



HAL
open science

Régulations des fonctions mitochondriales dans la perspective de nouvelles pistes de traitement de la maladie d'Alzheimer

Slavica Krantic, Remi Quirion

► To cite this version:

Slavica Krantic, Remi Quirion. Régulations des fonctions mitochondriales dans la perspective de nouvelles pistes de traitement de la maladie d'Alzheimer. Tillement J-P.; Hauw J-J. Déclin cognitif, obésité, diabète et autres troubles métaboliques: synergies franco-québécoises, Synergies franco-québécoises - Dixième année (2009-2019), pp 215-27, 2020, Rapports de l'Académie Nationale de Médecine. hal-03097644

HAL Id: hal-03097644

<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-03097644v1>

Submitted on 5 Jan 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Régulations des fonctions mitochondriales dans la perspective de nouvelles pistes de traitement de la maladie d'Alzheimer

MOTS-CLES : FACTEUR INDUCTEUR D'APOPTOSE, VIEILLISSEMENT, NEURO-DEGENERESCENCE

Regulation of mitochondrial functions in the light of new treatment perspectives for Alzheimer's disease

KEY-WORDS: APOPTOSIS INDUCING FACTOR, AGING, NEURODEGENERATION

Slavica KRANTIC*, Rémi QUIRION**

Mme. Krantic déclare n'avoir aucun lien d'intérêt en relation avec le contenu de cet article.

M. Quirion déclare n'avoir aucun lien d'intérêt en relation avec le contenu de cet article

RÉSUMÉ

L'incidence de maladies métaboliques telles l'obésité, le diabète de type-2 et la maladie d'Alzheimer (MA), augmente partout dans le monde et devient un problème de santé publique préoccupant. Les mitochondries, au vu de leur rôle central dans la régulation du métabolisme, apparaissent comme un possible dénominateur commun de ces maladies. Or le fonctionnement des mitochondries repose sur la chaîne respiratoire dont l'intégrité implique une protéine découverte pour son rôle dans la mort cellulaire par apoptose (AIF : Apoptosis Inducing Factor). Nous avons montré que dans le cortex frontal et temporal des patients décédés avec la MA, la diminution de la forme d'AIF protégeant l'intégrité de la chaîne respiratoire, plutôt que l'induction de sa forme apoptotique, corrèle avec la maladie. AIF pourrait donc devenir une cible intéressante pour le développement de futures thérapies de maladies métaboliques, au-delà de la MA.

*Centre de recherche St. Antoine, INSERM UMRS 938, 184 rue du Faubourg Saint-Antoine, 75012 Paris. E-mail : slavica.krantic@inserm.fr

** Bureau du Scientifique en chef du Québec, Fonds de recherche du Québec, 500 rue Sherbrooke Ouest, Montréal, H3A 3C6 Québec, Canada

Tirés à part : Dr Slavica KRANTIC, même adresse.

INTRODUCTION

L'obésité et le diabète de type-2 (DMT2), les maladies métaboliques classiques, sont considérés comme des épidémies de l'ère moderne et cela malgré leur caractère non-transmissible. Le statut de maladie épidémique a également été décerné à la maladie d'Alzheimer (MA), par l'Organisation Mondiale de la Santé, sur la base de l'augmentation exponentielle du nombre de cas dans le monde. De plus, des analogies entre les facteurs de pathogénèse de la MA et du DMT2 [1,2] suggèrent que la MA devrait aussi être considérée comme une maladie métabolique [3]. Sur le plan systémique, ces analogies impliquent, par exemple, l'amyloïdose, l'hyperglycémie, la résistance à l'insuline, l'inflammation périphérique et locale (dans le système nerveux et dans le pancréas) ainsi que la dégénérescence tissulaire. Sur le plan cellulaire, à la fois dans la MA et le DMT2, on trouve entre autres la dystasie calcique, le stress du réticulum endoplasmique et le stress oxydant [2]. Ces altérations cellulaires impliquent toutes la mitochondrie, l'organe clef du métabolisme et de la production d'énergie.

