



<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>

THESE

pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
présentée et soutenue publiquement le 5 Juillet 2013
par

M. ENDERLIN Thibaut Samuel

Né le 6 janvier 1985

à Décines-Charpieu (Rhône)

**LE SYNDROME TRIPLE-A : MALADIE D'ALLGROVE ;
DE L'ANOMALIE FONCTIONNELLE NUCLEAIRE
AUX NEUROPATHIES PERIPHERIQUES.
META-ANALYSE ET ETUDE DE CAS CLINIQUES.**

JURY

M. BENZONI Daniel, Professeur des Universités

Mme BRAC de la PERRIERE Aude, Praticien hospitalier

Mme AUJAS Ludivine, Docteur en Pharmacie

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

- Président de l'Université M. François-Noël GILLY
- Vice-Président du Conseil d'Administration M. Hamda BEN HADID
- Vice-Président du Conseil Scientifique M. Germain GILLET
- Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire M. Philippe LALLE

Composantes de l'Université Claude Bernard Lyon 1

SANTE

- UFR de Médecine Lyon Est Directeur : M. Jérôme ETIENNE
- UFR de Médecine Lyon Sud Charles Mérieux Directeur : Mme Carole BURILLON
- Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA
- UFR d'Odontologie Directeur : M. Denis BOURGEOIS
- Institut des Techniques de Réadaptation Directeur : M. Yves MATILLON
- Département de formation et centre de recherche en Biologie Humaine Directeur : M. Pierre FARGE

SCIENCES ET TECHNOLOGIES

- Faculté des Sciences et Technologies Directeur : M. Fabien DE MARCHI
- UFR de Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS) Directeur : M. Claude COLLIGNON
- Ecole Polytechnique Universitaire de Lyon (ex ISTIL) Directeur : M. Pascal FOURNIER
- I.U.T. LYON 1 Directeur : M. Christophe VITON
- Institut des Sciences Financières et d'Assurance (ISFA) Directrice : Mme Véronique MAUME-DESCHAMPS
- I.U.F.M. Directeur : M. Alain MOUGNIOTTE

JANVIER 2013

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

ISPB -Faculté de Pharmacie Lyon

Directrice : Madame la Professeure Christine VINCIGUERRA

Directeurs Adjointes : Madame S. BRIANCON, Monsieur P. LAWTON, Monsieur P. NEBOIS
Madame S. SENTIS, Monsieur M. TOD

Directrice Administrative : Madame P. SILVEIRA

LISTE DES DEPARTEMENTS PEDAGOGIQUES

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUE ET PHARMACIE GALENIQUE

- **CHIMIE ANALYTIQUE, GENERALE, PHYSIQUE ET MINERALE**

Monsieur Jean-François SABOT (Pr)
Monsieur Alain BANNIER (MCU)
Monsieur Philippe BERNARD (MCU)
Madame Julie-Anne CHEMELLE (MCU)
Monsieur Raphaël TERREUX (MCU – HDR)
Monsieur Pierre TOULHOAT (Pr - PAST)

- **PHARMACIE GALENIQUE -COSMETOLOGIE**

Madame Stéphanie BRIANCON (Pr)
Madame Françoise FALSON (Pr)
Monsieur Hatem FESSI (Pr)
Madame Joëlle BARDON (MCU - HDR)
Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (MCU - HDR)
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
Madame Ghania HAMDY-DEGOBERT (MCU)
Monsieur Plawen KIRILOV (MCU)
Monsieur Fabrice PIROT (MCU - PH - HDR)
Monsieur Patrice SEBERT (MCU - HDR)

- **BIOPHYSIQUE**

Monsieur Richard COHEN (PU – PH)
Madame Laurence HEINRICH (MCU)
Monsieur David KRYZA (MCU – PH)
Madame Sophie LANCELOT (MCU - PH)
Monsieur Cyril PAILLER-MATTEI (MCU)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE PHARMACEUTIQUE DE SANTE PUBLIQUE

- **DROIT DE LA SANTE**

Monsieur François LOCHER (PU – PH)
Madame Valérie SIRANYAN (MCU - HDR)

- **ECONOMIE DE LA SANTE**

Madame Nora FERDJAOUI MOUMJID (MCU - HDR)
Monsieur Hans-Martin SPÄTH (MCU)
Madame Carole SIANI (MCU – HDR)

- **INFORMATION ET DOCUMENTATION**

Monsieur Pascal BADOR (MCU - HDR)

- **HYGIENE, NUTRITION, HYDROLOGIE ET ENVIRONNEMENT**

Madame Joëlle GOUDABLE (PU – PH)

