



ARTEMIS: mitochondriAl Role in Tuberos sclErosis coMplex epIlepSy

Dr Céline BRIS & Pr Estelle COLIN
Samedi 15 mars 2025



Sclérose tubéreuse de Bourneville (STB)

■ Epidémiologie

→ Incidence: 1/6.000 - 1/10.000 naissances vivantes

Northrup, Pediat Neurol 2021

→ Prévalence: 1/20.000 - 1/100.000

Orphanet, 2021

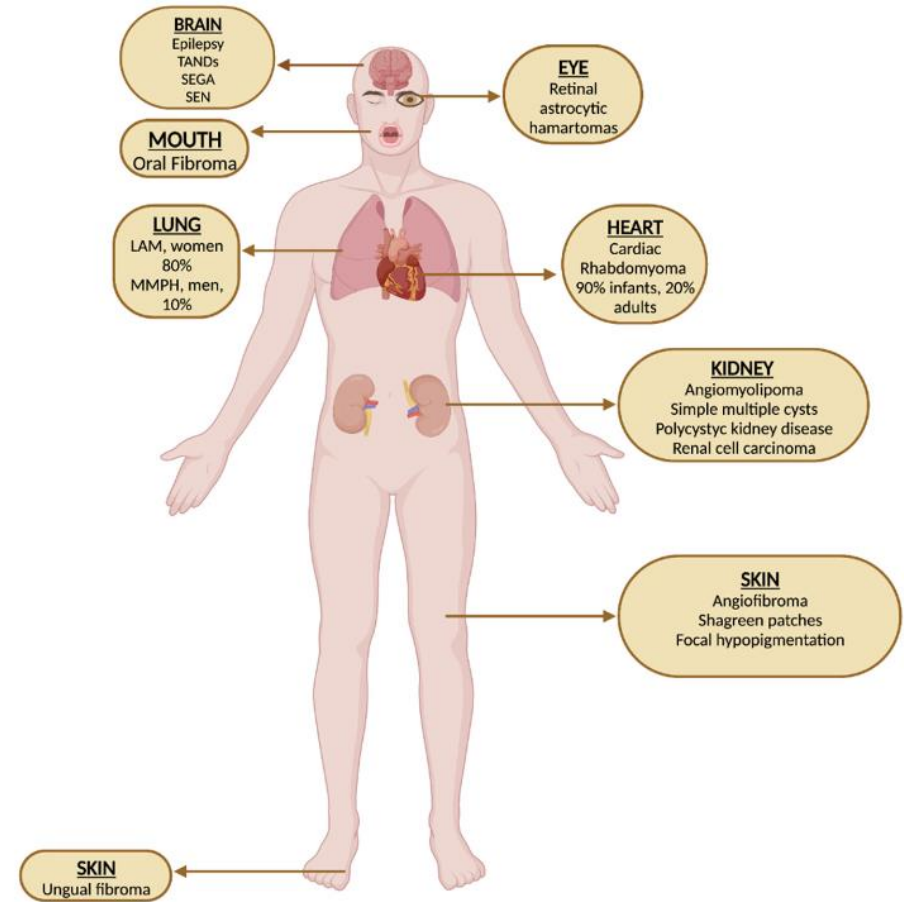
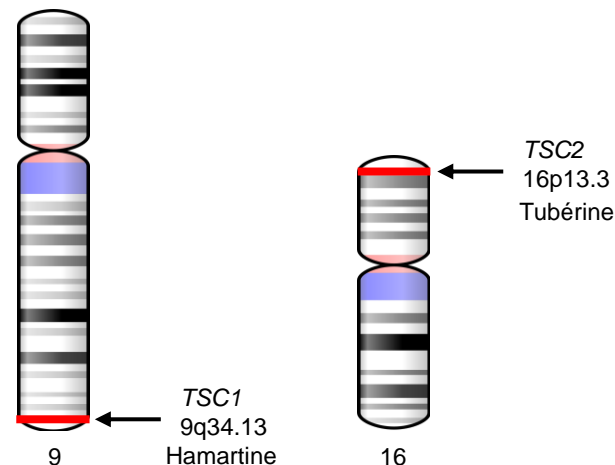
■ Variabilité clinique extrême

→ Pénétrance, sévérité, âge d'apparition

→ Inter- / intrafamiliale

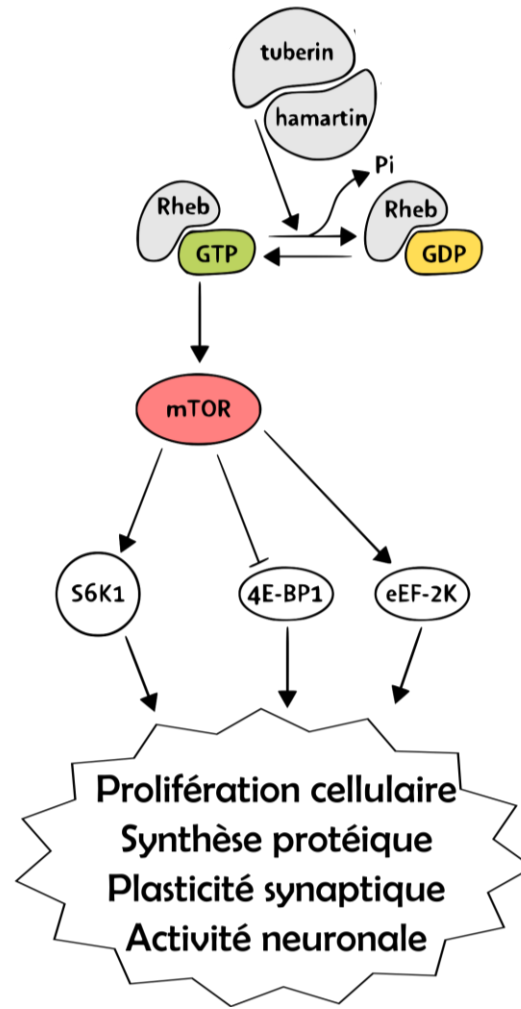
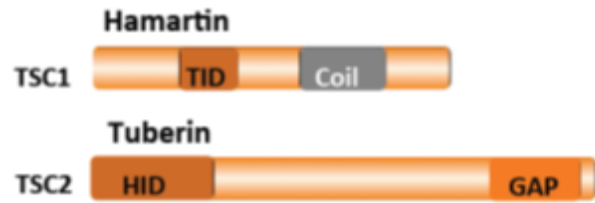
■ Autosomique dominant