Dans les cellules de mammifères, l'énergie est produite principalement par les phosphorylations oxydatives le long de la chaîne respiratoire portée par la membrane interne de la mitochondrie. Ce processus est initié par l'oxydation du NADH (co-enzyme du métabolisme intermédiaire généré dans le cycle de Krebs dans la matrice mitochondriale) qui libère d'une part un électron accepté par le complexe-I de la chaîne respiratoire et, d'autre part, un proton libre dans l'espace intermembranaire de la mitochondrie. L'énergie libérée par le « transfert de l'électron » le long d'une série de couples oxydoréductifs membranaires et l'énergie potentielle du gradient de protons trans-membranaire sont récupérées au niveau de la membrane mitochondriale interne par l'enzyme ATP-synthase. La traversée du canal ionique de l'ATP-synthase par le flux de protons permet de catalyser la synthèse endothermique d'ATP à partir d'ADP en présence d'ion phosphate. Le bilan final de la phosphorylation oxydative comprend donc la production d'ATP, source pléiotrope d'énergie cellulaire, ainsi que la production de NAD (forme oxydée de NADH) et d'eau issue de la réduction d'oxygène moléculaire par les protons et électrons ci-dessus. La récupération d'énergie sous forme d'ATP au cours de la phosphorylation oxydative, est accompagnée de la genèse des « espèces réactives d'oxygène » ou ROS (pour Reactive Oxygen Species). Ces derniers sont rendus fortement oxydants par leur électron libre sur la couche externe de l'atome d'oxygène et peuvent endommager les macromolécules cellulaires (protéines, lipides, acides nucléiques). L'état caractérisé par la présence de taux élevés de ROS et de constituants cellulaires altérés par oxydation / peroxydation est désigné « stress oxydant » [4].

LA MITOCHONDRIE : CIBLE THERAPEUTIQUE POUR LA MALADIE D'ALZHEIMER ?

MA et mitochondrie

Le nombre de patients atteints de MA continue à augmenter exponentiellement partout dans le monde à cause du vieillissement des populations. Cette maladie est caractérisée par un long stade préclinique avant que les premiers symptômes cognitifs apparaissent. Les approches thérapeutiques de la MA restent palliatives à ce jour. Afin de développer des traitements curatifs, le grand espoir est actuellement porté sur la compréhension des mécanismes

précoces de la MA, notamment de ceux qui déclenchent la dégénérescence et la mort neuronales associées à la MA. La stratégie sous-jacente consisterait à agir sur ces mécanismes avant que la neurodégénérescence devienne irréversible et donc à retarder l'avènement de la maladie et sa progression [5]. Cette stratégie prend tout son sens au vu du constat que la MA débute en moyenne une quinzaine d'années avant de pouvoir être diagnostiquée [6].

Le long stade préclinique est associé à l'expression de la protéine amyloïde-bêta ($A\beta$) (considérée, avec la protéine tau hyperphosphorylée, comme une des causes majeures du déclenchement de la cascade neurotoxique) [7]. L'accumulation de l' $A\beta$ sous forme insoluble dans des plaques extracellulaires, dites amyloïdes ou séniles, correspond à une altération histopathologique caractéristique de la maladie. D'après l'hypothèse amyloïde, cette accumulation d' $A\beta$ déclenche une cascade neurodégénérative incluant le dysfonctionnement synaptique et les altérations pro-inflammatoires qui précèdent les symptômes cognitifs [7].

Hypothèse de la cascade mitochondriale de la MA

Bien que le cadre conceptuel de l'hypothèse de la cascade amyloïde reste largement admis, le rôle causal des plaques amyloïdes (selon l'hypothèse originelle) ou d'oligomères d' $A\beta$ (selon l'hypothèse révisée) a été remis en cause. Une hypothèse plus récente, dite de la cascade mitochondriale, rend compte (contrairement à l'hypothèse de la cascade amyloïde) du phénomène déclencheur de l'accumulation de l' $A\beta$. Ce phénomène serait lié au dysfonctionnement mitochondrial et au stress oxydant qui en résulte [8]. Le lien entre le stress oxydant et la MA est en effet largement établi [9]. En particulier, des études utilisant la technique de cybride qui repose sur le transfert de mitochondries provenant des plaquettes sanguines des sujets MA dans les cellules de lignées neuronales (par exemple neuroblastome) dépourvues de l'ADN mitochondrial (mtADN) ont apporté des évidences solides en faveur de l'hypothèse de la cascade mitochondriale. Ainsi, les cybrides contenant l'ADN mitochondrial de sujets atteints de la MA, présentaient une production d'ATP diminuée alors que les taux intracellulaires du Ca^{2+} , des ROS et des molécules d'ADN (mitochondrial et nucléaire) endommagées sont augmentés. Ces cybrides montraient également l'expression augmentée de l' $A\beta$. (Celui-ci est produit, au moins en partie, localement car à la fois le précurseur d' $A\beta$ ($A\beta$ Precursor Protein, APP) et l'enzyme γ -sécrétase catalysant la biogénèse d' $A\beta$ ont été identifiés sur les membranes mitochondriales). Par ailleurs, la dynamique mitochondriale est sévèrement affectée dans les cybrides avec la biogénèse et la fusion diminuées et, à l'inverse, la fission plus élevée. De façon remarquable, des altérations similaires ont été identifiées chez les cybrides avec le mtADN provenant des sujets au stade prodromal de la MA (Mild Cognitive Impairment ou MCI), suggérant le dysfonctionnement mitochondrial des stades cliniques de la MA les plus précoces [8].

