

Printemps de la SFEIM- Reims-Juin 2023

Rôle des lipides complexes dans le trafic vésiculaire

FOUDIL LAMARI

BIOCHIMIE DES MALADIES NEUROMÉTABOLIQUES

HÔPITAUX PITIÉ-SALPÊTRIÈRE

Définitions

- **Lipides**

- Groupe hétérogène molécules naturelles riches en carbones et solubles dans les solvants organiques :

- Acides gras (AG) et dérivés, caroténoïdes, terpènes, stéroïdes et acides biliaires.

- **Lipides simples et lipides complexes** (*Fahy et al, 2005*)

- 1 Mole lipide simple l'hydrolyse génère 2 types de produits primaires

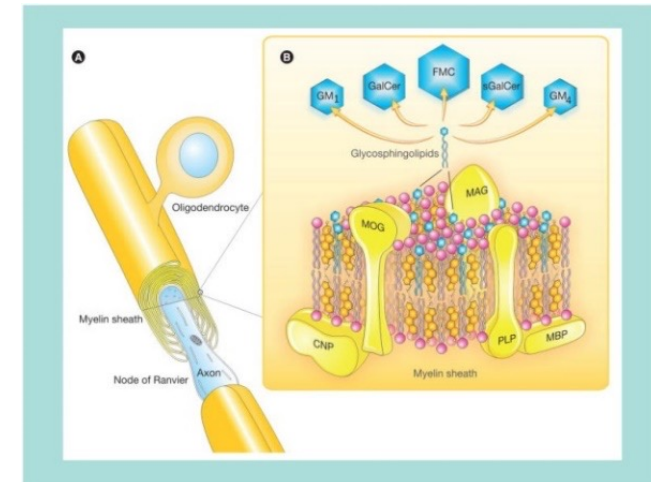
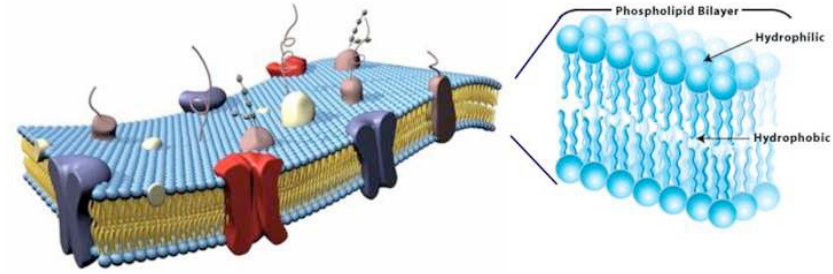
- Triglycérides → Glycérol + AG

- 1 Mole lipide complexe l'hydrolyse génère 3 (ou plus) types de produits primaires :

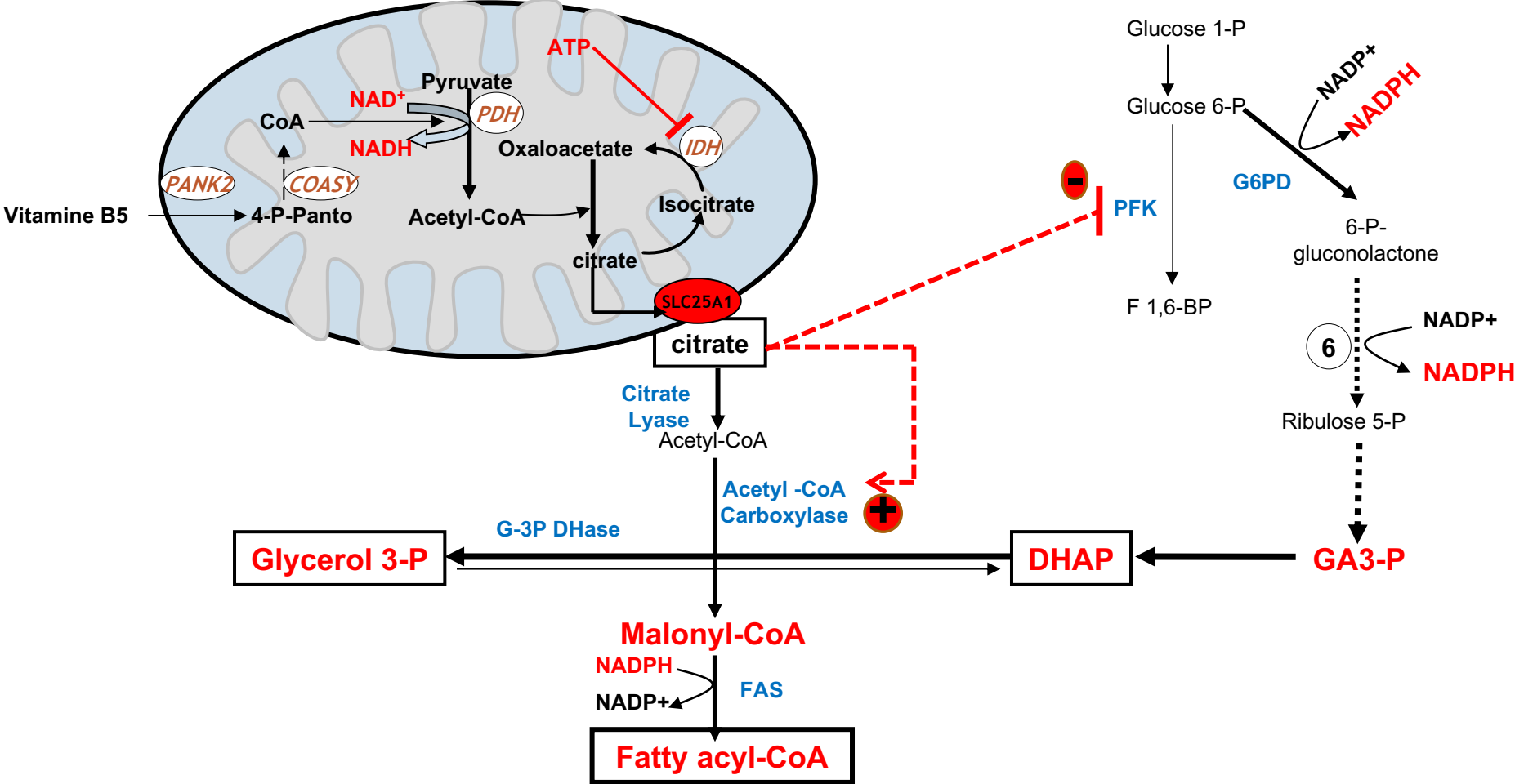
- Glycerophospholipide → Glycérol + AG + Phosphate