■ 2 gènes: *TSC1* et *TSC2*

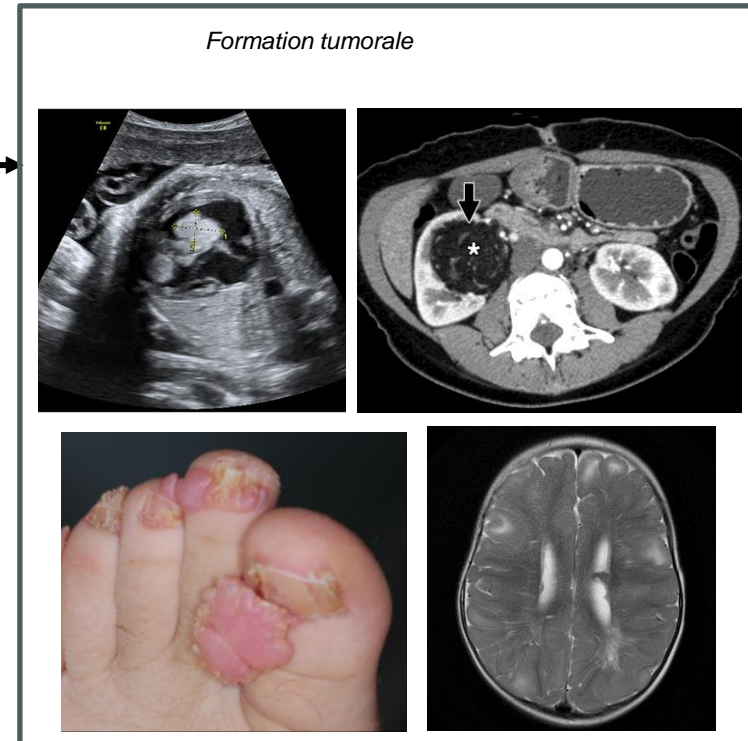
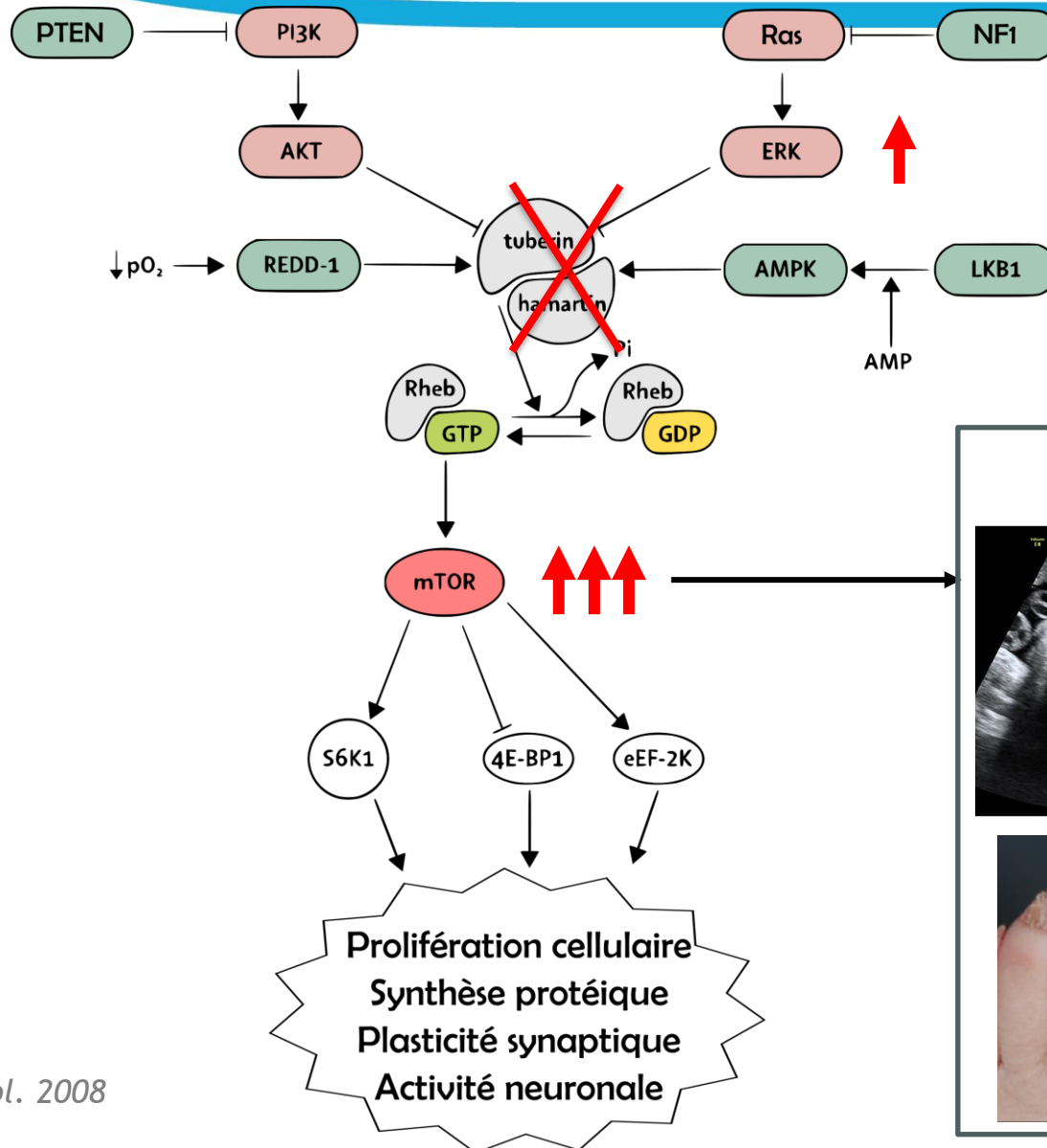


Vitale et al., 2023

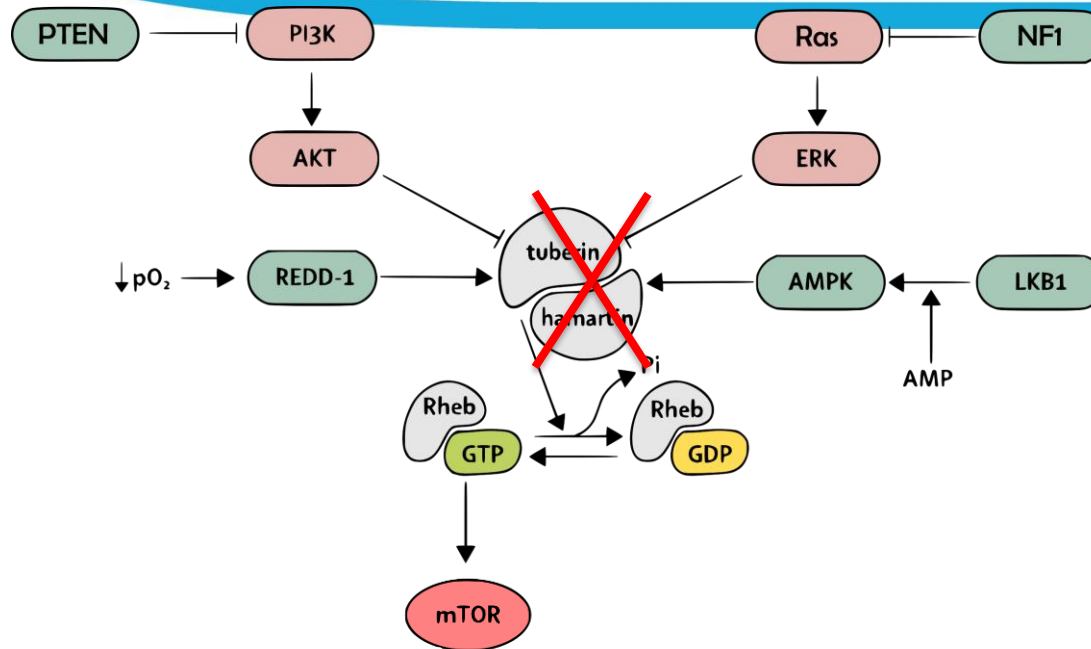
Sclérose tubéreuse de Bourneville (STB) Physiopathologie



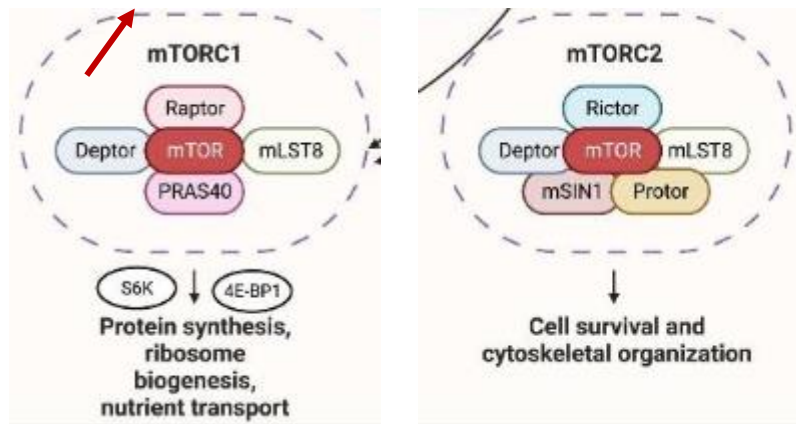
Sclérose tubéreuse de Bourneville (STB) Physiopathologie



Sclérose tubéreuse de Bourneville (STB) Physiopathologie



Reprogrammation métabolique
impliquant la mitochondrie



Développement, morphologie et
fonction du réseau neuronal

Sclérose tubéreuse de Bourneville (STB)

Critères diagnostiques

Diagnostic Criteria

Major Criteria	Minor Criteria
Hypomelanotic macules (≥ 3 ; at least 5 mm diameter)	“Confetti” skin lesions
Angiofibroma (≥ 3) or fibrous cephalic plaque	Dental enamel pits (≥ 3)
Ungual fibromas (≥ 2)	Intraoral fibromas (≥ 2)
Shagreen patch	Retinal achromic patch
Multiple retinal hamartomas	Multiple renal cysts
Multiple cortical tubers and/or radial migration lines	Nonrenal hamartomas
Subependymal nodule (≥ 2)	Sclerotic bone lesions
Subependymal giant cell astrocytoma	
Cardiac rhabdomyoma	
LAM*	
Angiomyolipomas (≥ 2)*	

Abbreviations:

LAM = Lymphangiomyomatosis

TSC = Tuberous sclerosis complex

Diagnostic définitif

- ≥ 2 critères majeurs

Ou

- 2 critères mineurs + 1 critère majeur

Diagnostic possible

- 1 critère majeur

Ou

- ≥ 2 critères mineurs

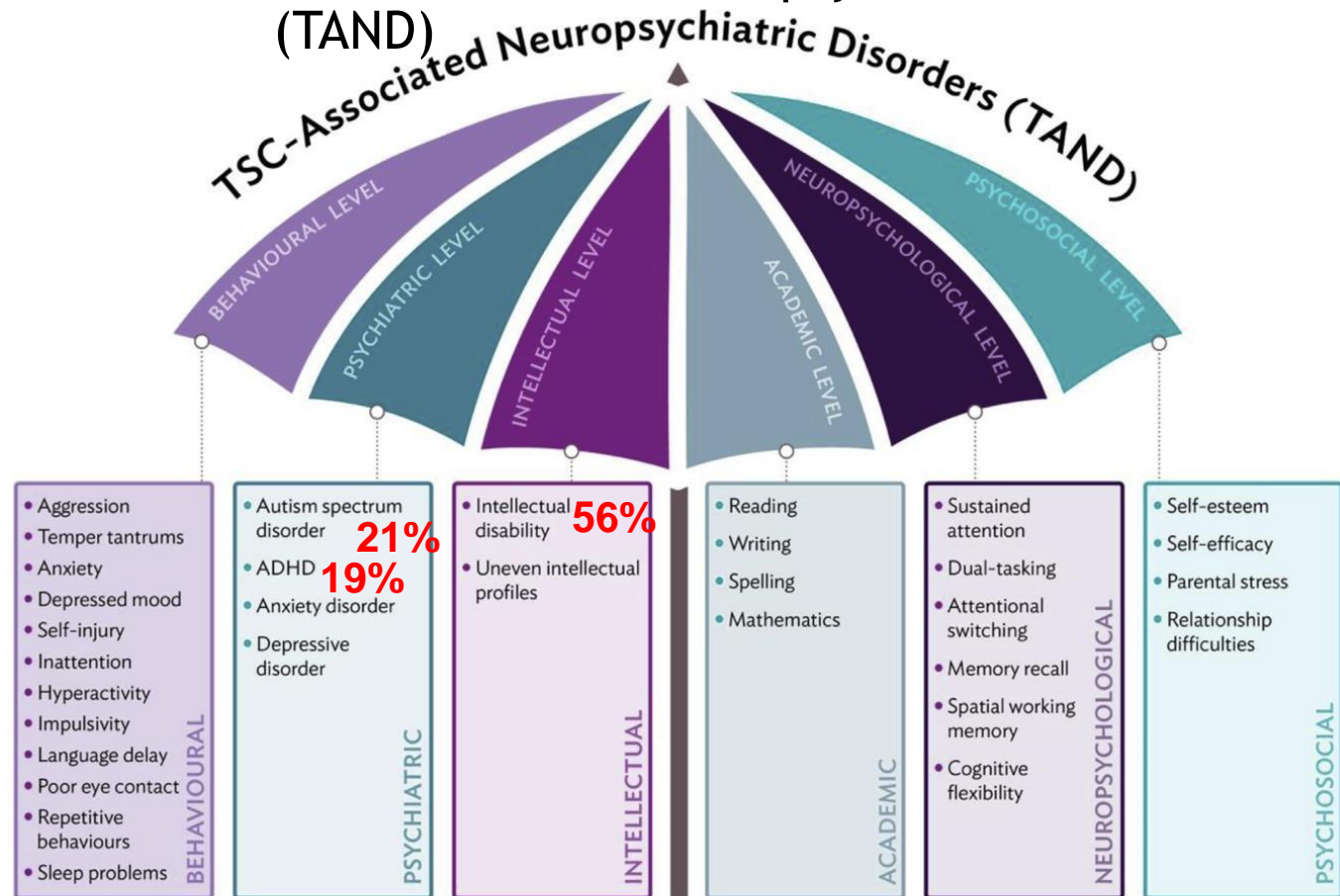
Sclérose tubéreuse de Bourneville (STB)

Clinique hors critères diagnostiques

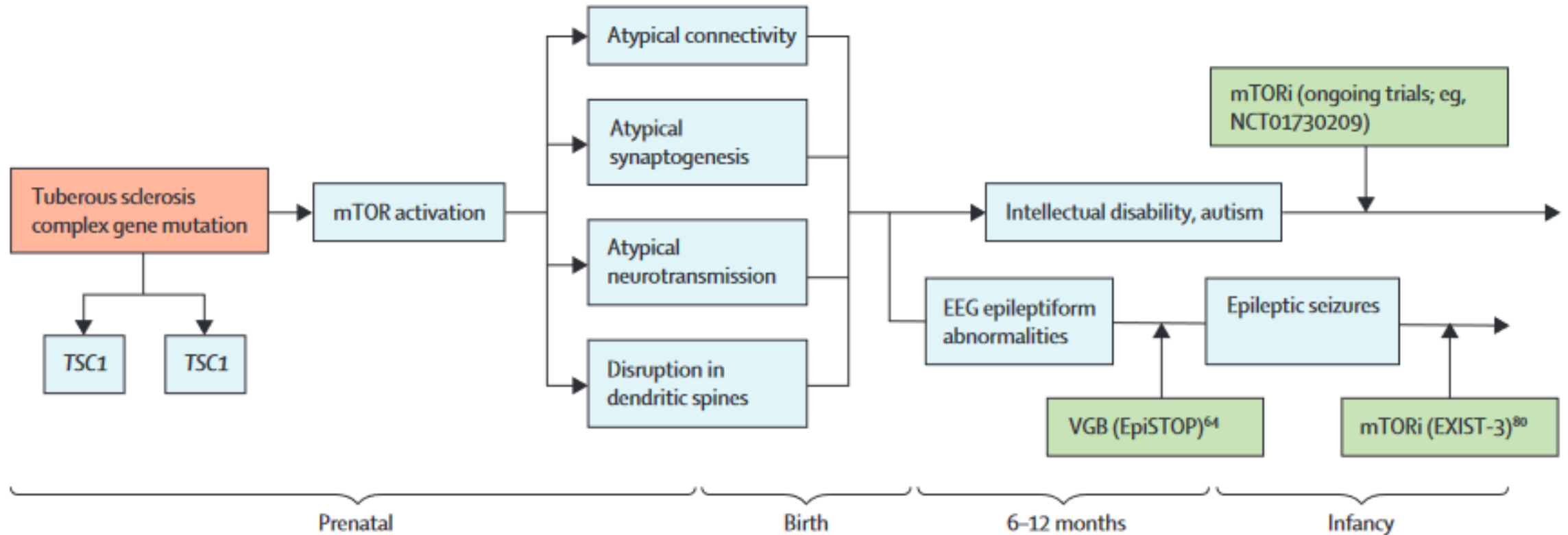
- Epilepsie (~70-90%) *Vitale et al., 2023*
 - Début < 2 ans
 - Précurseur: anomalies EEG
 - Pharmacorésistante (40%) *Nabbout et al., 2021*
 - Pronostic neurocognitif



- TSC-associated neuropsychiatric disorders (TAND)



Epilepsie dans la STB: traitements



Curatolo, Specchio et Aronica, 2022

Epilepsie dans la STB: traitements

- Vigabatrine (Inhibiteur GABA)
 - Efficace pour contrôler les spasmes infantiles (Kotulska et al., 2021 ; Bebin et al., 2023)
 - Cependant, ces deux essais n'ont pas montré que le traitement préventif améliorait les résultats neurocognitifs à l'âge de 24 mois (Henske et al., 2016 ; De Ridder et al., 2021 ; Nabbout et al., 2021)
- Thérapies ciblées sur les inhibiteurs de mTOR, comme l'évérolimus et la rapamycine
 - Réduisant la fréquence des crises focales, en particulier chez les enfants de moins de six ans
 - Diminuant la taille des hamartomes associés, y compris l'astrocytome sous-épendymaire à cellules géantes (Henske et al., 2016 ; Nabbout et al., 2021)
 - L'évérolimus, en particulier, a démontré des effets à long terme sur l'épilepsie et la croissance chez les enfants de moins de trois ans (Henske et al., 2016 ; Canevini et al., 2018).