Le dysfonctionnement mitochondrial a été identifié également, grâce à des modèles animaux qui permettent d'en aborder la cinétique, durant des stades pré-symptomatiques qui dans ces modèles correspondent aux stades où les plaques amyloïdes sont encore indétectables. Notamment, l'augmentation du taux de Ca^{2+} intracellulaire, observée dans les neurones de souris-modèle MA ayant des mitochondries dysfonctionnelles, a pour conséquence la levée du blocage qu'exerce le Mg^{2+} (en absence du Ca^{2+}) sur le récepteur au glutamate de type NMDA. Ce récepteur, avec le récepteur AMPA, joue un rôle majeur dans la neurotransmission excitatrice *via* glutamate. La levée du blocage par Mg^{2+} aboutit par conséquent à l'hyperexcitabilité neuronale. Ces données suggèrent que le dysfonctionnement mitochondrial précède le dysfonctionnement synaptique et se place donc en amont de l'augmentation initiale des niveaux d' $A\beta$. Dans les régions vulnérables à la MA comme l'hippocampe et le

cortex, l'augmentation d'A β et le défaut d'activité synaptique qu'elle induit, ont été associés à une hyperactivation des réseaux neuronaux qui est probablement à l'origine d'une communication altérée entre les groupes et les réseaux de neurones [10]. Or, la communication optimale entre les réseaux neuronaux est indispensable pour l'apprentissage et la mémoire [11]. Les mécanismes à l'origine de cette hyperactivation restent méconnus, mais il a été proposé qu'ils surviendraient suite à la potentialisation de la voie excitatrice glutamatergique. Parmi les réponses adaptatives mises en place pour diminuer l'excitabilité de réseaux neuronaux dans le contexte d'une production accrue d'A β , il a été rapporté un renforcement très précoce de la neurotransmission synaptique inhibitrice *via* GABA [10]. Ce renforcement inclut l'augmentation du nombre de contacts synaptiques des neurones GABAergiques sur leurs cibles, ou encore de l'expression de certains neuropeptides (Neuropeptide-Y, parvalbumine) modulant négativement la neurotransmission [12-14]. De manière importante, dans les stades plus avancés de la pathologie de type MA, à la fois chez les patients post-mortem et dans les modèles de souris, on observe une dégénérescence des neurones GABAergiques [12,13] (et les références citées), suggérant que cette réponse adaptative a une capacité limitée qui pourrait être liée à la vulnérabilité particulièrement élevée de ces neurones au dysfonctionnement mitochondrial et au stress oxydant [15].

AIF et la MA

AIF (Apoptosis Inducing Factor) est une flavoprotéine mitochondriale qui a un rôle à la fois vital (*via* la régulation des phosphorylations oxydatives) et létal (*via* le déclenchement de mort cellulaire programmée par apoptose). La capacité d'AIF d'induire la mort cellulaire par apoptose ne dépend pas de l'activation des protéases nommées caspases, qui sont instrumentales dans de nombreux modèles physiologiques d'apoptose. La structure moléculaire d'AIF a été caractérisée en détail : la partie de la molécule régulant la phosphorylation oxydative est située du côté N-terminal alors que la séquence déclenchant la mort cellulaire se trouve du côté C-terminal [16].

L'AIF est synthétisé sous forme d'un précurseur cytoplasmique de 67 kDa qui est adressé à la mitochondrie grâce à deux séquences MLS (Mitochondria Localization Sequence). Dans la mitochondrie, une protéase inconnue clive le précurseur de 67 kDa en forme active de 62 kDa (mAIF pour AIF mitochondrial). Celle-ci est insérée dans la membrane interne avec le côté N-terminal orienté vers la matrice et le côté C-terminal orienté vers l'espace intermembranaire de la mitochondrie. La fonction physiologique d'AIF dans la phosphorylation oxydative est liée à sa présence indispensable pour maintenir l'intégrité du complexe-I de la chaîne respiratoire même si l'AIF ne fait pas partie de ce complexe proprement dit. Dans les conditions pathologiques, suite à la perméabilisation de membrane mitochondriale, les enzymes cytoplasmiques activés par une augmentation du taux de Ca²⁺ intracellulaire comme la calpaïne et la cathepsine, peuvent entrer dans la mitochondrie où elles clivent le mAIF. Ce clivage produit une forme d'AIF de 57 kDa (tAIF, pour AIF tronqué) et révèle une séquence de localisation nucléaire (Nuclear Localization Sequence, NLR) responsable de la translocation nucléaire du tAIF. Cette dernière ne possède pas d'activité endonucléase intrinsèque, mais peut s'associer dans le noyau avec des endonucléases et participer au clivage d'ADN en gros fragments signant l'apoptose indépendante des caspases (contrairement au clivage en fragments multiples de 180 paires de base caractéristique de l'apoptose dépendante des caspases) [16].

