymphocytes) ont été soumis à une exploration moléculaire systématique à la recherche de remaniements importants dans leur génome mitochondrial, à l'aide de sondes clonées dans notre laboratoire. Quatre d'entre eux (10 %) sont porteurs, à l'état hétéroplasmique, de remaniements

majeurs de l'ADNmt détectables en *Southern blot**. Il s'agit d'un enfant dont la maladie a été révélée par une tubulopathie (*observation n° 2, Tableau II*) et de trois autres enfants présentant un syndrome de Pearson typique et dont la maladie s'est déroulée de manière stéréotypée dans les trois cas (*observation n° 3, Tableau II*).

S'il n'a pas été possible de mettre en évidence, chez les 35 autres patients, de remaniements majeurs de leur ADNmt, il n'en demeure pas moins qu'ils peuvent être porteurs de microdélétions ou de mutations ponctuelles dans leur ADNmt ou, bien entendu, de mutations affectant des gènes nucléaires.

Une nouvelle maladie mitochondriale : le syndrome de Pearson. La maladie de Pearson (McKusick n°26056)** est une anémie sidérolastique réfractaire de l'enfance associée à une vacuolisation des pré-curseurs médullaires et à une insuffisance pancréatique externe. L'anémie macrocytaire débute dès l'enfance, requiert de fréquentes transfusions et s'associe à une neutropénie et à une thrombopénie [36]. C'est la présence d'une acidose métabolique permanente avec hyperlactatémie qui nous a mis sur la voie d'une cytopathie mitochondriale dans la maladie de Pearson. La constatation de rapports d'oxydoréduction très anormaux nous a conduits à tester, chez ces patients, la consommation d'oxygène par les lymphocytes entiers et l'activité des enzymes de la chaîne respiratoire sur les mêmes cellules cassées. La découverte d'un déficit profond du complexe I nous a alors amenés à explorer l'organisation de leur ADNmt puisque 13 polypeptides de la chaîne respiratoire sont codés par ce génome.