Epilepsie dans la STB: traitements

- Actuellement, il existe des options limitées pour traiter les crises résistantes aux médicaments chez les personnes atteintes de SCT (Vitale et al, 2023)
 - Le cannabidiol (Modulateur des récepteurs cannabinoïdes), utilisé comme adjuvant
 - Le régime cétogène, utilisé comme thérapie adjuvante
 - Les interventions chirurgicales
 - La résection des tubercules épileptogènes
 - Les procédures de déconnexion
 - La stimulation du nerf vagal impliquant l'implantation d'un dispositif pour stimuler le nerf vague (Henske et al., 2016)

Epilepsie dans la STB: traitements

- Malgré ces nouvelles approches pour traiter l'épilepsie, environ 40 % des patients épileptiques atteints de STB présentent une épilepsie focale pharmacorésistante (Nabbout et al., 2021)
- Des essais cliniques sont en cours ciblant d'autres voies avec des molécules telles que
 - La Ganaxolone (stéroïdes neuroactifs avec effets modulateurs sur les récepteurs GABAA)
 - Le Basimglurant (modulateur allostérique négatif du mGluR5)
 - Le LP352/bexicaserin (superagoniste sélectif du récepteur 5-HT2C)

La mitochondrie

Un organite aux multiples fonctions

- Organelle ubiquitaire
- Centrale énergétique de la cellule

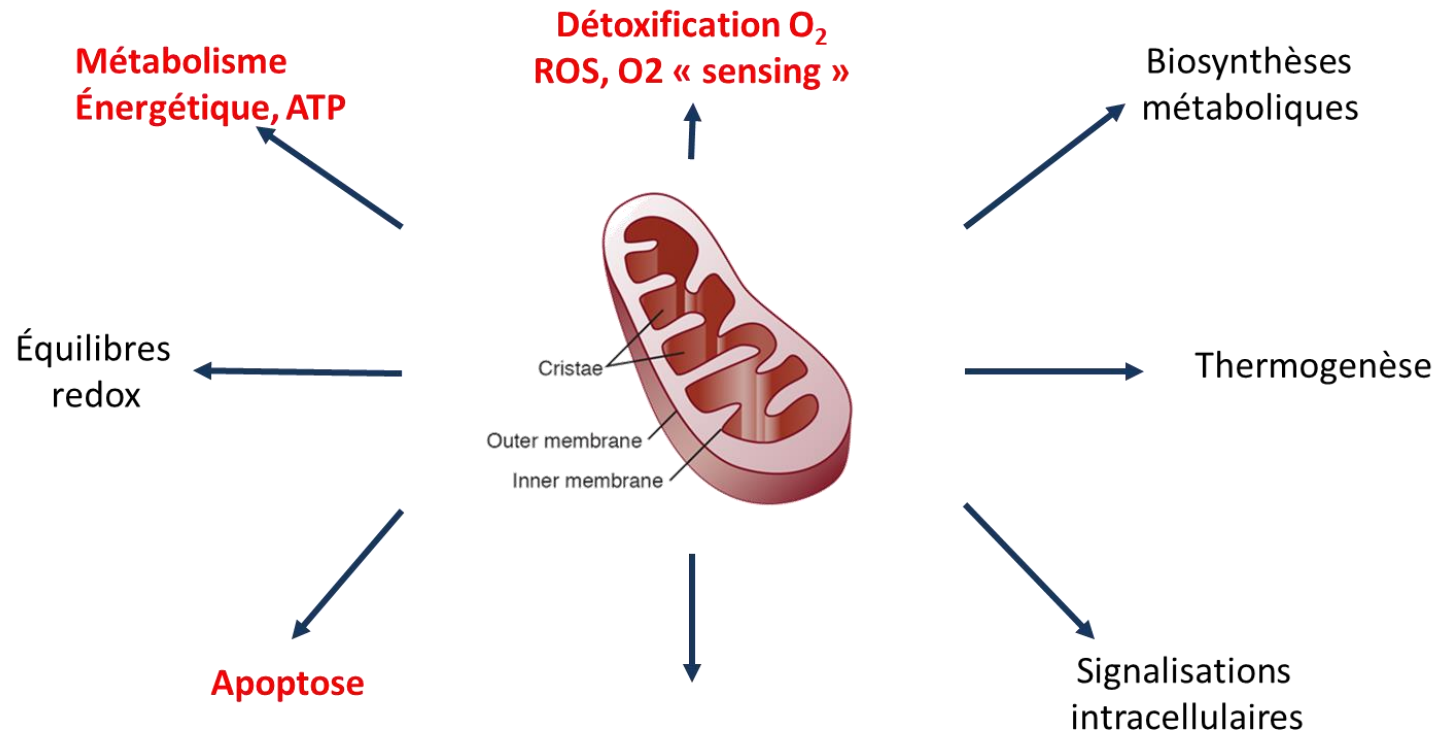
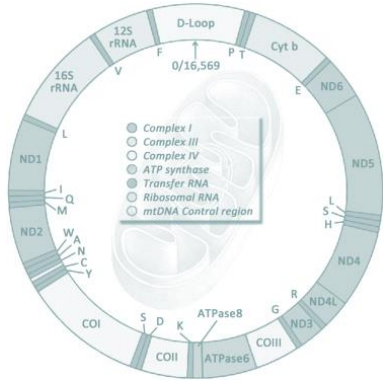


Illustration adaptée de <https://www.genome.gov/>

La mitochondrie

Une double origine génétique



ADN mitochondrial (ADNmt)

37 gènes

- OXPHOS (13 protéines)
- Expression de l'ADNmt (2 ARNr et 22 ARNt)



ADN nucléaire (ADNn)

> 1600 gènes

- OXPHOS
- Réplication et expression de l'ADNmt
- Dynamique mitochondriale
- Biogénèse
- Voies métaboliques

MITOPROTEOME
> 1600 protéines

→ La majorité des composants mitochondriaux est codée par les gènes nucléaires, synthétisée dans le cytosol et importée dans la mitochondrie

Les maladies mitochondriales primaires

Prévalence de 1/4300

Large spectre d'atteintes cliniques
reflétant la dépendance énergétique des
organes

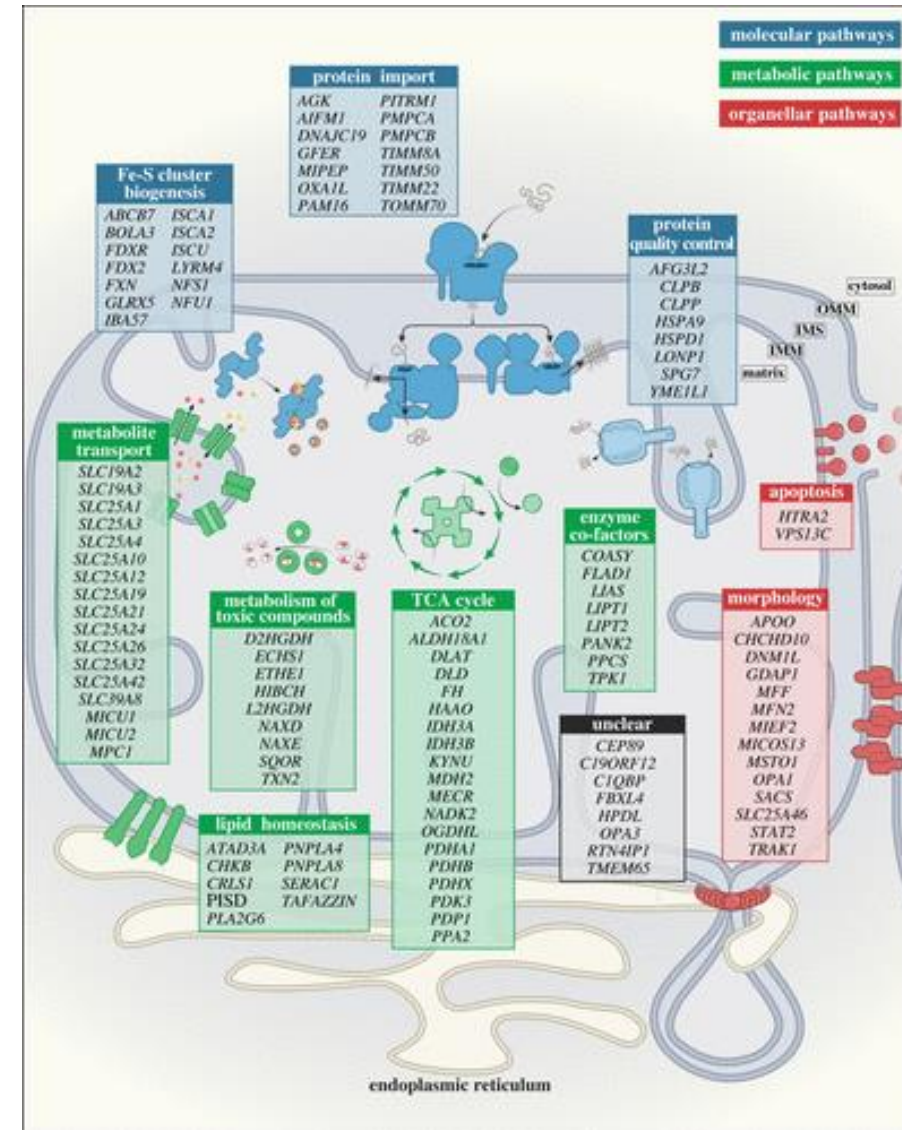
- Symptomatologie variable
- Atteintes de tous les organes
- Âge variable de survenue



→ Une hétérogénéité clinique en partie le reflet d'une hétérogénéité génétique

Les maladies mitochondriales secondaires

- Dysfonctions mitochondriales ne résultant pas d'anomalies génétiques sur des gènes impliqués dans le fonctionnement des mitochondries
 - Autres maladies génétiques
 - Autres maladies (cancers, maladie de parkinson, maladies d'Alzheimer ...)
 - Facteurs environnementaux (ex : pesticides, médicaments, régime alimentaire ...)
 - Vieillesse