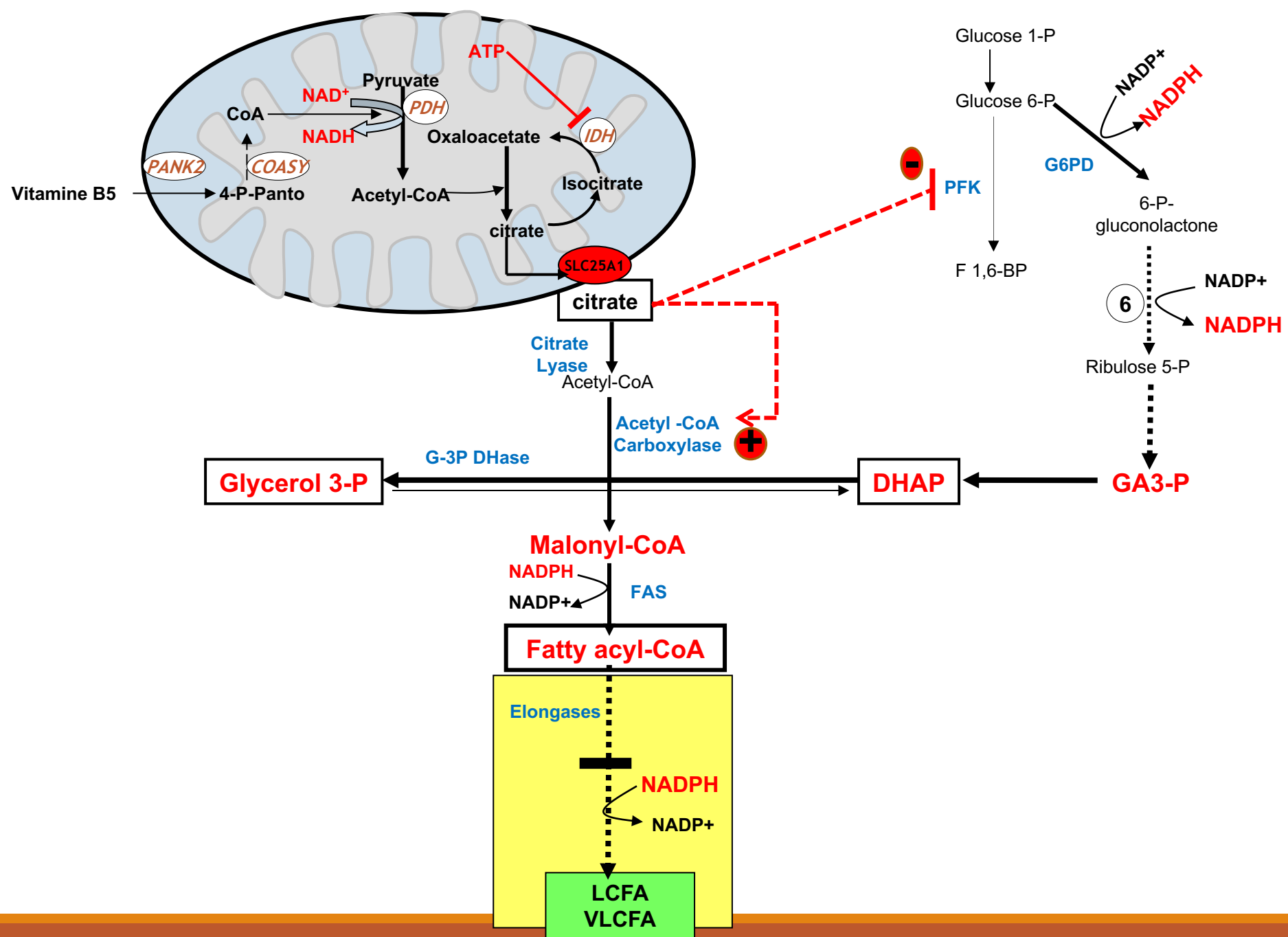
Rôle des Phospholipides

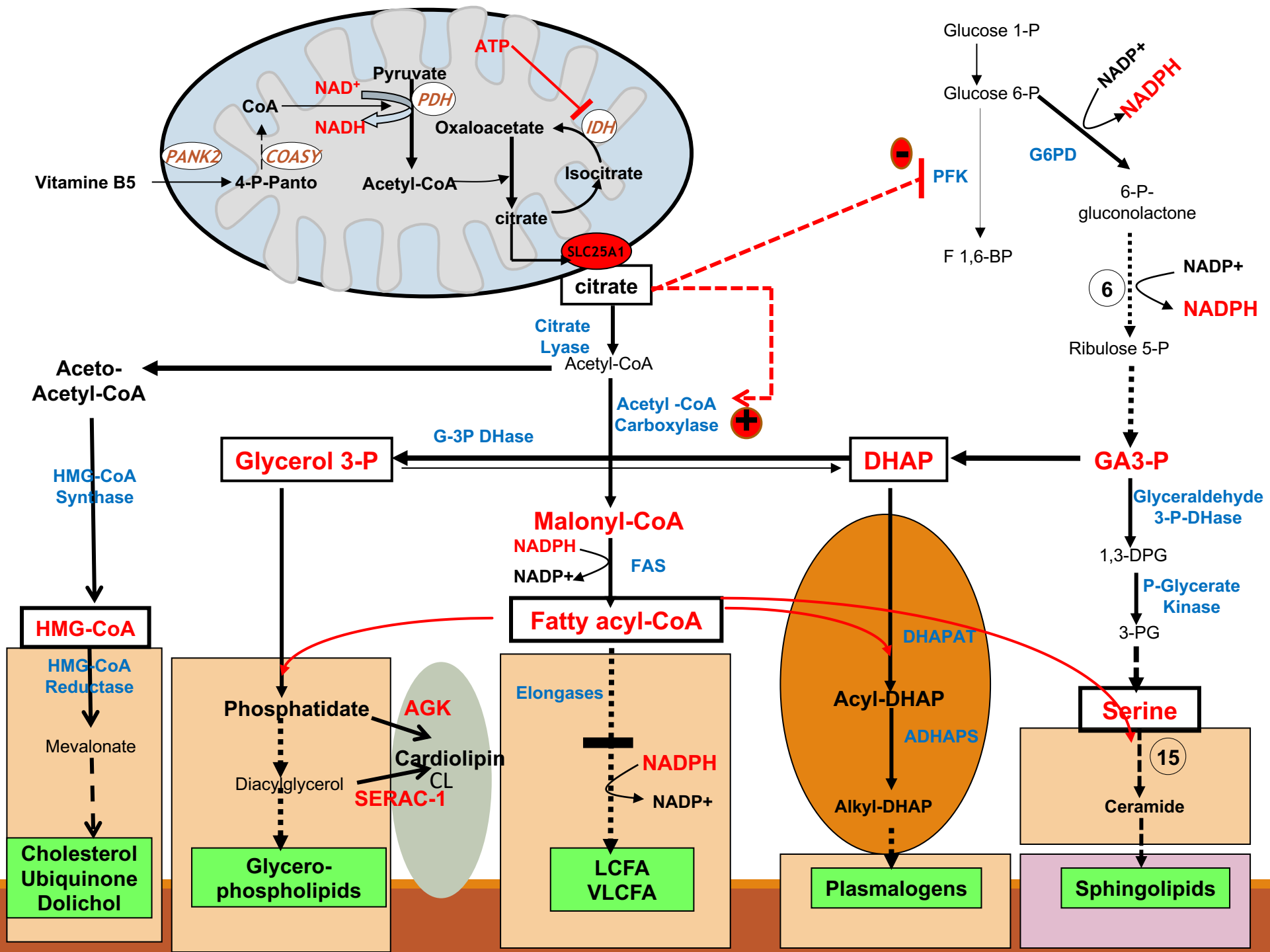
- **Structural**
 - Membranes cellulaires
 - Myéline
- **Métabolisme énergétique**
- **Signalisation** (Ac. Arachidonique, Endocannabinoïdes, PtdInst, PGN, LTN..)
 - Inflammation
 - Apoptose
 - Régulation du métabolisme (Acylation)
- **Cycle de la vision**
- **Barrière contre la perte de l'eau (épiderme)**
- **Reconnaissance cellulaire**
- **Transport membranaire et autophagie**
- **Fusion et fission des organites**



Biosynthèse des Phospholipides



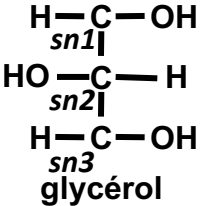




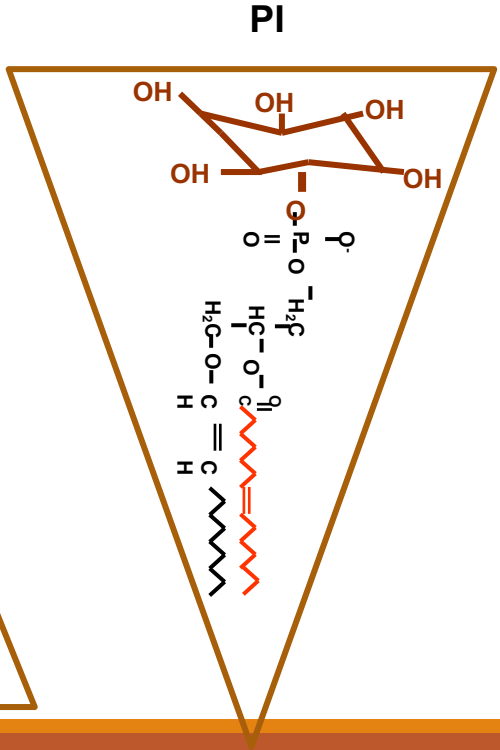
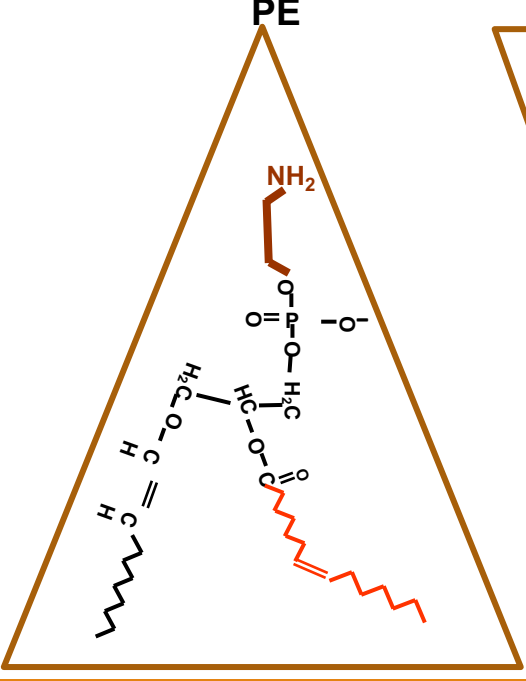
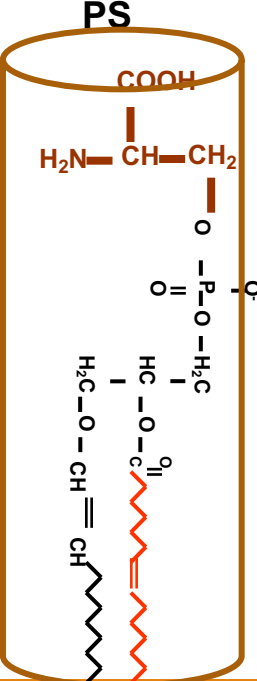
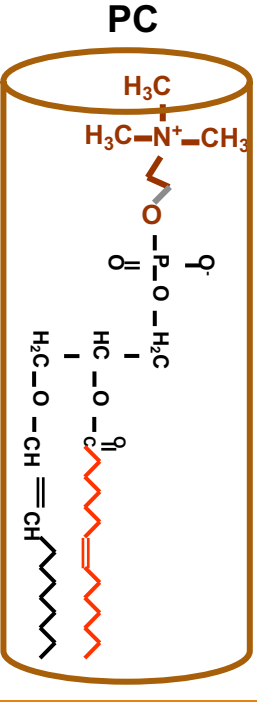
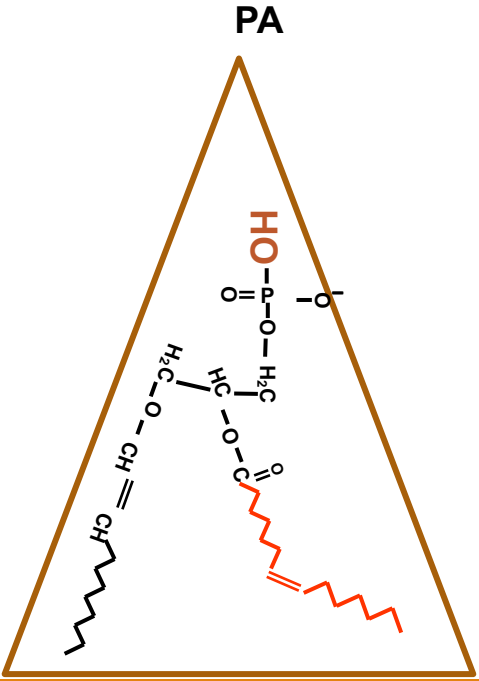
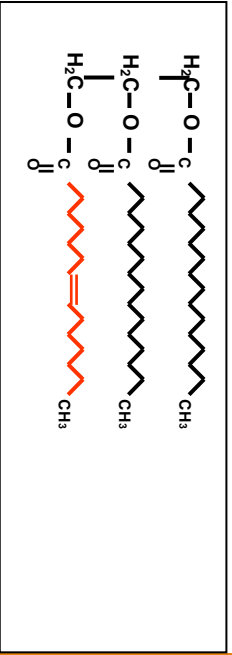
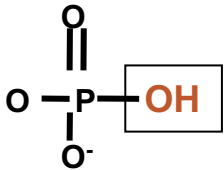
Structure des phospholipides



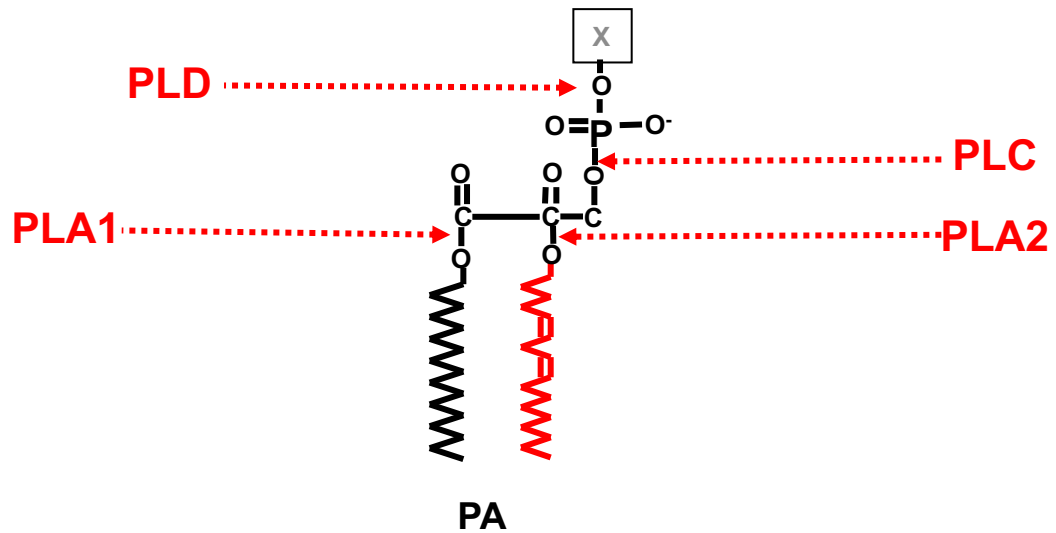
Acide Gras
(MU, PU)



Acide Gras
(saturé)



Remodelage permanent des structures



- Libération des acides gras libres : Signalisation
- Remplacement d'un AG
- Remplacement d'une base polaire

Rôle des phospholipides dans le trafic cellulaire

Trafic cellulaire = trafic membranaire:

Processus de transport à l'aide de vésicules liées à la membrane:

- **Macromolécules (protéines, lipides...), agents pathogènes**

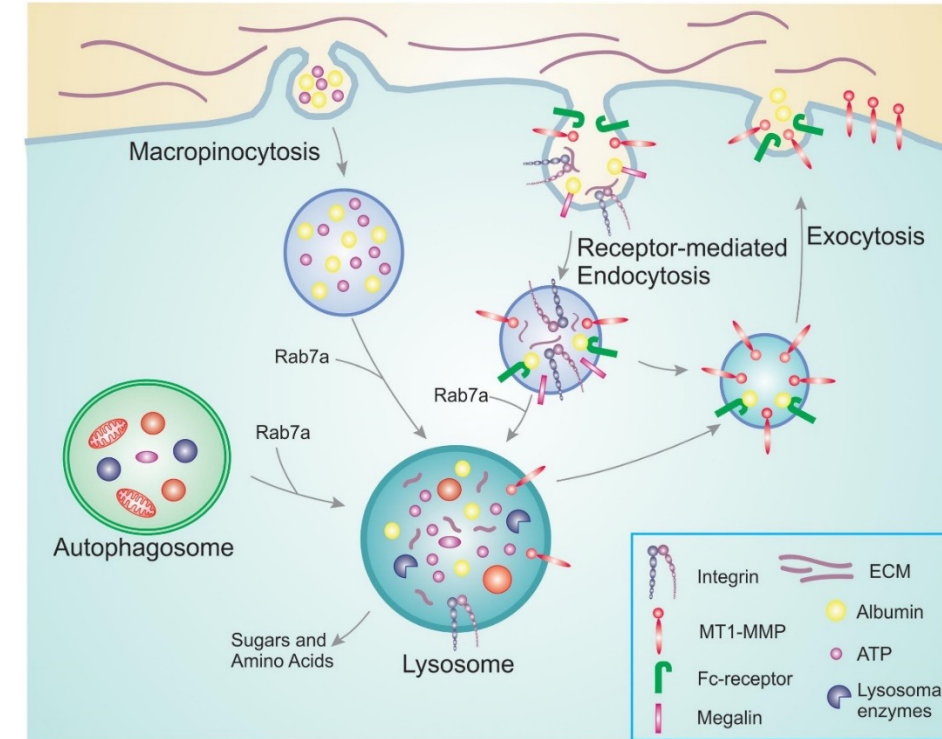
Système complexe et régulé : au bon endroit et au bon moment.

Se fait dans différentes directions :

- **Endocytose**
- **Exocytose**
- **Entre organites (RE ↔ Golgi ↔ Mitochondrie ↔).**

Rôle vital pour la cellule

- **Absorption de nutriments: les vitamines, le cholestérol, fer...**
- **Recyclage, dégradation via l'autophagie.**
- **Élimination des agents pathogènes : phagocytose et macropinocytose**



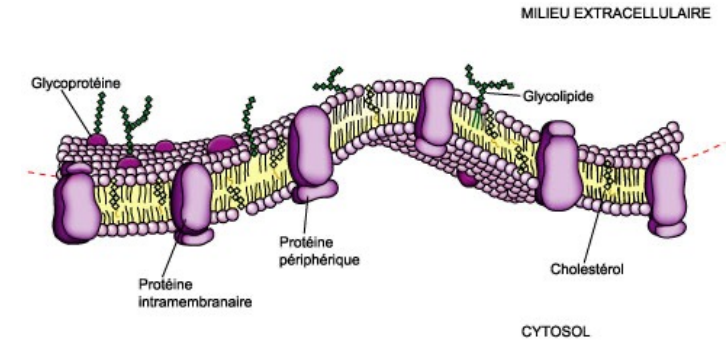
Remodelage des membranes

Le trafic intracellulaire, mécanisme actif :

- conservé au cours de l'évolution.
- nécessaire à la vie eucaryote,

Modulé par :

- Les lipides membranaires
- Des protéines spécifiques: points d'encrage et forces qui imposent une tension aux membranes.



Membranes constamment remodelées par le trafic intracellulaire (vésicules, tubules).

- Propriétés élastiques de la bicouche lipidique: résistance à la flexion.
- Capacité à générer une forte courbure créant des compartiments

Protéines avec des domaines ou des motifs spécialisés dans:

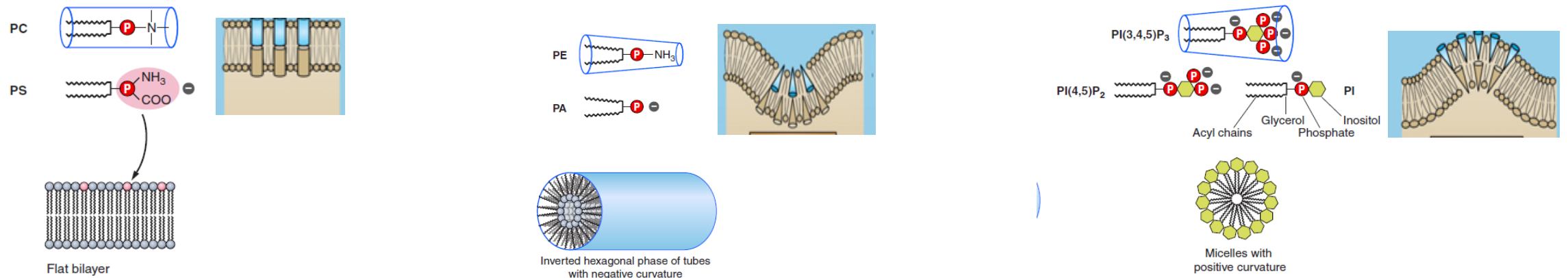
- la détection,
- la génération
- la stabilisation de la courbure membranaire, en modifiant la composition lipidique.

la composition lipidique influence la géométrie des membranes

Courbure spontanée de la bicouche, dictées par celle des lipides constitutifs:

Cette courbure dépend de:

- la taille et la charge de la tête polaire
- la composition des chaînes d'acides gras
 - PC et PS: lipides cylindriques, monocouche plane.
 - PE, PA, DAG ou cardiolipine: tête polaire plus petit que celle de PC, forme conique, courbure négative.
 - LysoPC, phosphatidylinositol (PtdIns): tête polaire plus grande, forme conique, courbure positive.

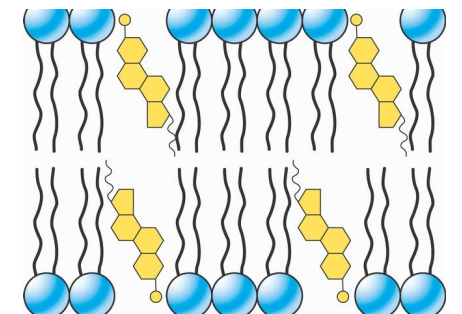
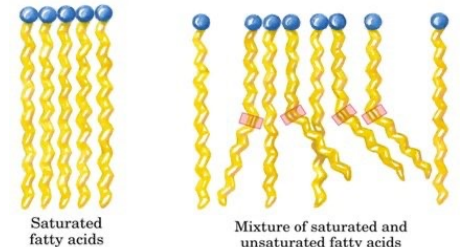
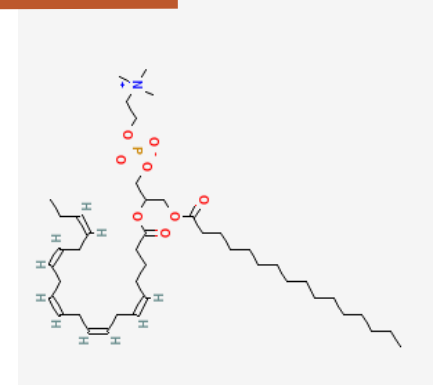


La saturation de la chaîne d'AG influence la géométrie des lipides et membranes

La saturation de la chaîne d'AG définit la géométrie des lipides

- la double liaison induit un nœud dans la chaîne d'AG et crée plus d'espace qu'un acide gras saturé.
- La combinaison: groupe polaire volumineux + insaturation des deux chaînes d'AG, favorise la courbure spontanée.

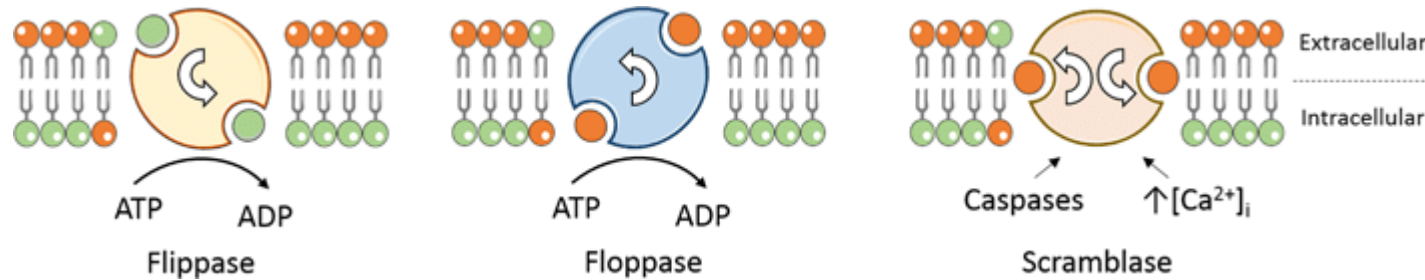
A l'inverse, les stérols, structure rigide induisent un tassement des sphingolipides et des PC, empêchent la courbure spontanée



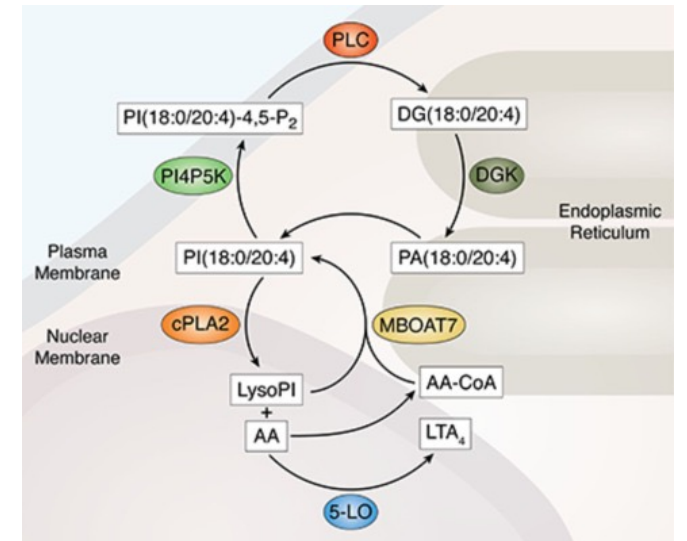
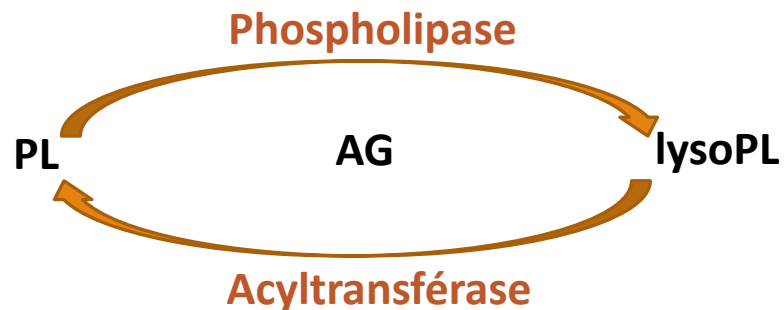
Régulation de la composition de la membrane en lipides

La maintenance active de l'asymétrie lipidique est assurée par différents mécanismes:

ATPases de type IV (flippases lipidiques): translocation des PL (PS ou PE) de la face EC vers le la face cytosolique



Cycle de LAND: activités des phospholipases et des acétyltransférases

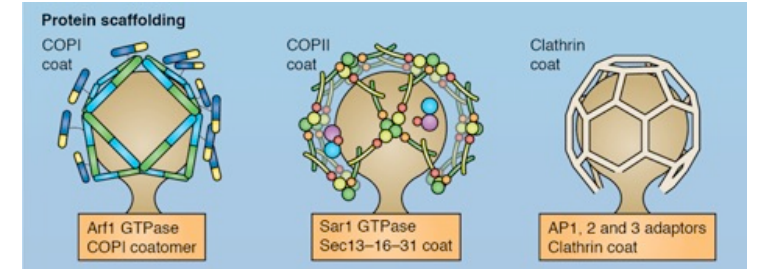


Protéines impliquées dans la formation des vésicules

I- Protéines d'enveloppe: 3 types de protéines d'enveloppe qui recouvrent les

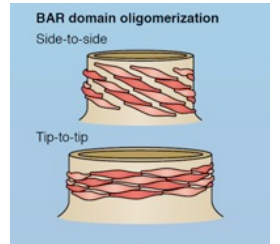
vésicules à différentes étapes :

- Clathrine : MP (vésicules de l'endosome et du Golgi)
- COP I: Vésicules du transport rétrograde, (Golgi → RE) ;
- COP II: Vésicules Sécrétoire, (RE → Golgi)
- Cavéoles (Cavéoline, Cavines): Endocytose Clathrine indépendante.