Tous nos patients étaient effective-

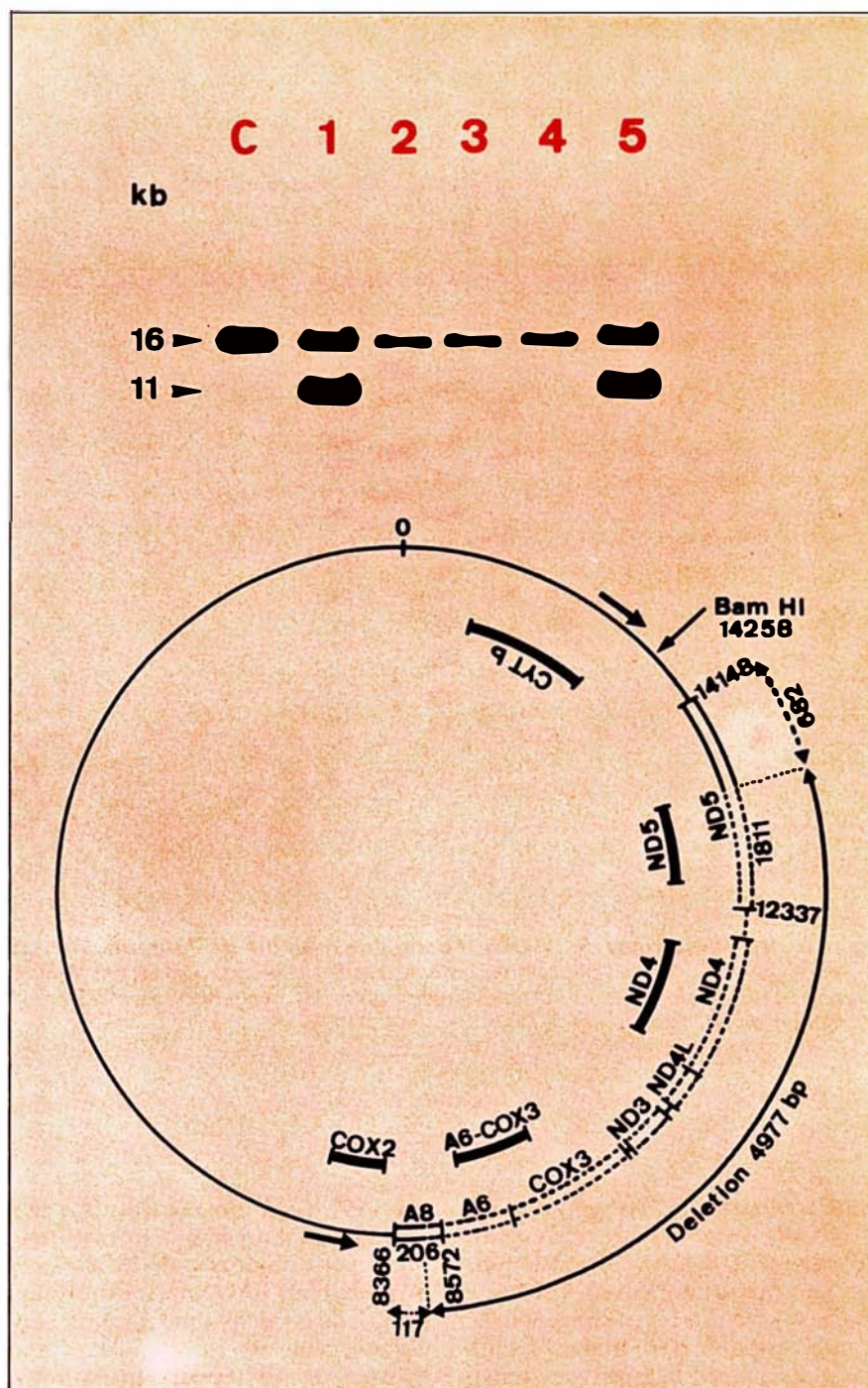


Figure 5. **Hybridation de l'ADN leucocytaire d'un témoin (c) et d'un patient à l'aide de sondes d'ADNmt.** En bas : représentation de l'ADNmt et des sondes utilisées. L'hybridation avec une sonde de cytochrome oxydase II (Cox 2, canal 1) et de cytochrome b (cyt b, canal 5) révèle la population d'ADNmt normale de 16 kb et une population anormale à 11 kb. L'hybridation avec les sondes ATPase 6-cytochrome oxydase III (A6-Cox 3, canal 2), NADH déshydrogénases 4 et 5 (ND4 et ND5, canaux 3 et 4 respectivement) ne révèle que la population normale. Les pointillés représentent la région de l'ADNmt délétée. Les flèches représentées sur le cercle indiquent la position des oligonucléotides utilisés pour l'amplification par PCR des extrémités de la délétion.

* Voir m/s suppl. au n° 7, vol. 3, p. 2-3.

** V.A. McKusick a publié un catalogue des maladies à transmission mendélienne qui fait autorité : McKusick V.A. *Mendelian inheritance in man*. The Johns Hopkins Univ. Press, 6th edition, 1983. Il est d'usage fréquent de donner ce numéro « McKusick » des maladies génétiques rares.