Dysfonctions mitochondriales

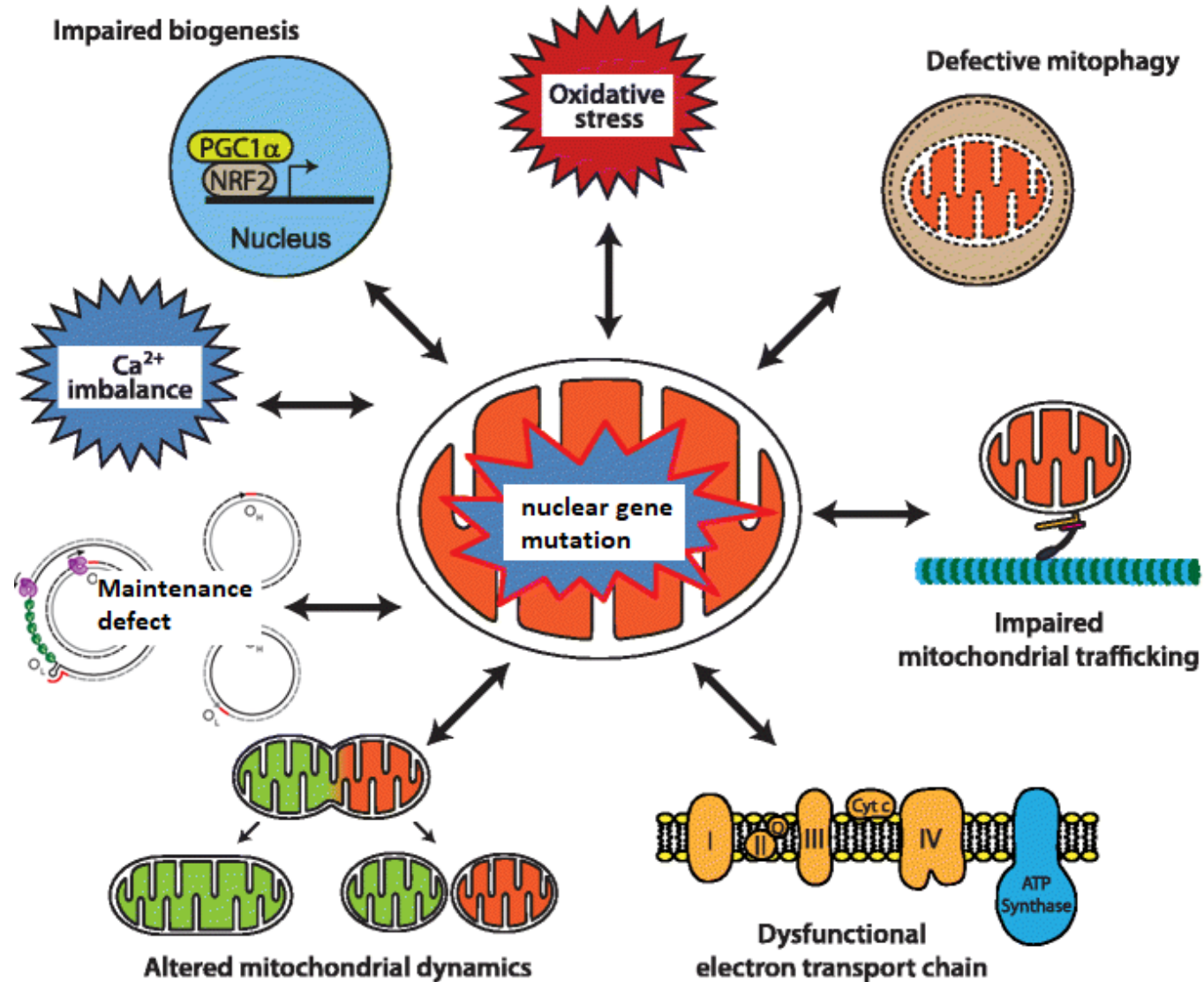
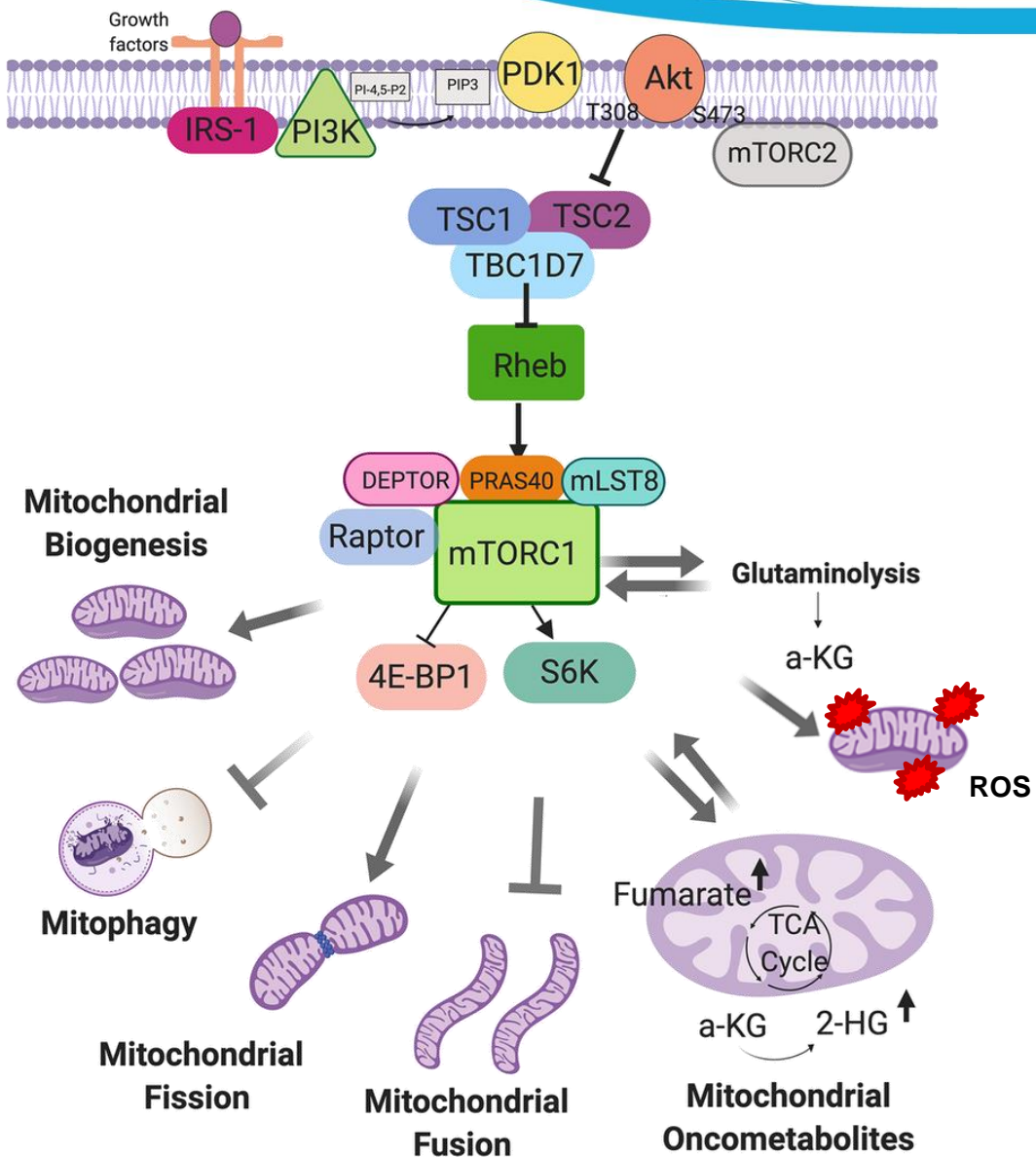


Illustration adaptée de Park JS et al, Movement Disorders 2018

Complex TSC - Complex mTORC1 et mitochondries



■ Rôles multiples dans la physiologie mitochondriale

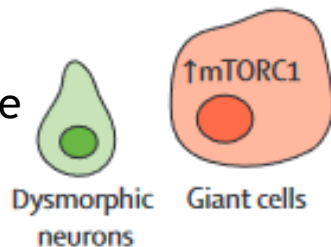
- Biogénèse
- Mitophagie
- Dynamique mitochondriale
- Métabolisme
- Stress oxydant