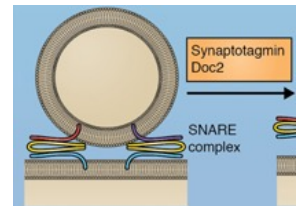


II- Amphiphysine (BAR domaine): Grâce à la liaison avec les protéines du cytosquelette

(actine), elles exercent une tension qui accentue la courbure de la membrane.



IV- Rab small GTPase: exprimées à la fois sur la vésicule et la membrane cible (Ciblage de la vésicules)



V- Les protéines SNARE: Ancrage de la vésicule

VI- Dynamine GTPase: Scission de la vésicule de la membrane



Ciblage des vésicules et attachement aux membranes

Ce ciblage est médié par la détection des courbures de la membrane, implique:

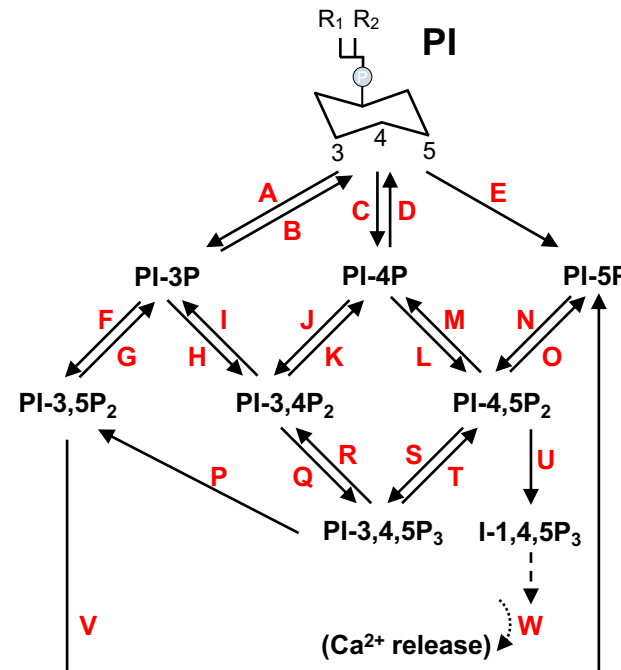
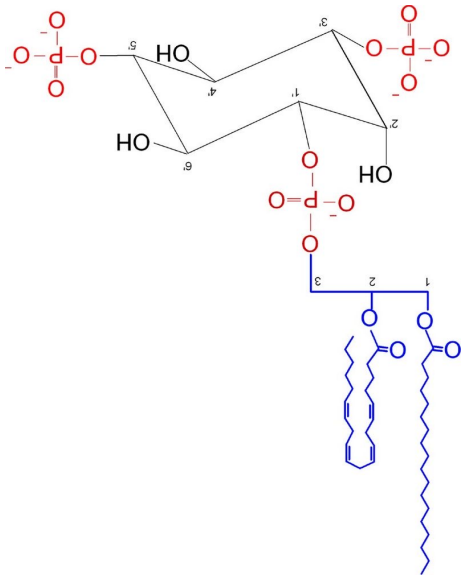
- **Protéines de liaison (Golgine GMAP-210) : détection de courbures de membranes**
- **Protéines SNAR : Rattachement de la vésicule à la membrane cible**
- **Lipides : Phosphoinositides phosphates (PtdInsP)**
- **Enzymes: Phosphatidylinositol 3-kinase de classe III, Phosphoinositide phosphatase (synaptojanine)**

Rôles des nanodomains de PtdInsPs dans l'organisation de la neurotransmission

Phosphatidylinositol phosphate (PtdInsP): peu abondants dans les membranes (~5% des PL)

L'inositol peut-être phosphorylé en 3 positions différentes → charges négatives:

- 7 espèces de PtdInsP, concentration modulée par des **kinases** et des phosphatases



- A:** *PIK3C2A, PIK3C3*
- B:** *MTM1, MTMRs, SBF1/2, SYNJ1/2*
- C:** *PI4KA, PI4K2A/2B, PI4KB, ARF1/3,*
- D:** *OCRL, SACM1L, SYNJ1/2*
- E:** *PIP5K1A/B*
- F:** *PIKFYVE (VAC14), PIP5K1A/B*
- G:** *FIG4 (VAC14), OCRL, SYNJ1/2*
- H:** *PIP4K2/5K1*
- I:** *INPP4A/B, INPP5F*
- J:** *PIK3CA/B/D/G, PIK3C2A/G, PIK3R1/2/3/5/6*
- K:** *PTEN, TPTE, TPTE2*
- L:** *PIP5K1A/B/C*
- M:** *INPP5E/K/J, OCRL, SYNJ1/2*
- N:** *PIP4K2A/B/C*
- O:** *INPP5F, TMEM55B*
- P:** *INPP5F*
- Q:** *PIP5K1A/B/C*
- R:** *INPP5D/K/J, INPPL1*
- S:** *PIK3CA/B/D/G, PIK3R1/2/3/5/6*
- T:** *PTEN*
- U:** *Phospholipase C*
- V:** *MTM1, MTMRs, SBF1/2, SYNJ1/2*
- W:** *ITPR1, ITPR2*

Rôle des lipides chargés dans la transmission synaptique

Les PtdInsP et PS sont des lipides chargés négativement, rôle important dans la neurotransmission :

- **Concentration dans les terminaisons synaptiques**
- **Contrôle de l'exocytose stimulée par le calcium**
- **Reconnaissance spécifique entre un PtdInsP et plusieurs protéines (chargées positivement) nécessaires à l'exocytose et à la machinerie présynaptique.**
- **Concentration de ces protéines dans les compartiments membranaires enrichis en ce lipide (Syntaxine, R-SNARE, VAMP2, le capteur de calcium Synaptotagmin-1)**
- **Définition des zones endocytaires et des sites de fusion des vésicules synaptiques**

les PtdInsP sont inter-convertis par des kinases et des phosphatases spécifiques:

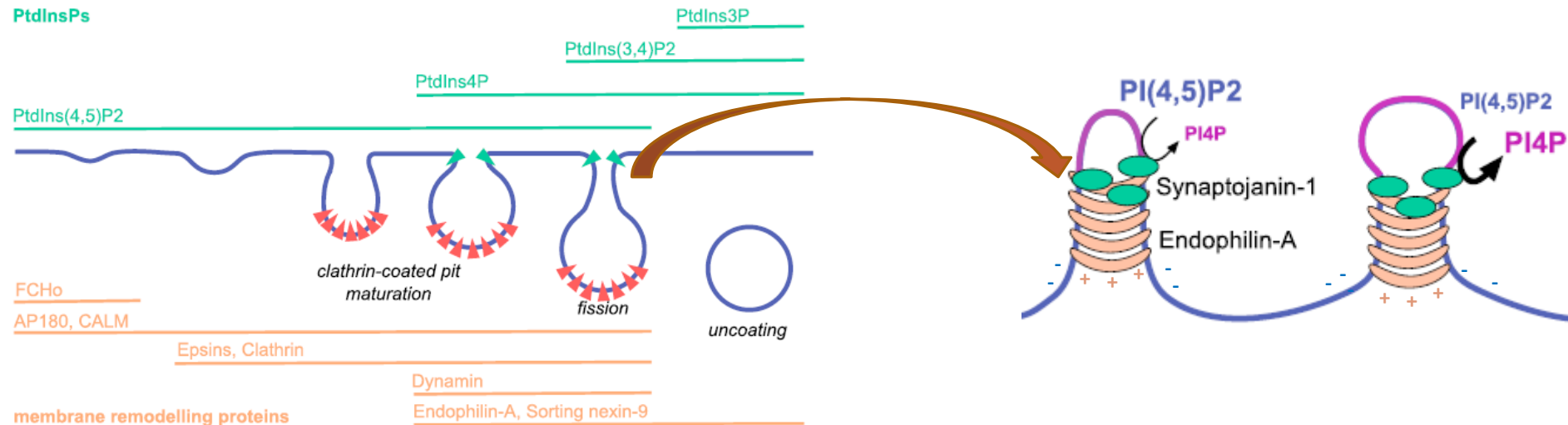
- **Modification rapide de leur concentration membranaire,**
- **Recrutement séquentiel de la machinerie endocytairre pour la formation de vésicules synaptiques.**

Les lipides chargés régulent les interactions entre protéines présynaptiques

Rôle majeur du PtdIns(4,5)P2 dans l'endocytose médiée par la clathrine, et la récupération des vésicules (millisecondes après l'exocytose).

Interaction avec de nombreux facteurs endocytaires : (AP2, AP180, CALM, HIP-1 , et Epsin)

Les PtdIns régulent le transport vésiculaire à toutes les étapes: Vésicule → Exocytose → endocytose



Les paraplégies spastiques héréditaires (PSH)

Axonopathies : dégénérescence des neurones du tractus corticospinal

Maladie du motoneurone:

Spasticité et faiblesse progressives des membres inférieurs

Difficultés de la marche → Canne → chaise roulante

Classées en :

- **PSH pure : une spasticité isolée**
- **PSH complexe: + autre signes neurologiques ou extra-neurologiques**
- **Mixte : différentes présentations**

Peuvent être récessives ou dominantes

Mécanismes des HSP

Grande hétérogénéité clinique et génétique

Plus de 87 gènes impliqués, classés en dans l'ordre de leur découverte (SPG1.....)