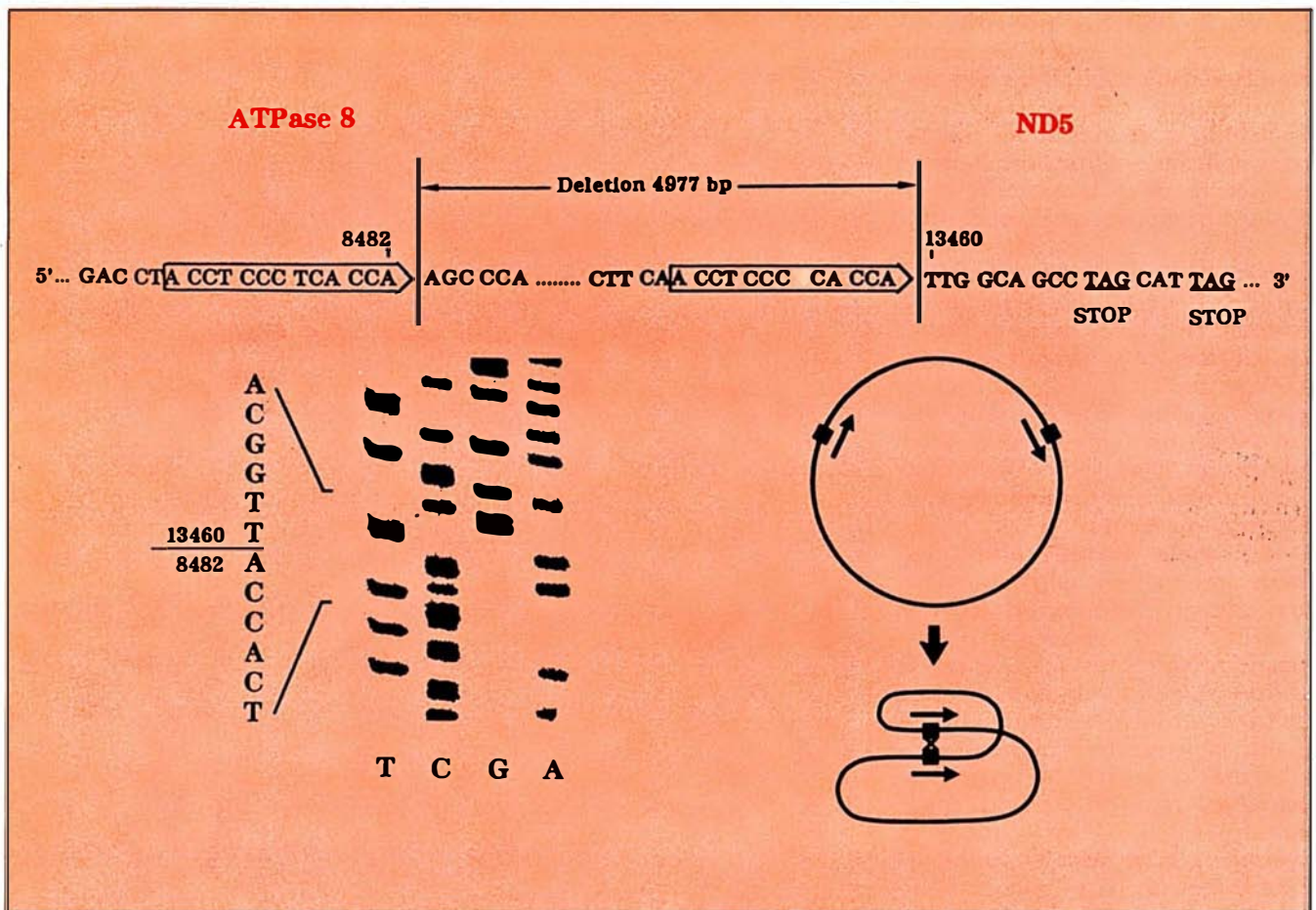


Figure 6. **Remaniement de l'ADNmt dans une maladie de Pearson.** En haut : séquence nucléotidique du remaniement. En bas à gauche : l'autoradiogramme montre que le nucléotide 13460 fait immédiatement suite au nucléotide 8482. En bas à droite : une recombinaison intramoléculaire entre les séquences répétées (carrés noirs avec flèche) serait impliquée dans la délétion de l'ADNmt.

ment porteurs de deux populations d'ADNmt, l'une d'entre elles étant partiellement délétée. Ces délétions ont été cartographiées à l'aide de sondes d'ADNmt. L'étendue des délétions est variable d'un malade à l'autre, mais l'amplification des remaniements par la technique *polymerase chain reaction* (PCR)*** suivie de leur séquençage nucléotidique nous a permis de définir les points de cassure exacts et de caractériser les limites de ces délétions. La figure 5 (p. 469) montre une délétion typique chez une enfant porteuse d'une maladie de Pearson, s'étendant

sur 4977 bases (du nucléotide 8482 au nucléotide 13460). Fait essentiel, une répétition directe de 13 bases est présente dans l'ADNmt sauvage aux limites de ces délétions (figure 6). La découverte de répétitions directes aux limites des délétions mitochondriales, dans la maladie de Pearson, suggère que les réarrangements du génome mitochondrial pourraient ne pas survenir au hasard, mais qu'il existerait des *hot-spots* sur ce génome, c'est-à-dire des régions plus propices que d'autres à subir des réarrangements. Ainsi, ces répétitions directes favoriseraient les recombinaisons, les délétions et les duplications, en particulier lors de la réplication de l'ADN mitochondrial (figure 6).