Ces propriétés de l'AIF permettent un aperçu de sa fonction sur la base structurale. Par exemple, la détection de la forme de 62 kDa par western blot implique les fonctions mitochondriales physiologiques alors que l'identification de la forme de 57 kDa indique l'induction d'apoptose indépendante de caspases. En corollaire de cette relation structure-fonction, la simple localisation subcellulaire d'AIF permet aussi d'en déduire la fonction. Ainsi, la localisation

cytoplasmique d'AIF, due à sa présence mitochondriale, signe ses fonctions vitales, alors que la présence nucléaire d'AIF indique son implication dans la mort cellulaire.

Durant les années 2000, des études réalisées sur les souris mutantes naturelles d'AIF connues sous le nom Harlequin (Hq) avec une expression réduite d'AIF, d'une part, et sur les modèles cellulaires transfectés avec les siARN pour diminuer l'expression d'AIF d'autre part, ont apporté des évidences en faveur du rôle d'AIF dans la neurodégénérescence [16]. Ce rôle était assez bien étayé dans les modèles de neurodégénérescence de type excitotoxique. Par exemple, les neurones corticaux en culture dérivés de souris Hq sont bien plus résistants à l'induction de mort cellulaire par les agonistes du glutamate (NMDA et kainate) que les neurones corticaux dérivés de souris contrôles [17]. Ces données ont été confirmées *in vivo* dans un modèle d'ischémie [18] indiquant qu'AIF est un médiateur majeur de la neurodégénérescence aigüe induite par le glutamate qui, de plus, a été associée au stress oxydant [16,18]. Toutefois, à l'époque, il n'était pas connu si l'AIF jouait un rôle analogue dans les neurodégénérescence de type chronique, comme la maladie de Parkinson ou la MA.

Etudes chez l'Homme

Nous avons alors décidé d'aborder l'implication d'AIF dans la MA grâce à une étude collaborative soutenue par les échanges scientifiques franco-qubécois entre le FRQS et l'INSERM. Ce soutien, dont nous avons bénéficié à trois reprises consécutives, a révélé une vraie synergie entre nos intérêts et motivations scientifiques. Il nous a permis de mettre au profit de la collaboration nos complémentarités conceptuelles dans l'étude de la MA (du côté québécois) et des mécanismes moléculaires de mort cellulaire programmée indépendante des caspases (du côté français), ainsi que l'accès à des tissus humains post-mortem via la Banque de cerveaux de l'hôpital Douglas (Montréal) à une époque où ce type d'échantillons était encore très peu accessible.

Il fallait d'abord vérifier si la mort neuronale induite par l'A β implique l'AIF. Nos résultats *in vitro*, obtenus dans une culture primaire de neurones corticaux de souris, montraient que tel est le cas car l'ajout d'A β induit bel et bien la translocation nucléaire d'AIF et la mort neuronale [19]. De plus, dans cette étude nous avons montré que les effets neuroprotecteurs de la nicotine, reconnue auparavant pour ses capacités de bloquer l'apoptose dépendante des caspases, passent aussi par le blocage de la translocation nucléaire d'AIF. En amont d'AIF, ces effets de la nicotine impliquent le récepteur de type $\alpha 7$ et l'activation de la voie des kinases PI3/Akt [19].

Cette vérification *in vitro* étant faite, nous nous sommes demandés si la translocation nucléaire d'AIF, et donc la mort neuronale l'impliquant, pouvaient être détectés par immunohistochimie dans les tissus cérébraux post-mortem des patients décédés avec la MA. La réponse était oui et nous étions les premiers à démontrer que dans l'hippocampe, comme dans le cortex frontal et temporal de personnes décédés avec la MA, l'AIF est détectable dans les noyaux de neurones [20]. Cette translocation nucléaire est spécifique de l'accumulation d'A β dans le contexte de la MA car nous ne l'avons pas retrouvée dans une maladie voisine (démence à corps de Lewy) qui implique également l'accumulation d'A β [20]. La translocation nucléaire d'AIF chez les patients MA a été confirmée par biochimie en comparant les contenus d'AIF dans les extraits obtenus par fractionnement subcellulaire de tissus cérébraux : ce taux était systématiquement plus élevé dans les fractions nucléaires de patients que chez les contrôles [20].