- **DISPOSITIFS MEDICAUX**
Monsieur Gilles AULAGNER (PU – PH)
Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)
- **QUALITOLOGIE – MANAGEMENT DE LA QUALITE**
Madame Alexandra CLAYER-MONTEBAULT (MCU)
Monsieur François COMET (MCU)
Monsieur Vincent GROS (MCU PAST)
Madame Pascale PREYNAT (MCU PAST)
- **MATHEMATIQUES – STATISTIQUES**
Madame Claire BARDEL-DANJEAN (MCU)
Madame Marie-Aimée DRONNE (MCU)
Madame Marie-Paule PAULTRE (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE SCIENCES DU MEDICAMENT

- **CHIMIE ORGANIQUE**
Monsieur Pascal NEBOIS (Pr)
Madame Nadia WALCHSHOFER (Pr)
Monsieur Zouhair BOUAZIZ (MCU - HDR)
Madame Christelle MARMINON (MCU)
Madame Sylvie RADIX (MCU -HDR)
Monsieur Luc ROCHEBLAVE (MCU - HDR)
- **CHIMIE THERAPEUTIQUE**
Monsieur Roland BARRET (Pr)
Monsieur Marc LEBORGNE (Pr)
Monsieur Laurent ETTOUATI (MCU - HDR)
Monsieur Thierry LOMBERGET (MCU - HDR)
Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)
- **BOTANIQUE ET PHARMACOGNOSIE**
Madame Marie-Geneviève DIJOUX-FRANCA (Pr)
Madame Anne-Emmanuelle DE BETTIGNIES (MCU)
Madame Isabelle KERZAON (MCU)
Monsieur Serge MICHALET (MCU)
- **PHARMACIE CLINIQUE, PHARMACOCINETIQUE ET EVALUATION DU MEDICAMENT**
Madame Roselyne BOULIEU (PU – PH)
Madame Magali BOLON-LARGER (MCU - PH)
Madame Céline PRUNET-SPANO (MCU)
Madame Catherine RIOUFOL (MCU - PH)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE PHARMACOLOGIE, PHYSIOLOGIE ET TOXICOLOGIE

- **TOXICOLOGIE**
Monsieur Jérôme GUITTON (PU – PH)
Monsieur Bruno FOUILLET (MCU)
Madame Léa PAYEN (MCU -HDR)
Monsieur Sylvain GOUTELLE (AHU)
- **PHYSIOLOGIE**
Monsieur Christian BARRES (Pr)
Monsieur Daniel BENZONI (Pr)
Madame Kiao Ling LIU (MCU)
Monsieur Ming LO (MCU - HDR)

- **PHARMACOLOGIE**

Monsieur Bernard RENAUD (Pr)
Monsieur Michel TOD (PU – PH)
Monsieur Luc ZIMMER (PU – PH)
Madame Bernadette ASTIER (MCU - HDR)
Monsieur Roger BESANCON (MCU)
Madame Evelyne CHANUT (MCU)
Monsieur Nicola KUCZEWSKI (MCU)
Madame Dominique MARCEL-CHATELAIN (MCU - HDR)
Monsieur Olivier CATALA (Pr PAST)
Monsieur Pascal THOLLOT (MCU PAST)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES A

- **IMMUNOLOGIE**

Monsieur Jacques BIENVENU (PU – PH)
Madame Cécile BALTER-VEYSSEYRE (MCU - HDR)

- **HEMATOLOGIE ET CYTOLOGIE**

Madame Christine TROUILLOT-VINCIGUERRA (PU - PH)
Madame Brigitte DURAND (MCU - PH)
Monsieur Olivier ROUALDES (AHU)

- **MICROBIOLOGIE ET MYCOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE AUX BIOTECHNOLOGIES INDUSTRIELLES**

Monsieur Patrick BOIRON (Pr)
Madame Ghislaine DESCOURS (AHU)
Monsieur Jean FRENEY (PU – PH)
Madame Florence MORFIN (PU – PH)
Monsieur Didier BLAHA (MCU)
Madame Anne DOLEANS JORDHEIM (MCU)
Madame Emilie FROBERT (MCU - PH)
Madame Véronica RODRIGUEZ-NAVA (MCU)

- **PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE MEDICALE**

Madame Anne-Françoise PETAVY (Pr)
Madame Nathalie ALLIOLI (MCU)
Madame Samira AZZOUZ-MAACHE (MCU - HDR)
Monsieur Philippe LAWTON (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES B