Les protéines impliquées interviennent dans différents processus:

- **Formation de gouttelettes lipidiques**
- **Remodelage des membranes et du RE**
- **Fonction mitochondriale**
- **Trafic intracellulaire**

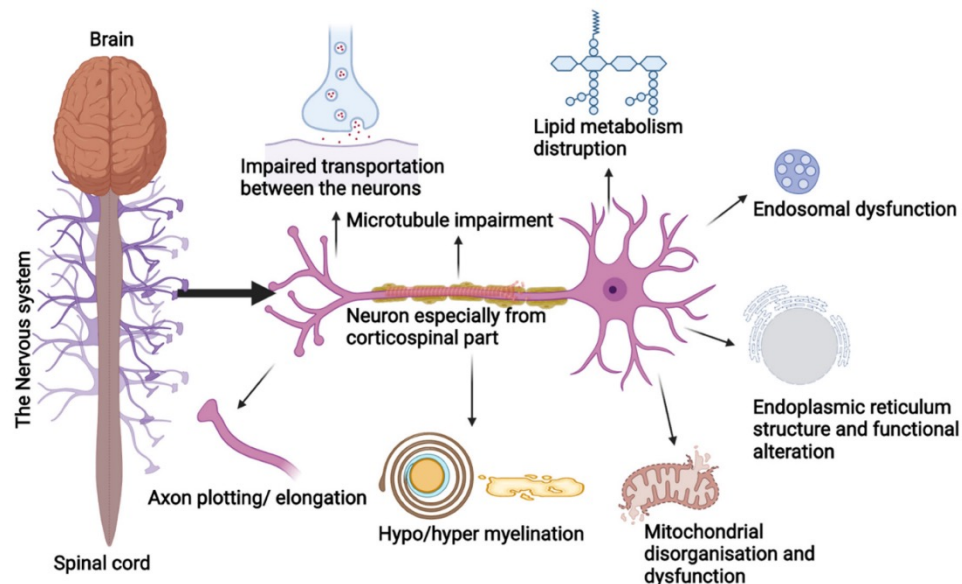
Mécanismes des HSP

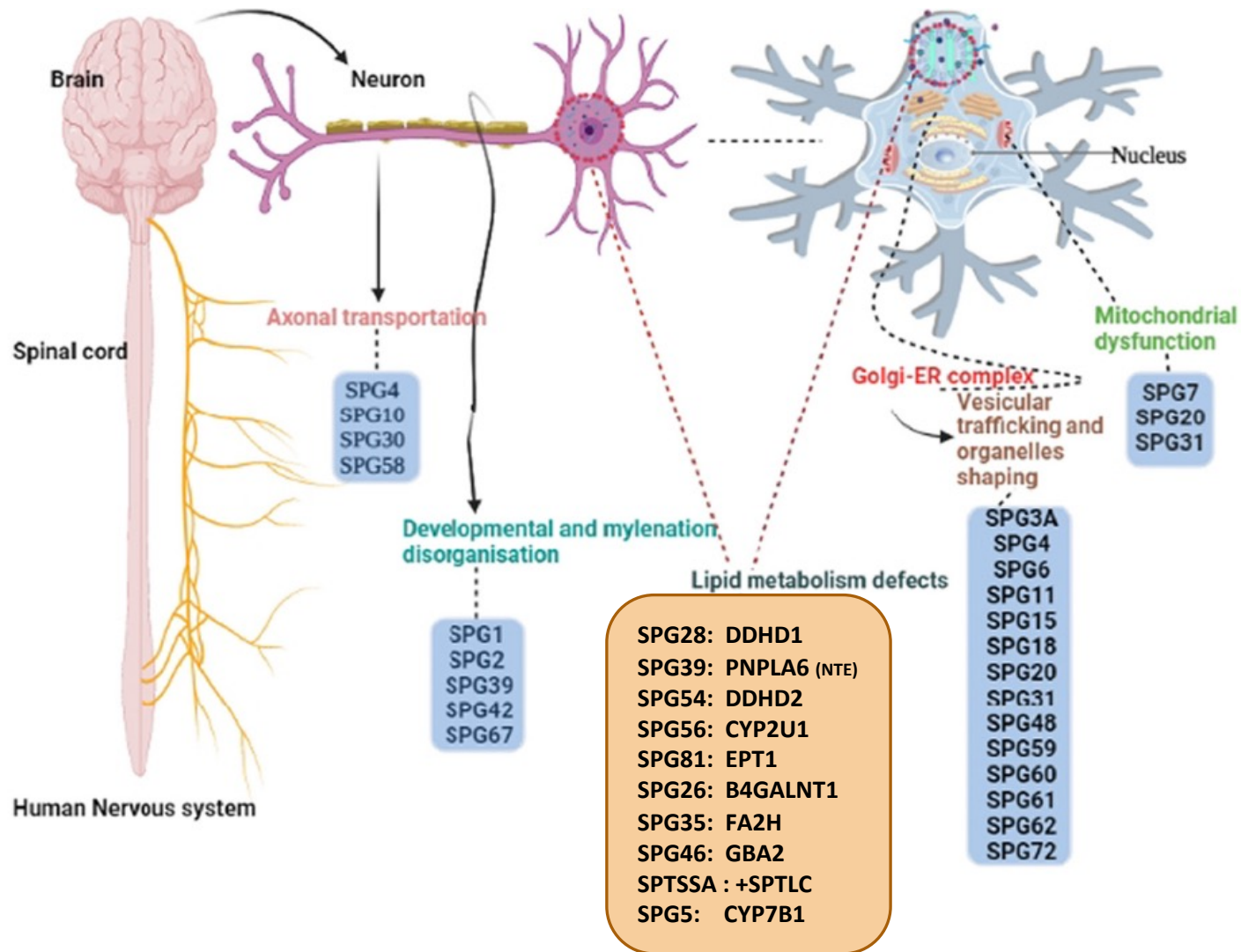
Cellules neurales qui relient système nerveux central aux motoneurones ont des axones long

- représentent plus de 90% de la cellule neurale
- pouvant mesurer jusqu'à 1 m de long.

La voie du trafic intracellulaire devient particulièrement cruciale.

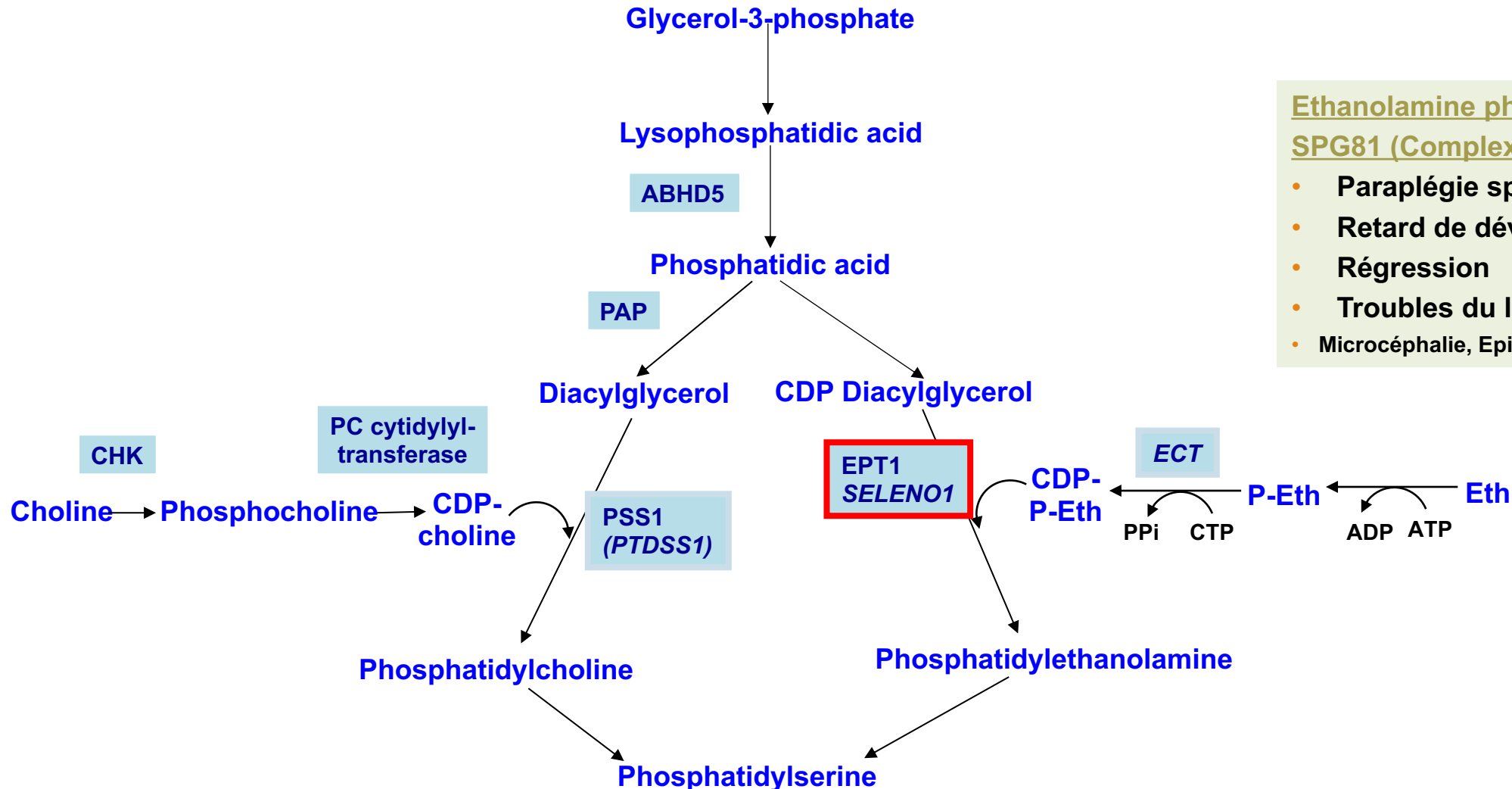
De nombreux gènes impliqués dans la synthèse et le remodelage des lipides complexes sont responsable de HSP.





MHM- Biosynthèse des Phospholipides

Ethanolamine Phosphotransférase



Ethanolamine phosphotransférase SPG81 (Complexe)

- Paraplégie spastique progressive
- Retard de développement moteur
- Régression
- Troubles du langage et dysarthrie
- Microcéphalie, Epilepsie, Rétinite pigmentaire

Mutation **PNPLA6 (NTE)** :

1- Cible de l'intoxication aux organophosphorés

- Organophosphate-induced delayed neuropathy

2- SPG39

- PS progressive (enfance, adolescence)
- Faiblesse musculaire
- Atrophie de la moelle
- Surdité (adolescence)
- Ataxie (variable en âge de survenue et en s vrit )
- Retinite pigmentaire (2 me -3 me decade)
- Cataracte (tôt dans l'adolescence)