A l'époque où nous avons mené ces études, la MA était encore considérée comme une forme accélérée du vieillissement cérébral physiologique. Pour rechercher si le lien entre le vieillissement et la MA pouvait impliquer l'AIF, nous avons étudié l'expression de ses différentes formes (67, 62 et 57 kDa) dans le cortex et l'hippocampe de sujets jeunes, d'âge moyen et âgés. Les résultats de ces études ont clairement montré que le taux de mAIF augmentait au cours du vieillissement cérébral non-pathologique, probablement à cause de l'expression augmentée du précurseur de 67 kDa, qui suivait le même décours [21]. Par contre, l'expression de la forme tAIF (impliquée dans la mort neuronale et par conséquent la neurodégénérescence) restait indétectable jusqu'à l'âge le plus avancé que nous avons étudié (74 +/- 2 ans). De plus, l'expression globale des trois formes d'AIF étudiées apparaissaient plus faible dans les tissus MA que chez les contrôles neurologiquement sains du même âge [21]. Toutefois, comme discuté plus haut, cette moindre expression globale chez les patients MA semble associée à une translocation nucléaire plus importante [20]. L'ensemble de nos résultats sur le tissu humain serait donc en accord avec l'hypothèse de la cascade mitochondriale de la MA [8]. En effet, l'expression augmentée de la forme mitochondriale (mAIF) d'AIF au cours du vieillissement cérébral normal pourrait représenter un mécanisme de compensation du fonctionnement mitochondrial déclinant avec l'âge. Dans ce contexte, l'avènement de la MA pourrait être associée à l'incapacité de neurones à compenser le dysfonctionnement mitochondrial lié à l'âge par une expression augmentée de mAIF.

Etudes dans des modèles animaux

Les études menées sur le tissu humain post-mortem étaient indispensables pour authentifier l'implication d'AIF dans la MA. Toutefois, ces études ne donnent accès qu'aux stades terminaux de la pathologie et par conséquent ne permettent pas d'en aborder les mécanismes précoces. Afin de pouvoir tester l'implication d'AIF dans le dysfonctionnement mitochondrial précoce, nous avons donc eu recours au modèle de la souris transgénique CRND8 (TgCRND8). Chez cette souris, le stade préclinique correspond à une période pré-plaque qui s'étend de la naissance jusqu'à 2-3 mois d'âge [22]. Les plaques apparaissent à partir de l'âge de 3 mois dans l'hippocampe et le cortex cérébral, puis s'étendent au reste du cerveau de manière ordonnée et progressive, mimant ainsi une des caractéristiques majeures de la pathologie humaine [22]. La neuroinflammation culmine vers l'âge de 6-7 mois, au moment où l'on détecte la mort neuronale de la population vulnérable de neurones GABAergiques [12,13]. Même si, comme la plupart des modèles murins, la souris TgCRND8 ne présente pas de neurodégénérescence majeure, la mort neuronale affecte plusieurs types neuronaux vers l'âge de 9 mois [22].

Nous avons tout d'abord recherché si la translocation nucléaire d'AIF a lieu au stade avancé de la pathologie (9 mois). Nos résultats montrent que, comme dans le tissu humain post-mortem, tel est bien le cas [23]. L'analyse subséquente de la cinétique d'expression de la forme tAIF (et de sa translocation nucléaire sous-jacente) montre qu'au stade pré-plaque, il n'y a pas de différence entre les souris TgCRND8 et les souris non-transgéniques (contrôles) à la fois dans l'hippocampe et dans le cortex. Par contre l'analyse comparative entre les deux génotypes aux autres âges étudiés montre l'expression augmentée de la forme tAIF de 57kDa sélectivement dans le cortex (alors que l'expression corticale reste stable pour la forme mAIF). A l'inverse, dans l'hippocampe de souris TgCRND8, c'est l'expression de la forme mAIF qui augmente et le tAIF reste stable [23]. Sur la base de ces données, il ressort que le mécanisme impliquant l'AIF dans la mort cellulaire pourrait différer entre les 2 régions : dans le cortex, il s'agirait de la translocation nucléaire d'AIF alors que dans l'hippocampe, AIF

provoquerait la mort neuronale indirectement par défaut de son rôle compensatoire. Remarquablement, la baisse de production d'ATP et l'induction de ROS se produisent déjà à l'âge de 2 mois [23]. Ces données indiquent que, du moins dans le cortex, le dysfonctionnement mitochondrial précède l'augmentation du tAIF et par conséquent la mort neuronale *via* sa translocation nucléaire, en accord avec l'hypothèse de la cascade mitochondriale [8].