Tout cela rappelle étrangement les recombinaisons illégitimes qui produisent les mutants petites suppressives de la levure *S. Cerevisiae*, mais aussi celles qui donnent lieu à la sénescence du mycélium *P. anserina* [37].

De surcroît, il semble qu'un mécanisme identique, impliquant les mêmes séquences répétées, soit en cause dans une maladie neuromusculaire radicalement différente, la maladie de Kearns-Sayre [32].

Conclusion

Il serait sans doute bien présomptueux de prétendre conclure ce qui n'est probablement qu'une entrée en matière ! Il ne fait aucun doute pour

*** Voir m/s n°8, vol. 4, p. 515-517.

nous que la saga des cytopathies mitochondriales n'en est encore qu'à ses débuts. Combien de malformations, d'associations morbides inexplicables, comme la maladie de Pearson ou le syndrome de Kearns-Sayre, dorment-elles paisiblement derrière de pompeux noms propres ou un numéro du catalogue de McKusick ? Parviendrons-nous à remettre en cause ces atteintes pluritissulaires mystérieuses que, chacun dans nos spécialités, nous avons appris à connaître et à traiter sans vraiment nous interroger sur leur véritable nature ? Le taux élevé des mutations somatiques ou germinales de l'ADNmt joint au mode de ségrégation aléatoire des mitochondries lors du développement devrait pourtant jeter une lumière originale sur ce qui, dans les prochaines années, pourrait bien devenir les « nouvelles maladies de système »...

Dans l'éventualité où une pathologie d'organe a pu être rapportée à sa cause mitochondriale, bien des questions restent encore en suspens. Quelle est la part des gros remaniements, des microdélétions et des mutations ponctuelles dans les anomalies du génome mitochondrial ? Quelle est celle des mutations nucléaires dans les enzymopathies de la chaîne respiratoire ? Quel est le mécanisme moléculaire exact des réarrangements impliquant des répétitions directes de l'ADNmt et pourquoi ces mêmes répétitions directes, pourtant présentes dans toutes nos cellules, donnent-elles tantôt lieu à une maladie de Pearson, tantôt à un syndrome de Kearns-Sayre et tantôt... se tiennent-elles tranquilles ? Se pourrait-il que des mutations somatiques s'accumulent à un taux élevé dans l'ADNmt de nos cellules contribuent ainsi au vieillissement de nos tissus et à l'apparition de maladies dégénératives de l'adulte [38] ?

Une interminable liste de questions soulevées par les ratés occasionnels de la plus vieille et la plus fiable de toutes les ressources énergétiques de l'homme... ■

Remerciements

Nous remercions l'association française contre les myopathies (AFM) de son soutien sans failles.

Summary

The rearrangements of the mitochondrial genome in the disorders of energetic metabolism in children

Major rearrangements of the mitochondrial DNA have been identified in patients with certain neuromuscular diseases. However, the mitotic segregation of mitochondria during development should result in extra-neuromuscular mitochondrial cytopathies as well. Along these lines, our discovery of deletions of the mitochondrial (mt) genome in four unrelated children with Pearson's syndrome (a fatal disorder of hitherto unknown etiology involving the hematopoietic system, the exocrine pancreas, liver, and kidneys) led us to postulate that this syndrome belongs to the group of mitochondrial cytopathies and that it is due to a mitochondrial respiratory enzyme defect. In addition, we suggest that the short repeats found at the boundaries of the deleted sequences might have promoted intramolecular recombinations in the mt genome, as it occurs in the yeast mutant called « petite » (or rho⁻).

TIRÉS A PART

A. Rötig.

FLASH

IDENTIFICATION DU GÈNE DE LA MUCOVISCIDOSE (additif au Flash de la page 498).

Le gène est très grand (250 kpb) ; 70 % des malades porteraient une seule mutation, une délétion de trois bases faisant disparaître la phénylalanine 508.