Figure adaptée de de la Cruz López Kget alFront Oncol. 2019
Dec. PMID: 31921637

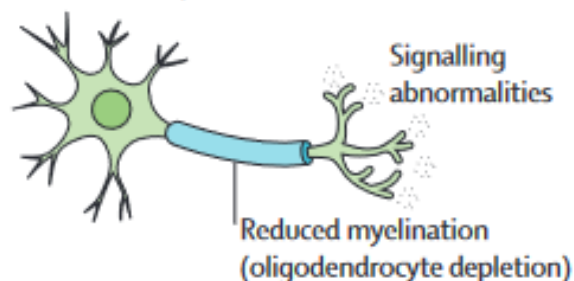
Epilepsie dans la STB

Cellular

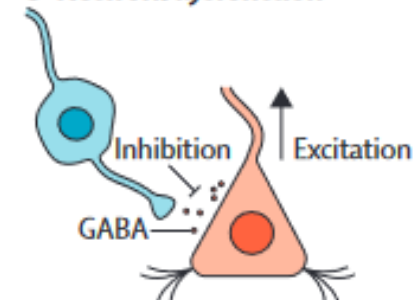
A Cellular abnormalities



B Neuronal dysfunction

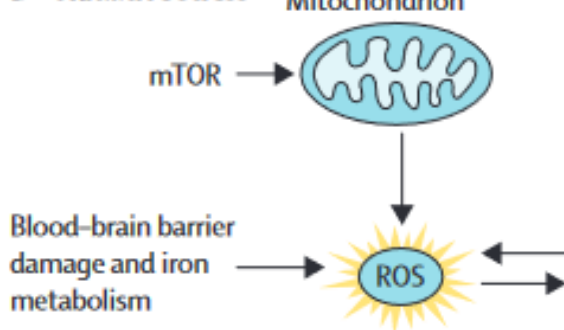


C Network dysfunction

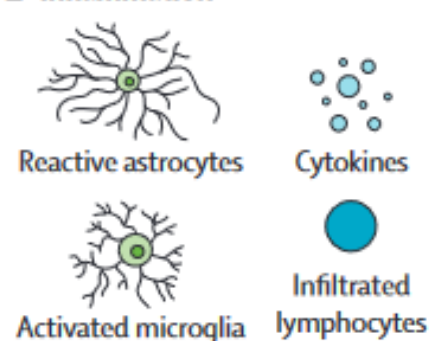


Molecular

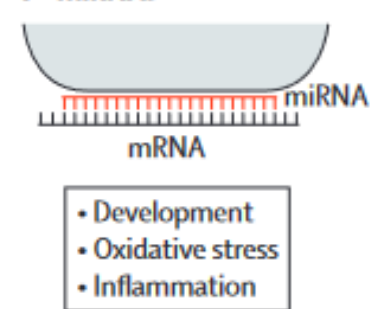
D Oxidative stress



E Inflammation



F miRNAs



Dérégulation de miARN peut contribuer ou maintenir les changements moléculaires pathologiques

Dommages indirects dans les cellules non neuronales par les voies de l'inflammation et l'activation du système immunitaire

Dysfonction neuronale directe

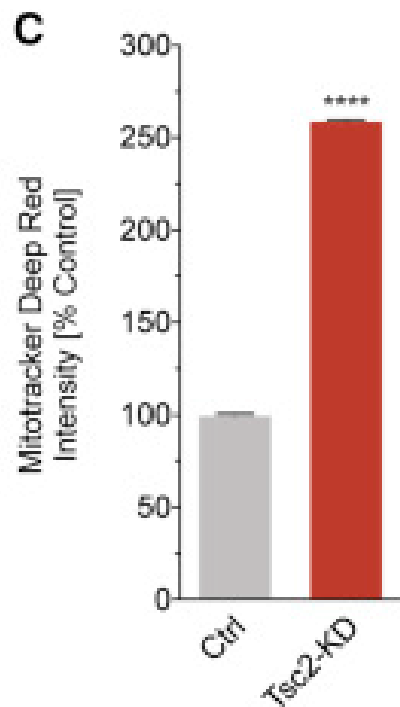
Dysfonction mitochondriale

Dysfonctions mitochondriales et STB

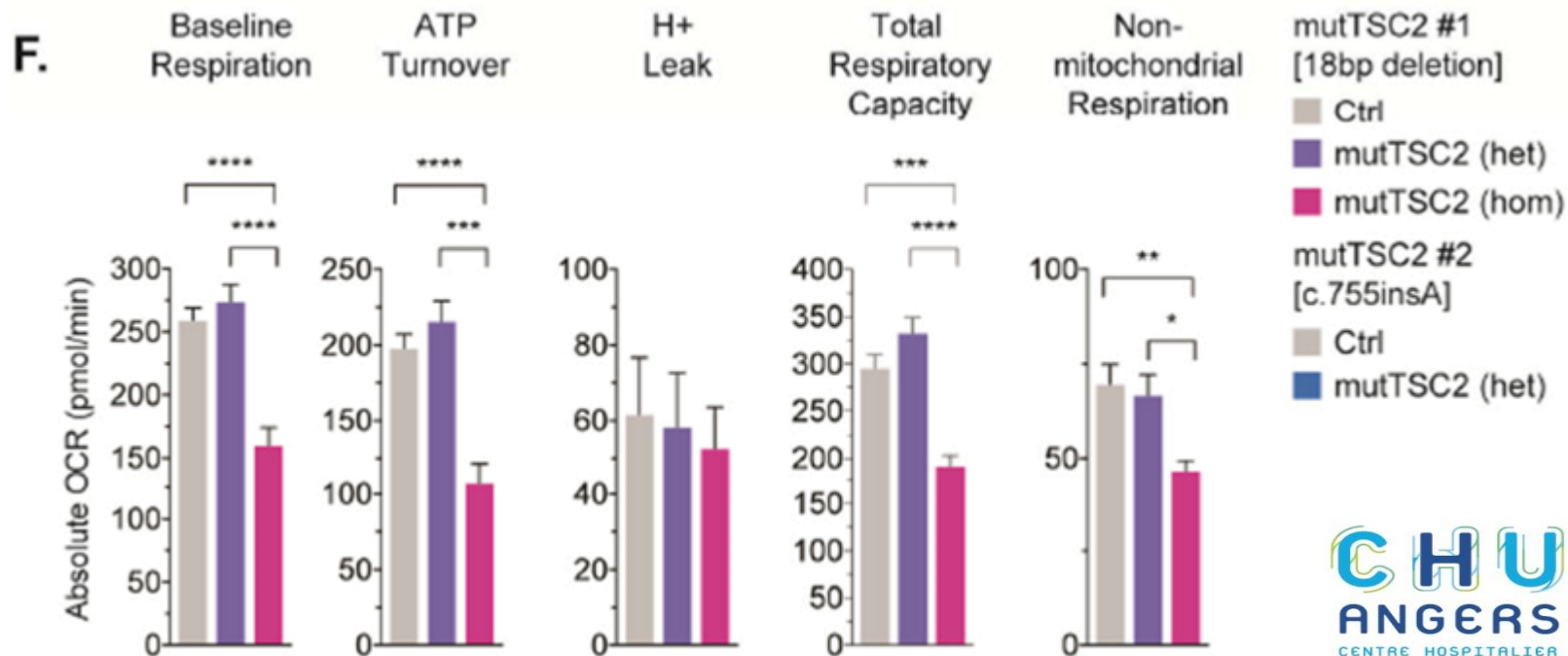
Impaired Mitochondrial Dynamics And Mitophagy In Neuronal Models Of Tuberous Sclerosis Complex

Darius Ebrahimi-Fakhari,^{1,2,6} Afshin Saffari,^{1,2,6} Lara Wahster,^{2,3} Alessia DiNardo,¹ Daria Turner,¹ Tommy L. Lewis, Jr.,⁴ Christopher Conrad,⁵ Jonathan M. Rothberg,⁵ Jonathan O. Lipton,¹ Stefan Kölker,² Georg F. Hoffmann,² Min-Joon Han,¹ Franck Polleux,⁴ and Mustafa Sahin^{1,7,*}