IRM : atrophie Cérébelleuse

3- Boucher-Neuhauser

- ataxie,
- hypogonadisme
- Dystrophie chorio-rétinienne

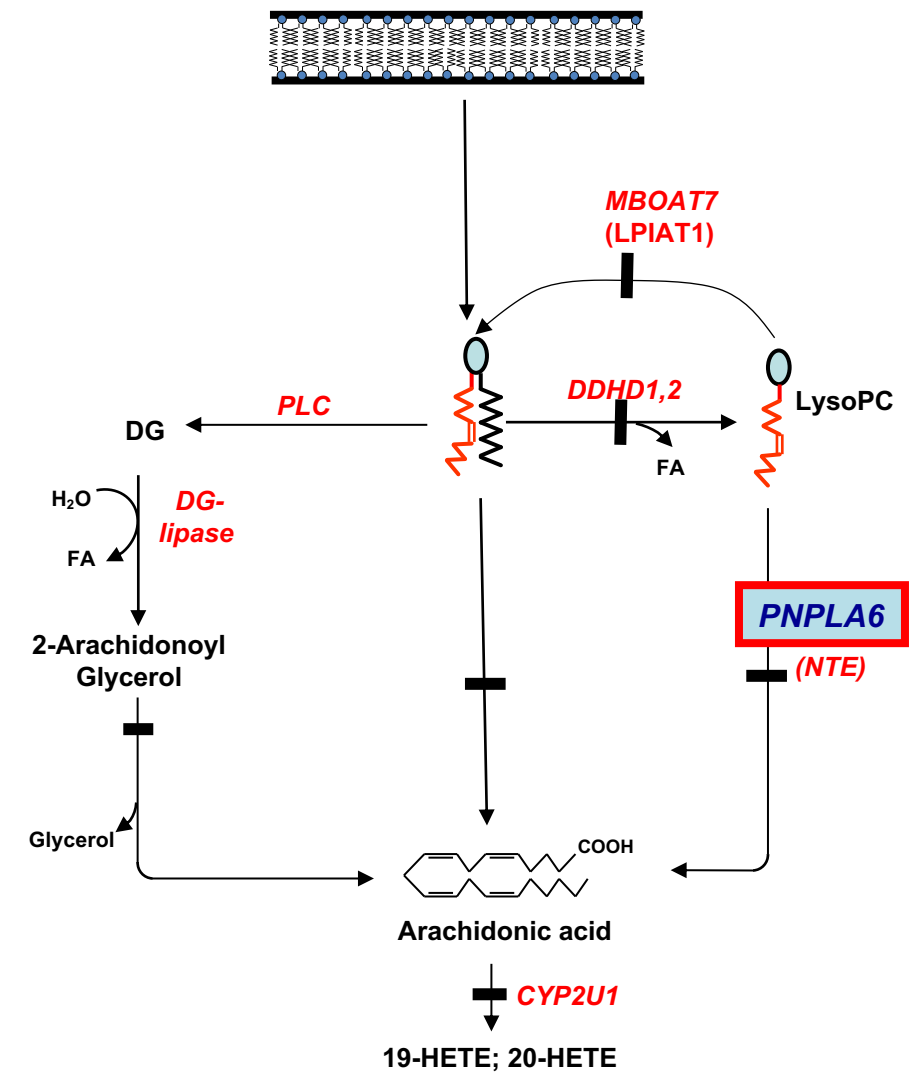
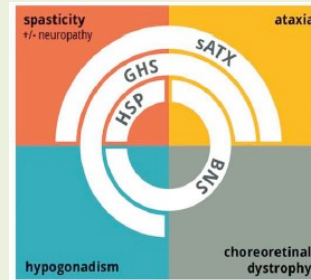
IRM: Atrophie du cervelet et de l'hypophyse

4- Gordon-Holmes

- Ataxie,
- Hypogonadisme hypogonadotrophique
- Déclin cognitif Progressif
- Troubles du Mvt

5- Oliver-McFarlen et Laurence-Moon

- Trichomegalie,
- Insuffisance hypophysaire congénitale
- Atrophie chorio-rétinienne



Mutations en *DDHD1* et *DDHD2*:

Paraplégies spastiques 28 et 54

- Symptômes précoces (avant 2 ans)
- Spasticité lentement progressive des MI
- Strabisme, dysarthrie +/- dysphagie
- Troubles cognitifs
- IRM : Atrophie du corps calleux et de discrètes

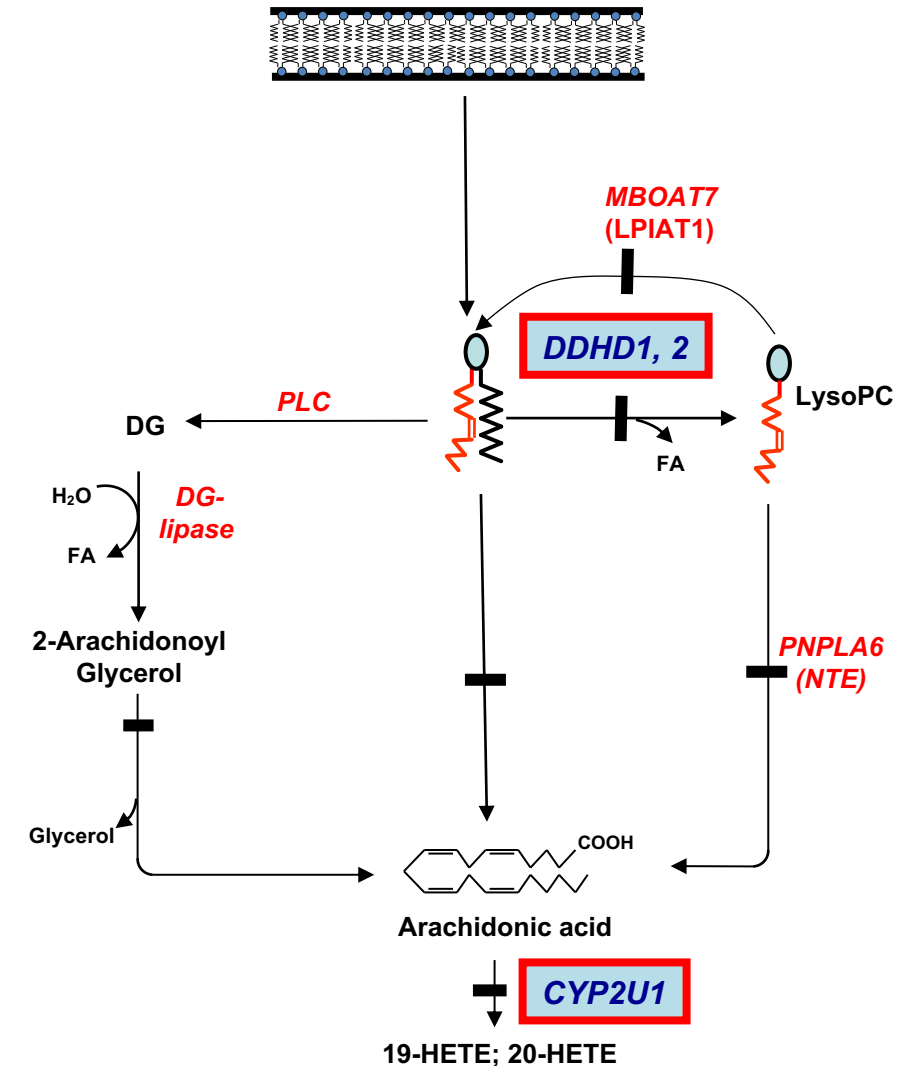
Mutations *CYP2U1* : Cytochrome P450 hydroxylase

Paraplégie spastique 49

- PS précoce (avant 10 ans)
- +/- dystonie, troubles cognitifs
- Neuropathie axonale discrète des MI
- Troubles oculomoteurs (Poursuite visuelle saccadique)

IRM : Atrophie du corps calleux

Calcifications tardives (Pallidum)



• **Déficit en Acylglycérol-kinase : Syndrome de Senger**

• 4 phénotypes:

1- Cataracte congénitale

- Myopathie et CMH
- Hyperlactacidémie
- Décès 40-50 ans

2- Encéphalomyopathie néonatale

- Anomalie des ganglions de la base
- Atrophie cérébelleuse

3-Cataracte isolée

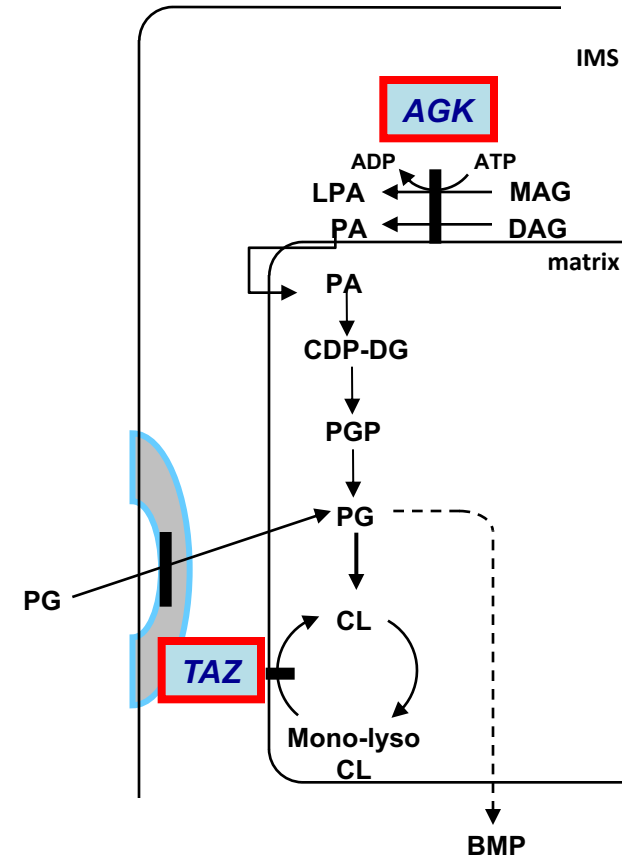
4-Insuffisance hépatocellulaire

- Acidurie 3-méthylglutaconique
- Déficit complexe I

• **Déficit en Tafazzin(TAZ) :Syndrome de Barth (lié à l'X)**

- Myopathie
- Cardiomyopathie (dilatation biventriculaire), avant 2 ans
- Retard de développement
- Neutropénie
- Episodes de détérioration et de remission
- Acidurie 3-méthylglutarique et 3 méthylglutanoïque

Mitochondrie



• Déficit en *SERAC-1* : Syndrome de MEGD(H)EL

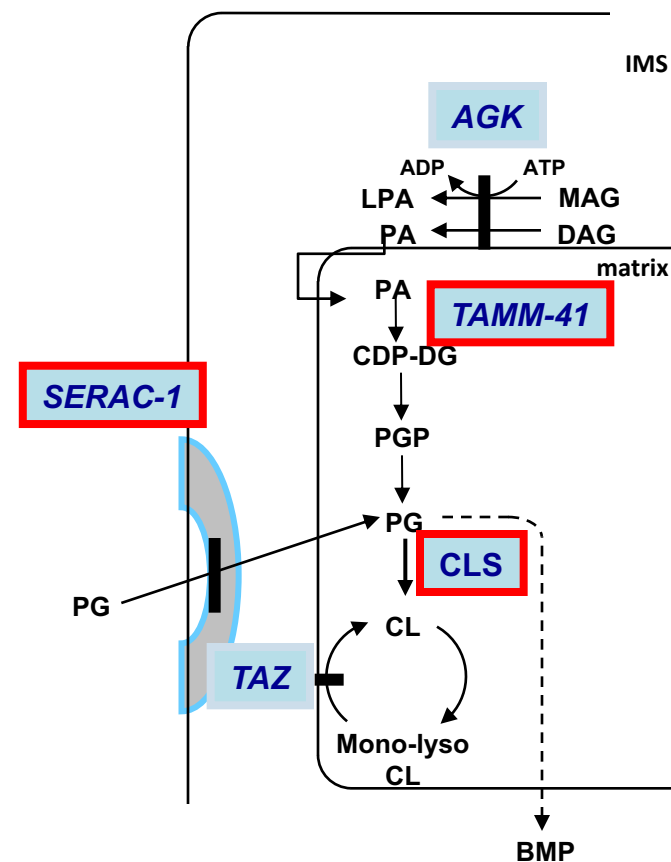
MethylGluconic aciduria, Deafness, Hepatic involvement, Encephalopathy, and Leigh syndrome