Pour aborder le rôle d'AIF dans la mort neuronale plus directement, nous avons par la suite utilisé une souris exprimant l'AIF dont la partie C-terminale (pro-apoptotique) a été mutée alors que la partie N-terminale était préservée [24]. D'après notre hypothèse, étant donné que la fonction mitochondriale d'AIF était préservée, les souris mutantes devraient être protégées contre la neurodégénérescence. Les résultats obtenus étaient bien plus nuancés que notre hypothèse le prédisait. La plupart (90 %) de la progéniture de ces souris mutantes avaient le neurophénotype apparemment normal dans des conditions basales. Mais une petite proportion de souriceaux issus des souris mutantes (cc 10%) présentait une neurodégénérescence majeure et ne survivait pas plus d'1 mois d'âge. La comparaison du taux d'expression corticale entre les souris mutantes avec la neurodégénérescence sévère et les souris de même âge avec le neurophénotype apparemment normal, a révélé un taux de mAIF effondré chez les souris mutantes de phénotype neurodégénératif sévère. Ces données suggéraient une corrélation inverse entre le taux du mAIF et la neurodégénérescence. Toutefois, à 1 mois d'âge, le taux cortical d'expression du mAIF chez les souris mutantes apparemment normales, était significativement plus élevé que celui de souris de génotype sauvage. Cependant, à l'âge de 2 mois, l'expression du mAIF était comparable entre les deux génotypes alors qu'à l'âge de 5 mois, les souris mutantes exprimaient moins de mAIF que les souris de génotype sauvage [24]. Tout se passe donc comme si les souris mutantes à phénotype apparemment normal survivaient (contrairement aux 10% de souris mutantes sévères) à cause de leur capacité de compenser le fonctionnement mitochondrial par l'expression d'AIF augmentée. Toutefois, cette capacité compensatrice semble limitée. En effet, le vieillissement cérébral avec le dysfonctionnement mitochondrial associé, pourraient mettre à l'épreuve cette compensation et révéleraient ainsi la présence de la mutation d'AIF, autrement silencieuse. Cette hypothèse est en accord avec les travaux menés par Irina Sevrioukova sur les mutants d'AIF humains connus, démontrant que la diminution drastique du taux d'expression globale d'AIF ou de son activité mitochondriale sont nécessaires pour induire une neurodégénérescence sévère et précoce. A l'opposé, les altérations moins prononcées (de l'expression ou de la fonction mitochondriales) d'AIF se traduisent par une panoplie de neurodégénérescence plus ou moins sévère avec une progression lente [25].

Pour vérifier ces hypothèses, il faudrait quantifier la mort neuronale chez les adultes des deux génotypes : si l'hypothèse est correcte, le taux de mort neuronale serait plus élevé chez les souris mutantes (malgré leur neurophénotype apparemment normal) que chez les souris de génotype sauvage. Par ailleurs, il serait très intéressant de quantifier la production d'A β chez les souris mutantes et de la corréler avec la production d'ATP et des ROS. L'expression augmentée d'A β chez les souris mutantes pour AIF, si elle s'avérait associée aux attributs du stress oxydant, apporterait des évidences supplémentaires en faveur de l'hypothèse de la cascade mitochondriale de pathogénèse de la MA.

CONCLUSION

En résumé, nos travaux montrent que l'expression du précurseur d'AIF augmente dans le cortex et l'hippocampe avec l'âge, à la fois chez les sujets sains et les souris témoins. Chez les sujets atteints de la MA ainsi que chez les souris-modèles de MA, l'AIF est impliqué dans la mort neuronale et la neurodégénérescence associée (le contenu de tAIF est augmenté dans les fractions nucléaires de tissu cérébral affecté). Toutefois, le taux de la forme mitochondriale d'AIF semble inversement corrélé avec le degré de neurodégénérescence chez les souris portant la mutation d'AIF dans la partie C-ter. Cette baisse de mAIF est dramatique chez les souris mutantes avec le neurophénotype sévère qui ne survivent pas 1 mois, mais semble compensée chez les souris mutantes de neurophénotype apparemment normal qui survivent. L'ensemble de ces résultats, confirmé depuis *in vitro*, chez les souris-modèles [26] comme dans les tissus post-mortem de patients [27] par deux laboratoires indépendants, suggère un lien étroit entre la mitochondrie *via* l'AIF (indispensable pour ses fonctions respiratoires vitales) et la neurodégénérescence, y compris de type MA. Il en ressort logiquement que la mitochondrie pourrait être ciblée par les thérapies neuroprotectrices contre les maladies neurodégénératives, incluant la MA.

L'idée de cibler la mitochondrie à des fins neuroprotectrices n'est pas nouvelle [4], de même que l'idée de cibler l'AIF [16]. Cependant, face à la complexité des formes moléculaires d'AIF, ce genre d'étude a été progressivement abandonné. Le nombre de publications concernant l'AIF, qui depuis une dizaine d'années stagne voire diminue (après une expansion exponentielle durant la période qui a suivi sa découverte à la fin des années 1990), en témoigne sans équivoque. Une des raisons découle certainement du fait que l'étude d'AIF a été relativement délaissée, comme d'ailleurs l'étude des mécanismes moléculaires impliqués dans la mort neuronale. En effet, il y a eu un recentrage de la recherche dans le domaine (le fameux « shift in focus » [5]) vers les stades présymptomatiques de la maladie suite à la reconnaissance du fait que les altérations qui précèdent la neurodégénérescence débutent 1 à 2 décades avant que celle-ci puisse être objectivée chez les patients et que la MA puisse être diagnostiquée. Comme discuté au début de cette revue, l'espoir sous-jacent était que si l'on pouvait identifier les mécanismes opérant durant le stade présymptomatique qui sont à l'origine des altérations provoquant la neurodégénérescence, on pourrait les cibler par une thérapie efficace plus tôt - au stade donc où la neurodégénérescence n'a pas encore un impact fonctionnel irréversible.