Plus de mitochondries

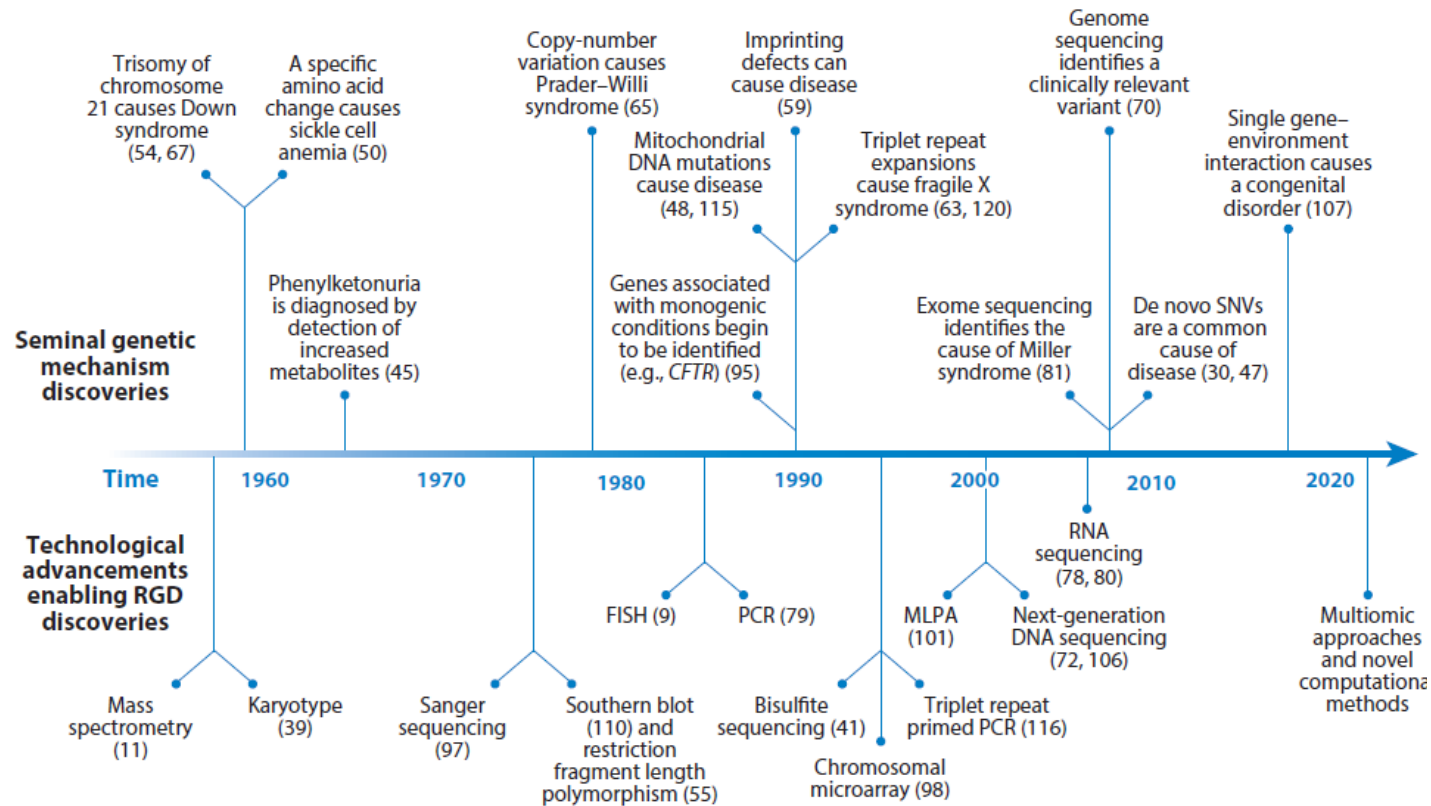


Mais des mitochondries moins fonctionnelles

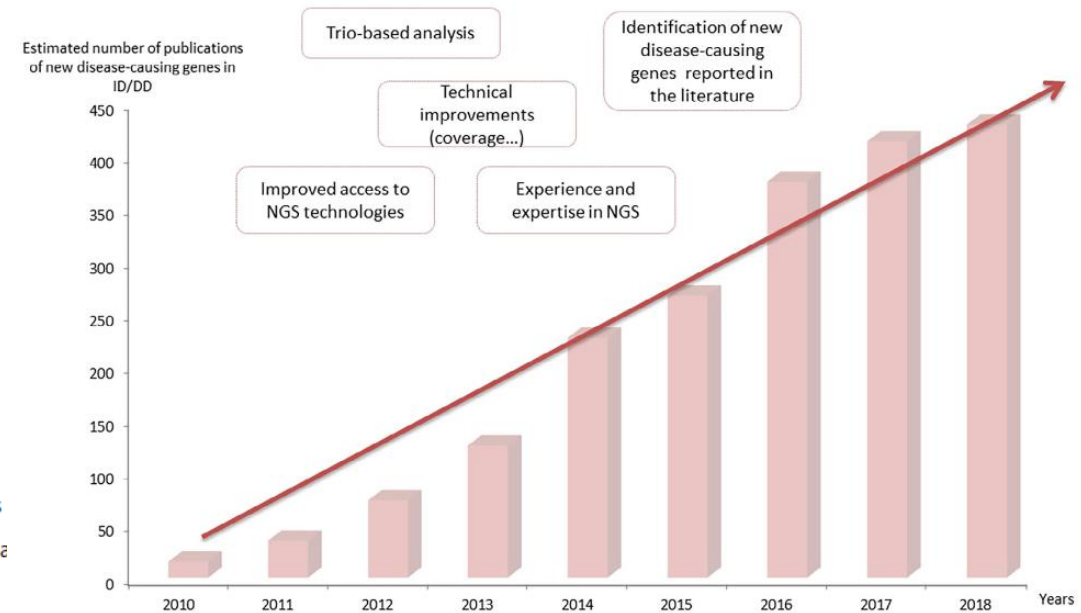


(Cell Reports 17, 1053-1070; October 18, 2016)

Approches Omics



T Hartley et al. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2020



AL Bruel et al. *Clin Genet.* 2020

Approches Omics

Genomics

The study of sequence level DNA modifications.

Examples:

- Single nucleotide sequence variation (base changes / substitutions / insertions / deletions)
- Structural variation (copy number variants)
- Chromosomal variation (segment aneuploidy / whole genome or whole chromosome alterations)

Epigenomics

The study of non-sequence level DNA modifications.

Examples:

- DNA methylation
- RNA modifications (e.g. methylation and phosphorylation)
- Histone modifications (e.g. methylation, acetylation, phosphorylation)

Proteomics

The study of protein abundance and expression.

Examples:

- Antibodies (e.g. Immunoglobulins)
- Enzymes (e.g. Polymerases)
- Messenger (e.g. growth hormones)
- Structural component (e.g. actin)
- Transport/storage (e.g. ferritin)

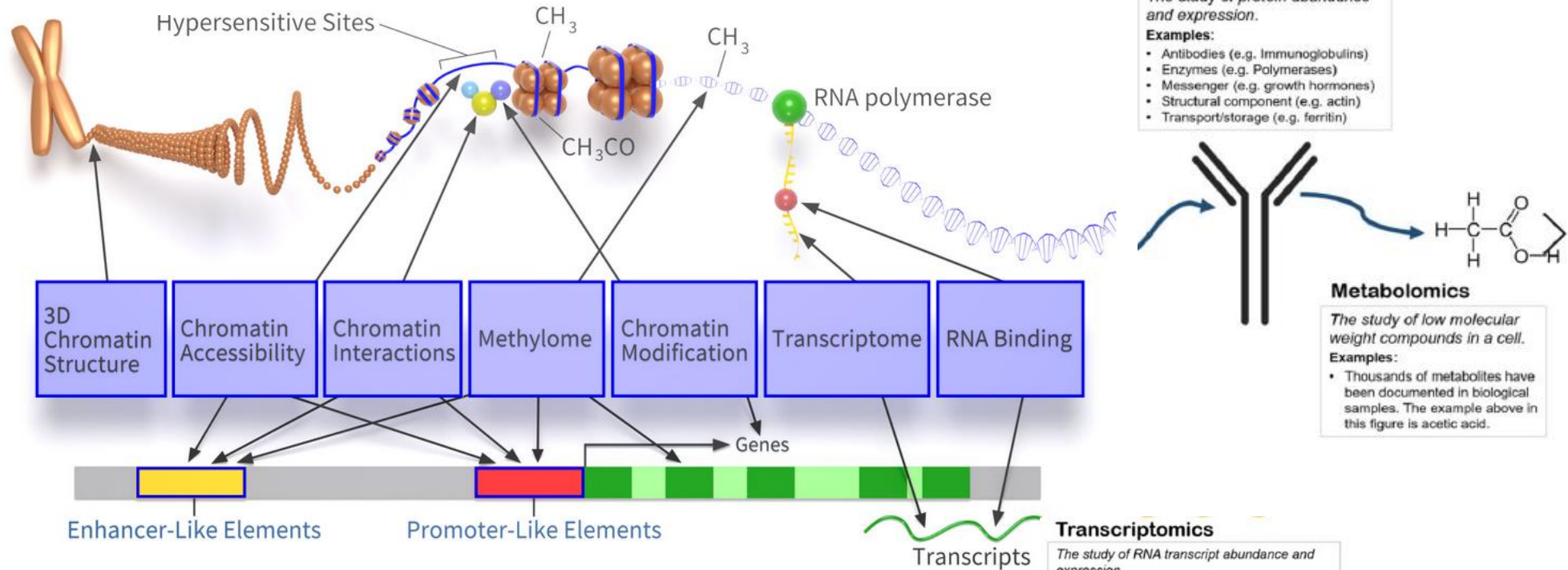


Phenomics

The study of observable traits.