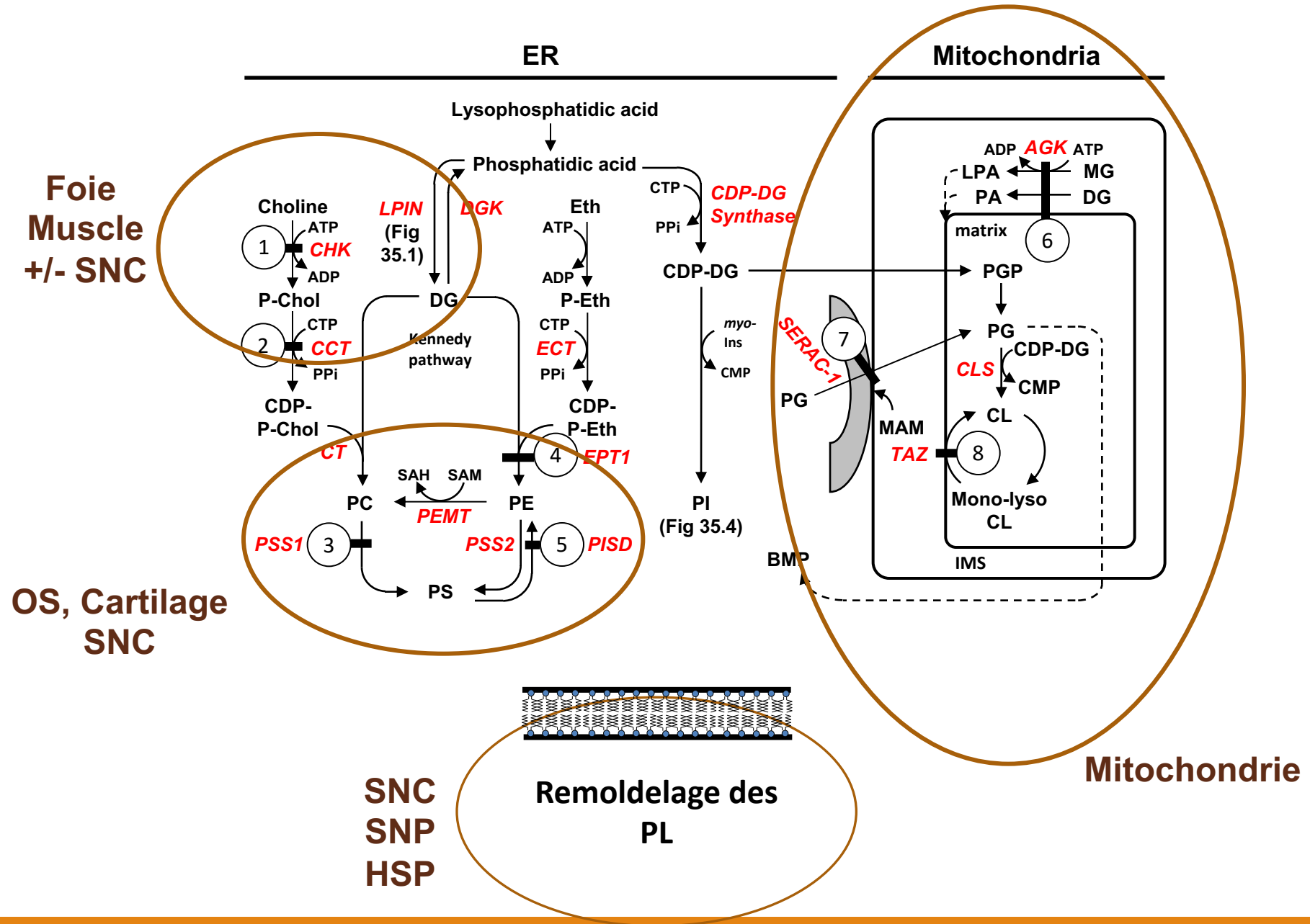
- Retard de développement, régression
- Hypotonie du tronc
- Surdité, dystonie, spasticité
- IHC néonatale + Hypoglycémie
- Epilepsie
- Anomalies IRM:
 - ganglions de la base et du putamen, atrophie optique
- Fibroblastes:
 - Augmentation du PG34:1 et Baisse PG36:1 et bis(monoacylglycerol)-P
 - Déficit du complexe I
 - Acidurie 3-m thylgluconique

• Déficit en cardiolipine synthase mitochondriale (*CRLS1*)

- Encéphalopathie progressive
- Regression neurodéveloppementale
- Microcéphalie acquise
- Maculopathie, nystagmus cong n tal
- Surdité avec neuropathie sensorielle
- Diabète insipide
- Cardiopathie
 - Déficit en complexe IV

Mitochondrie





Conclusions

- **A la frontière entre les MHM classiques et les maladies génétiques impliquant le métabolisme des protéines de structure.**
- **Phénotypes extrêmement variables** : système nerveux central et périphérique, muscle/Coeur, oeil, peau, squelette et cartilage
- **Overlappe entre phénotypes mitochondrial, lysosomal, peroxisomal**
- **Découverte récente: peu de patients, présentation clinique en évolution**
- **Pas de traitements spécifiques**
- **En majorité identifiés grâce au séquençage d'exome**
- **Peu de marqueurs biochimiques**
- **Isoenzymes avec spécificités tissulaires**

MERCI POUR VOTRE ATTENTION !

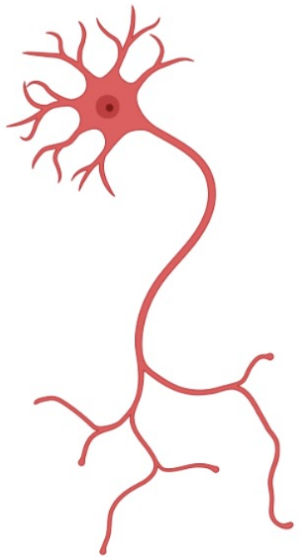
Jean Marie SAUDUBRAY, Paris

Fanny MOCHEL, Paris

Angeles GARCIA CAZORLA, Barcelone

Grant A. MITCHELL, Montréal

Francis ROSSIGNOL, Maryland



MHM- Biosynthèse des Phospholipides

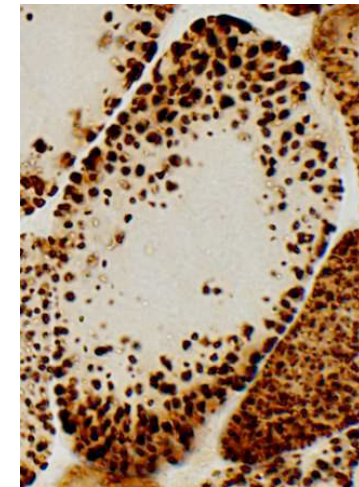
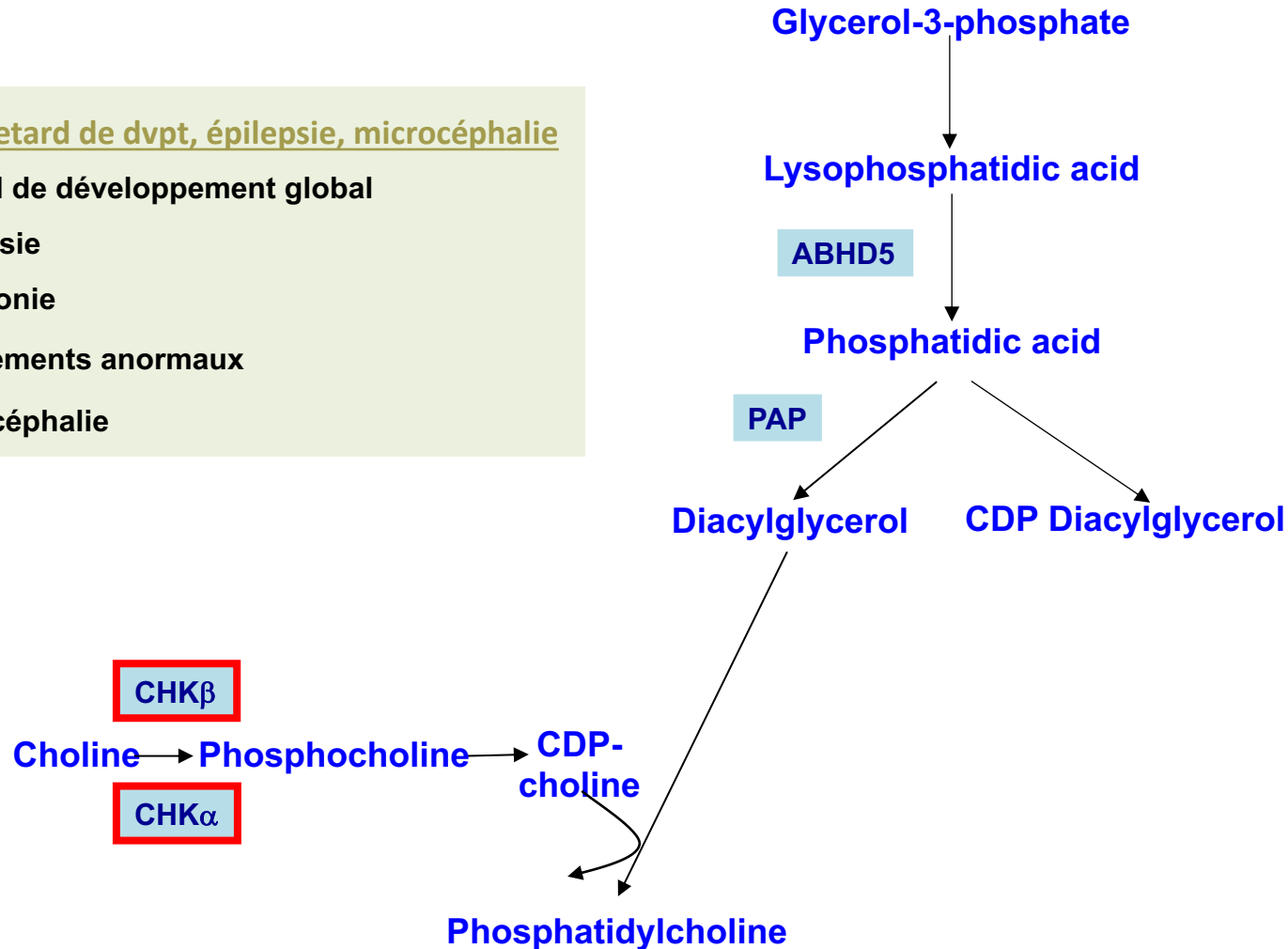
Choline Kinase

CHK α : Retard de dvpt, épilepsie, microcéphalie

- Retard de développement global
- Epilepsie
- Hypotonie
- Mouvements anormaux
- Microcéphalie