Par ailleurs, des évidences expérimentales accumulées depuis que l'hypothèse de « cascade mitochondriale » a été formulée [8] et des difficultés révélées dans les tentatives pharmacologiques ayant pour cible la mitochondrie [4] suggèrent qu'il serait peut-être utile d'ajuster la stratégie. Or, la technologie de transplantation mitochondriale, *in vitro* mais aussi *in vivo* dans les modèles animaux de dégénérescence associée à l'ischémie du myocarde ainsi que chez l'homme dans les procédures de procréation médicalement assistée [28,29], a eu beaucoup de succès. Il serait intéressant alors de tenter l'approche analogue dans le cadre de neurodégénérescence. Les mitochondries autologues saines pourraient être isolées, par exemple à partir de fibroblastes, puis transplantées par injection dans les carotides internes. Il est à souligner qu'une tentative similaire a été réalisée récemment dans une étude préclinique par infusion de mitochondries saines dans le coeur *via* les coronaires [30]. Afin d'augmenter l'efficacité de transplantation, on pourrait encore imaginer de transplanter, par exemple, les mitochondries « augmentées » par une modification génétique qui aurait pour but d'augmenter l'expression et / ou la fonction mitochondriales d'AIF. Cette étape serait

relativement facile durant la phase d'amplification des fibroblastes autologues *in vitro* dans la perspective de leur utilisation ultérieure comme source de purification mitochondriale. Cette proposition est peut-être encore du domaine de la fiction mais le faible pouvoir immunogène des mitochondries déjà démontré et les tentatives précédentes réussies [28-30] autorisent tous les espoirs.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé grâce à la collaboration franco-qubécoise soutenue par les subventions INSERM-FRSQ dans le cadre des échanges internationaux pendant la période 2004-2009. Durant cette période, les auteurs ont encadré une dizaine d'étudiants des deux pays à différents niveaux universitaires. La force vive du projet était notamment la participation de plusieurs post-doctorants, en première ligne desquels les Drs Wenfeng Yu et Naguib Mechawar, tous les deux affiliés à l'époque à l'Université McGill (Montréal), et de la doctorante française Stéphanie Reix (Université Aix-Marseille), que nous avons co-encadrés conjointement. L'étudiante en Master, Gabriella Dias (Université Paris Descartes) a également réalisé une contribution majeure. Enfin, parmi de nombreux collègues, la collaboration avec les Prs JoAnne McLaurin et Isabelle Aubert (Université de Toronto) a été très fructueuse. Nous leur témoignons ici toute notre reconnaissance.

RÉFÉRENCES

- [1] Enzinger C, Fazekas F, Matthews PM *et al.* Risk factors for progression of brain atrophy in aging: six-year follow-up of normal subjects. *Neurology*. 2005;64:1704-11.
- [2] Moyse E, Haddad M, Benlabiod C *et al.* Common pathological mechanisms and risk factors for Alzheimer's disease and type-2 diabetes. *Curr Alzh Res*. 2019;16:1-21.
- [3] Rigotto G, Basso F. Mitochondrial dysfunctions: a thread sewing together Alzheimer's disease, diabetes and obesity. *Oxid Med Cell Longev*. 2019; 7210892. doi: 10.1155/2019/7210892.
- [4] Cenini G, Voos W. Mitochondria as potential targets in Alzheimer's disease therapy: an update. *Front Pharmacol*. 2019;10:1902. doi: 10.3389/fphar.2019.00902.
- [5] Krantic S. Editorial: From current diagnostic tools and therapeutics for Alzheimer's disease towards earlier diagnostic markers and treatment targets *Curr Alzh Res*. 2017;14:2-5.
- [6] Honig LS, Mayeux R. Natural history of Alzheimer's disease. *Aging*. 2001;13:171-82.
- [7] Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*. 2002;297:353-6.
- [8] Swerdlow RH, Burns JM, Khan SM. The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis: progress and perspectives. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1842:1219-31.
- [9] Tonnes E, Trushina E. Oxidative stress, synaptic dysfunction and Alzheimer's disease. *J Alzh Dis*. 2017;57:1105-21.
- [10] Palop JJ, Mucke L. Amyloid-beta-induced neuronal dysfunction in Alzheimer's disease: from synapses toward neuronal networks. *Nature Nsci*. 2010;13:812-18.
- [11] Goutagny R, Krantic S. Hippocampal oscillatory activity in Alzheimer's disease: towards the identification of early markers? *Aging Dis*. 2013;4:134-40.
- [12] Krantic S, Isorce N, Mechawar N *et al.* Hippocampal GABAergic neurons are susceptible to amyloid beta toxicity *in vitro* and are decreased in number in the Alzheimer's disease TgCRND8 mouse model. *J Alzh Dis*. 2012;29:293-308.