Examples:

- Observable symptoms
- Morphological differences.
- Behavioural traits.
- Developmental patterns.



Metabolomics

The study of low molecular weight compounds in a cell.

Examples:

- Thousands of metabolites have been documented in biological samples. The example above in this figure is acetic acid.

Transcriptomics

The study of RNA transcript abundance and expression.

Examples:

- Coding RNA transcripts (messenger RNA)
- Non coding RNA transcripts (e.g. circular RNA, micro RNA, long non coding RNA, transfer RNA, ribosomal RNA, small nucleolar RNA, small nuclear RNA, small interfering RNA.)

D'après Kerr et al. Orphanet Journal of Rare Diseases. 2020

D'après Darryl Leja (NHGRI), Ian Dunham (EBI), Michael Pazin (NHGRI), ENCODE

- Essai monocentrique prospectif
- Notre objectif principal: caractériser de manière approfondie les défauts mitochondriaux dans une cohorte d'individus avec une STB, atteints d'épilepsie
 - Par le biais d'une étude du transcriptome via le séquençage de l'ARN total des fibroblastes (RNAseq)
 - Par des études fonctionnelles mitochondriales afin d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques pour améliorer la prise en charge de l'épilepsie
- Nos objectifs secondaires
 - Évaluer si la gravité de l'épilepsie est en corrélation avec la gravité des dommages mitochondriaux
 - Identifier les signatures spécifiques de l'ARNm concernant la résistance aux médicaments
 - Améliorer le diagnostic de la STB grâce à une étude du transcriptome

ARTEMIS

TASK 1



Phénotypage clinique
(Enfants & adultes)



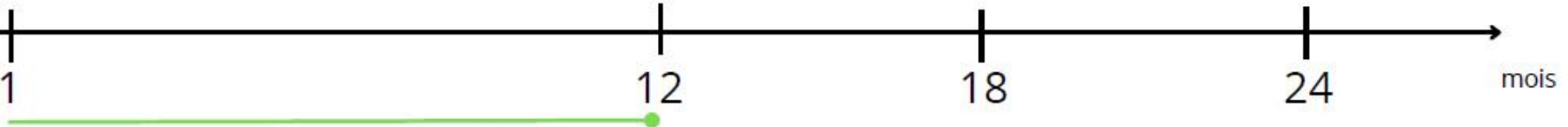
EEG



Imagerie

- Etude proposée à l'ensemble des 110 personnes suivies par le Centre de Référence Maladies Rares « Epilepsies rares »
- Inclusion de 55 personnes avec
 - Epilepsie pharmacosensible
 - Epilepsie pharmacorésistante
- Appariement en fonction de l'âge et du sexe, dont on sait qu'il influence les fonctions mitochondriales
- Une biopsie de la peau sera effectuée afin d'établir des lignées cellulaires primaires de fibroblastes

TASK 1







ARTEMIS

TASK 1



Phénotypage clinique
(Enfants & adultes)

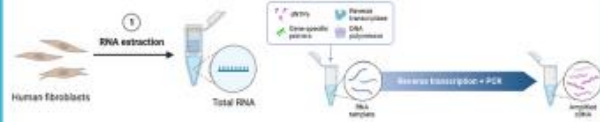


EEG



Imagerie

TASK 2



Culture de fibroblaste & extraction ADN/ARN



RNAseq & ADNseq



TASK 1
TASK 2



ARTEMIS

TASK 1



Phénotypage clinique
(Enfants & adultes)

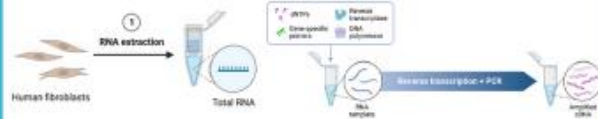


EEG



Imagerie

TASK 2



Culture de fibroblaste & extraction ADN/ARN



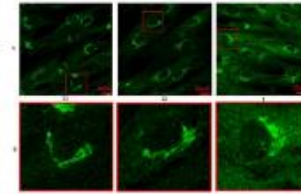
RNAseq & ADNseq



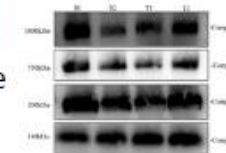
TASK 3



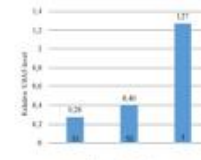
Etude fonctionnelle mitochondriale



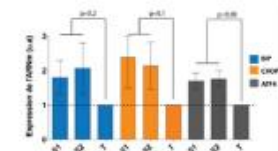
Microscopie fluorescence



BNpage



Western blot

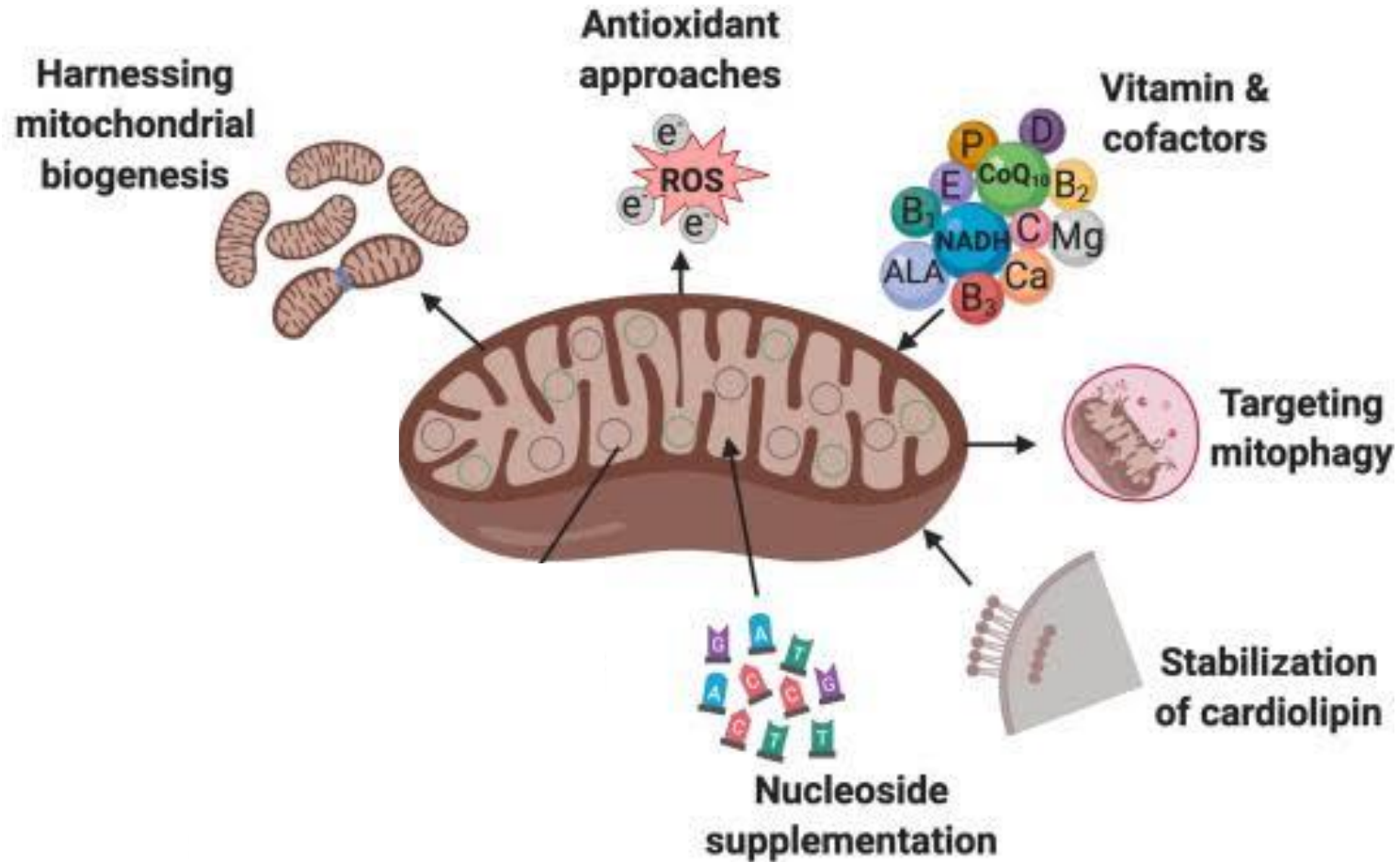


Expression

TASK 1
TASK 2
TASK 3



ARTEMIS



Partenaires scientifiques

- Pr Patrick Van Bogaert
- Dr Denis Farges
- Dr Jules Surge
- Pr Christophe Verny
- Dr Guy Lenaers
- Dr Agnès Guichet
- Dr Magalie Lodin-Pasquier
- Pr Vincent Procaccio
- Mme Sarah Prestwich
- Mr Clément Prouteau





Merci pour votre attention