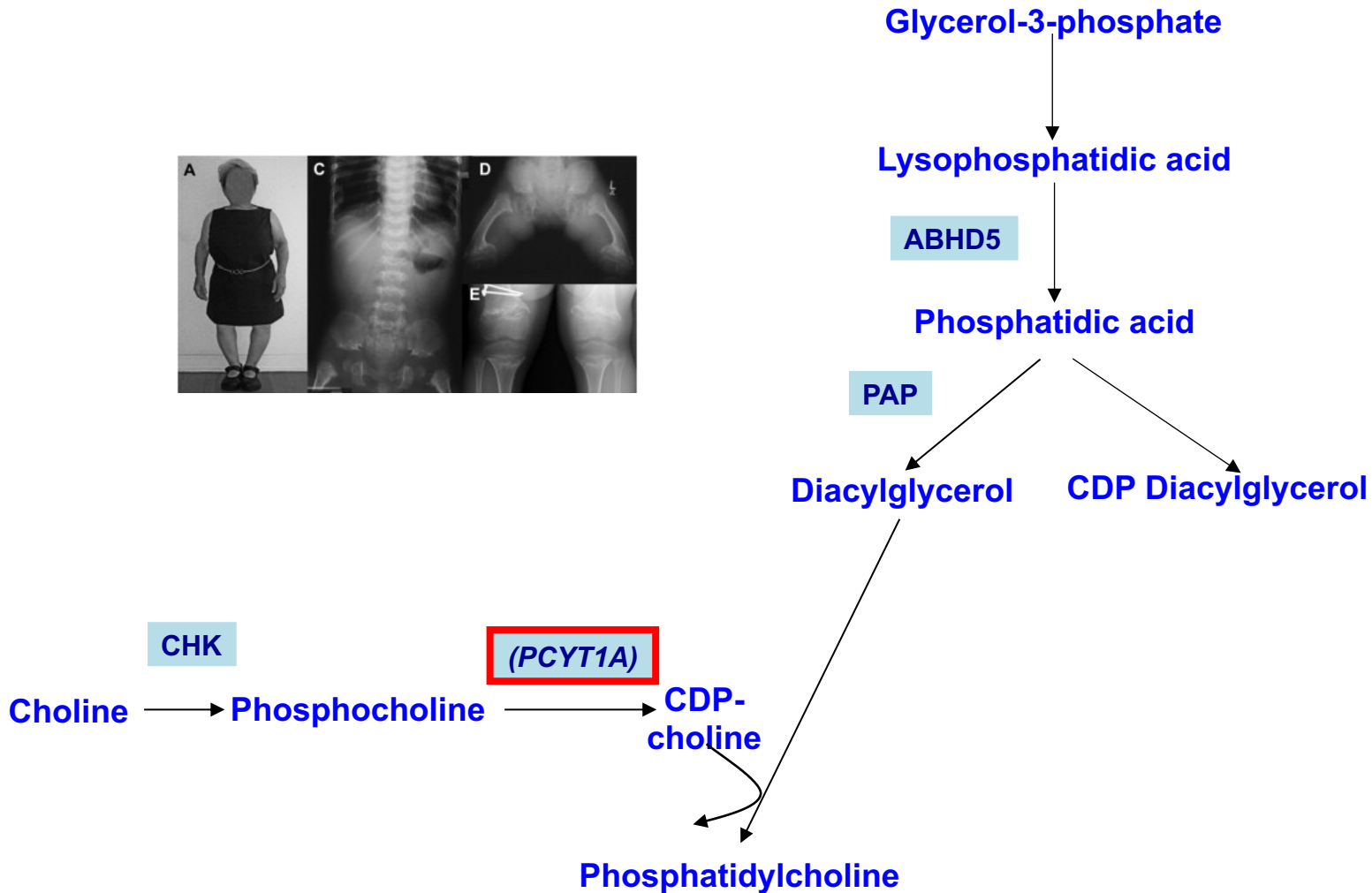
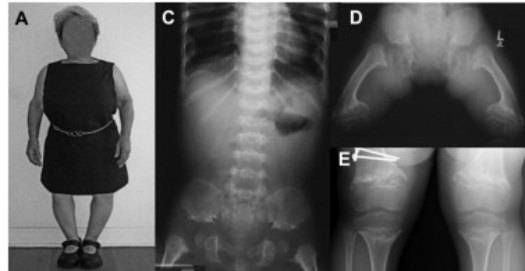
CHK β : Megaconial Congenital Muscular Dystrophy

- Retard mental, épilepsie
- Dystrophie musculaire
- Cardiomyopathie Dilatée
- Mitochondries mégaconiales
- Augmentation modérée et constante des CK
- Traits autistiques, prurit, ichthyose



MHM- Biosynthèse des Phospholipides

PC-Cytidylyltransférase



1-Dysplasie spondélo-métaphysale avec dystrophie des cônes et des bâtonnets

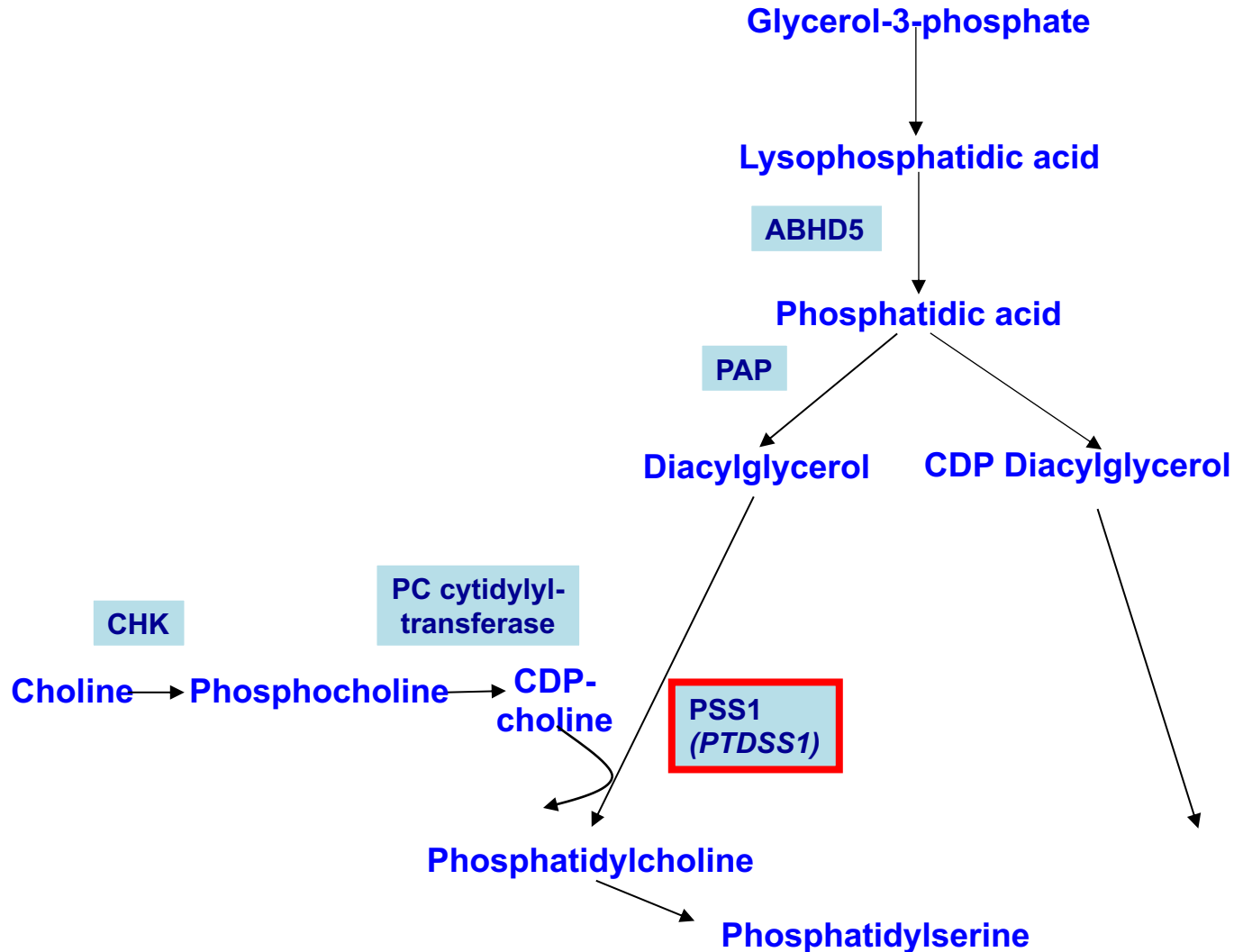
- Retard de développement (nanisme)
- Malformations osseuses, tassements des vertèbres,
- Troubles de la vision :
- Dystrophie des cônes et bâtonnets

2-Dystrophie rétinienne isolée

3-Lipodystrophie partielle isolée

MHM- Biosynthèse des Phospholipides

Phosphatidylserine synthase



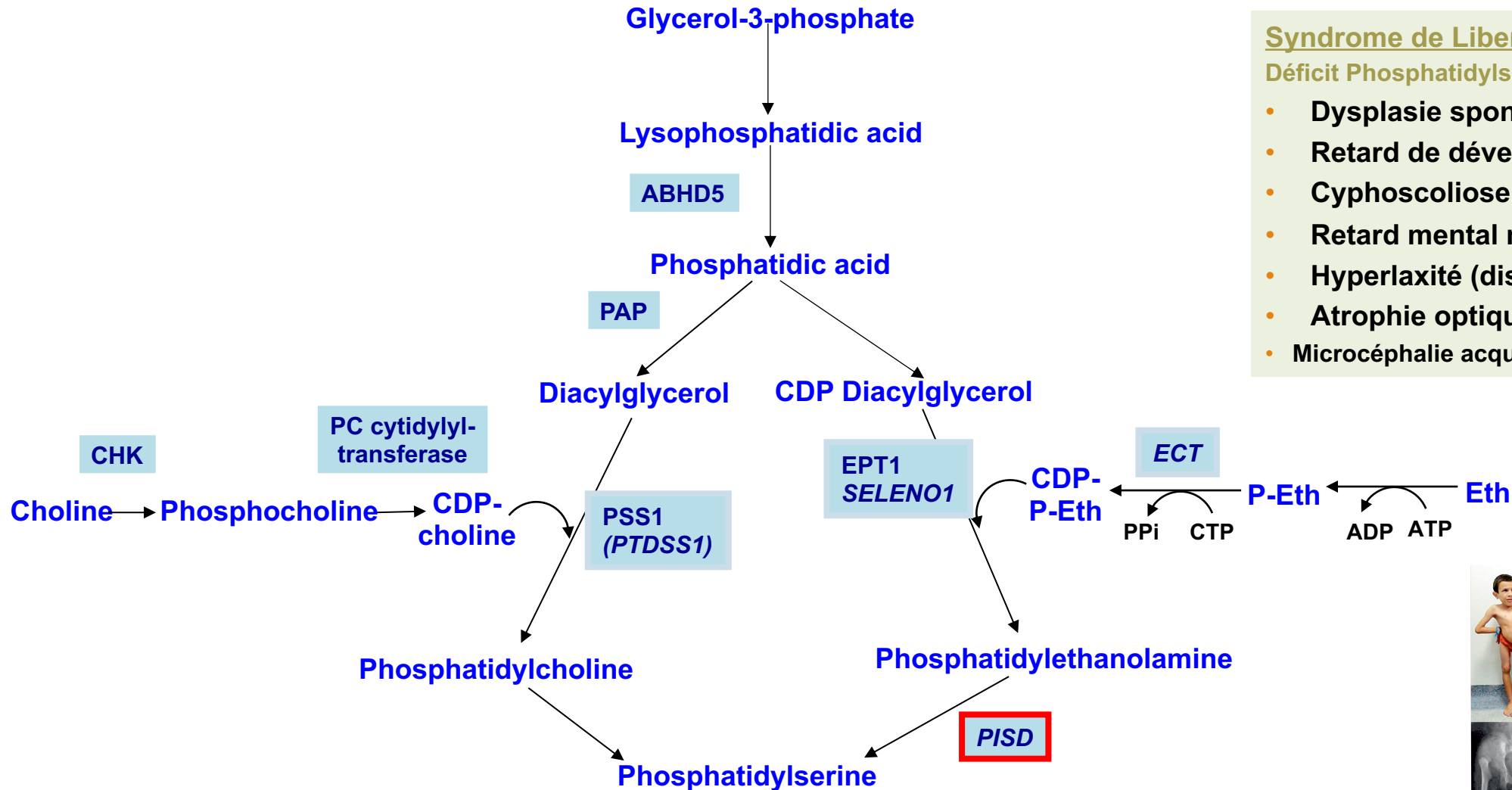
Syndrome de Lenz-Majewski

Phosphatidylsérine synthase

- Aspect progéroïde
- Hyperostose progressive
- Malformations osseuses
- Dymorphie
- Retard mental
- Cutis laxa

MHM- Biosynthèse des Phospholipides

Phosphatidylsérine décarboxylase



Syndrôme de Liberfarb

Déficit Phosphatidylsérine décarboxylase

- Dysplasie spondylo-métaphysaire
- Retard de développement (nanisme)
- Cyphoscoliose
- Retard mental modéré
- Hyperlaxité (dislocations multiples)
- Atrophie optique, atrophie cérébelleuse
- Microcéphalie acquise