- [13] Albuquerque MS, Mahar I, Davoli MA *et al.* Regional and sub-regional differences in hippocampal GABAergic neuronal vulnerability in the TgCRND8 mouse model of Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci.* 2015;24:7:30. doi: 10.3389/fnagi.2015.00030
- [14] Mahar I, Albuquerque MS, Mondragon-Rodriguez S *et al.* Phenotypic alterations in hippocampal NPY- and PV-expressing interneurons in a presymptomatic transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci.* 2017;19:8:327. doi: 10.3389/fnagi.2016.0032
- [15] Accardi MV, Daniels BA, Brown PM *et al.* Mitochondrial reactive oxygen species regulate the strength of inhibitory GABA-mediated synaptic transmission. *Nat Comm.* 2014; 5:3168. doi: 10.1038/ncomms4168.
- [16] Krantic S, Mechawar N, Reix S, Quirion R. Apoptosis-Inducing Factor: a matter of neuron life and death. *Prog Neurobiol.* 2017; 81:179-96.
- [17] Cheung EC, Melanson-Drapeau L, Cregan SP *et al.* Apoptosis-inducing factor is a key factor in neuronal cell death propagated by BAX-dependent and BAX-independent mechanisms. *J Neurosci.* 2005;25:1324-34.
- [18] Culmsee C, Zhu, Landshamer S *et al.* Apoptosis-inducing factor triggered by poly(ADP)ribose-polymerase and Bid mediates neuronal death after oxygen-glucose deprivation and focal cerebral ischemia. *J Neurosci.* 2005;25:10262-72.
- [19] Yu W, Mechawar N, Quirion R, Krantic S. alpha-7 Nicotinic receptor activation reduces beta-amyloid-induced apoptosis by inhibiting caspase-independent death through phosphatidylinositol 3-kinase signaling. *J Neurochem.* 2011;119:848-58.
- [20] Yu W, Mechawar N, Krantic S, Quirion R. Evidence for the involvement of apoptosis-inducing factor (AIF)-mediated caspase-independent neuronal death in Alzheimer's Disease. *Am J Pathol.* 2010;176: 2209-18.
- [21] Reix S, Mechawar N, Susin SA *et al.* Expression of cortical and hippocampal apoptosis-inducing factor (AIF) in aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2007;28:351-56.
- [22] Chishti AM, Yang DS, Janus C *et al.* Early-onset amyloid deposition and cognitive deficits in transgenic mice expressing a double mutant form of amyloid precursor protein 695. *J Biol Chem.* 2001;276:21562:70.
- [23] Yu W, Bonnet M, Farso M *et al.* The expression of apoptosis inducing factor (AIF) is associated with aging-related cell death in the cortex but not in the hippocampus in TgCRND8 mouse model of Alzheimer's disease. *BMC Neurosci.* 2014; 5 (1):s73-99.
- [24] Dias G, Baritaud M, Delavallée L, *et al.* Characterization of neurodegeneration in a novel apoptosis inducing factor (AIF)-mutant mice. 11eme Colloque de Société française de neuroscience, Lyon-Grenoble (21-24 Mai, 2013).
- [25] Sevrioukova IF. Structure/function relation in AIFM1 variants associated with neurodegenerative disorders. *J Mol Biol.* 2016; 428:3650-65.
- [26] Li Z, Chen X, Lu W, Zhang S *et al.* Anti-oxidative stress activity is essential for *Amanita caesarea* mediated neuroprotection on glutamate-induced apoptotic HT22 cells and an Alzheimer's disease mouse model. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(18). pii: E1623. doi:10.3390/ijms18081623.
- [27] Lee JH, Cheon YH, Woo RS, Song DY *et al.* Evidence of early involvement of Apoptosis-inducing factor-induced neuronal death in Alzheimer's brain. *Anat Cell Biol.* 2012;45:26-37.
- [28] McCully JD, Cowan DB, Emani SM, Del Nido PJ. Mitochondrial transplantation: from animal models to clinical use in humans. *Mitochondrion.* 2017;34:127-34.
- [29] Chang CY, Liang MZ, Chen L. Current progress of mitochondrial transplantation that promotes neuronal regeneration. *Transl Neurodegener.* 2019;8:17. doi: 10.1186/s40035-019-0158-8.
- [30] Cowan DB, Yao R, Akurathi V *et al.* Intracoronary delivery of mitochondria to the ischemic heart for cardioprotection. *PLoS One.* 2016;11(8) e0160889. doi: 10.1371/journal.pone.0160889.