- **BIOCHIMIE – BIOLOGIE MOLECULAIRE - BIOTECHNOLOGIE**

Madame Pascale COHEN (Pr)
Monsieur Alain PUISIEUX (PU - PH)
Monsieur Karim CHIKH (MCU - PH)
Madame Carole FERRARO-PEYRET (MCU - PH)
Madame Caroline MOYRET-LALLE (MCU – HDR)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Madame Stéphanie SENTIS (MCU)
Monsieur Olivier MEURETTE (MCU)
Monsieur Benoit DUMONT (AHU)

- **BIOLOGIE CELLULAIRE**

Monsieur Michel PELANDAKIS (MCU - HDR)

- **INSTITUT DE PHARMACIE INDUSTRIELLE DE LYON**
Monsieur Philippe LAWTON (MCU - HDR)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Monsieur Patrice SEBERT (MCU – HDR)
Madame Valérie VOIRON (MCU - PAST)

- **Assistants hospitalo-universitaires sur plusieurs départements pédagogiques**
Madame Emilie BLOND
Madame Christelle MOUCHOUX
Madame Florence RANCHON

- **Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)**
Monsieur Eyad AL MOUAZEN 85^{ème} section
Monsieur Boyan GRIGOROV 87^{ème} section
Madame Faiza LAREDJ 85^{ème} section
Monsieur Waël ZEINYEH 86^{ème} section

Pr : Professeur

PU-PH : Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

MCU : Maître de Conférences des Universités

MCU-PH : Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier

HDR : Habilitation à Diriger des Recherches

AHU : Assistant Hospitalier Universitaire

PAST : Personnel Associé Temps Partiel

▪ **Remerciements**

Aux membres du Jury,

A Monsieur Daniel BENZONI,

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de présider ce jury et de juger mon travail.

Je vous remercie de l'accueil dont vous m'avez fait part lorsque je vous ai brièvement présenté mon travail. J'ai acquis mes premières connaissances en endocrinologie par vos enseignements à la faculté et mon travail de thèse vient les conclure.

Veuillez trouver ici le témoignage de toute ma reconnaissance.

A Madame Aude BRAC de la PERRIERE,

Je vous remercie d'avoir accepté avec enthousiasme d'encadrer ce travail. Vous avez répondu présente même un an après mon année hospitalo-universitaire, suite à ma réorientation en officine.

J'ai acquis de nombreuses connaissances en endocrinologie, à vos côtés, au court des consultations. Elles me servent et me serviront dans mon futur métier.

Merci pour votre pédagogie, votre temps, votre confiance et vos qualités humaines.

J'espère être digne à vos égards par ce travail.

A Madame Ludivine AUJAS,

Merci d'avoir été gaga à l'idée de juger ce travail. J'espère que ce sujet te passionnera autant qu'il l'a été pour moi. C'est un moment important dans une vie estudiantine, tu le sais, et je te remercie d'être à mes côtés en cette occasion.

▪ **Remerciements**

A mes parents,

Vous nous avez toujours donné le meilleur, appris la rigueur et le goût du succès. Votre soutien a été sans faille malgré cette décennie universitaire. Promis maman c'est bientôt fini ! J'espère être digne de vous par mon travail. Je vous aime. Thibaut votre fils cadet.

A mon frère,

La frayeur d'une vie nous rappelle combien il est important d'être soudé (terme bien adapté à toi Rodolphe). On a toujours été complice, même dans la chamaillerie (surtout d'ailleurs).

Tu as prouvé ta volonté d'avancer, même si parfois cela a été dur, pour toi comme pour nous...une infirmière s'en rappelle encore ! Au final, il faut toujours aller de l'avant.

A ma sœur,

Tu es et tu seras toujours Rangouna®, la sœur magique qui en un instant peut rire d'une blague qu'elle ne comprend pas. Garde cette fraîcheur, c'est du pain béni.....pour nous !

A Marine,

Ton abnégation, ton amour et ton stress auront permis l'aboutissement de ce travail. Merci pour tes soutiens (de tous ordres en ces temps ci) sans faille. Une page se tourne enfin, je suis en pré-retraite étudiante, la fin pointe le bout de son nez et l'illumination approche ☺

A la famille Dufour et associés,

Merci pour votre accueil toujours chaleureux et enthousiaste, votre gentillesse et tous ces bons moments.....merci également pour cette fragilité gastrique naissante ! Je vous embrasse. Merci particulier à Néric pour son aide précieuse.

A la pharmacie du Bachut, du Mollard et de Nivolas,

Merci pour votre accueil et vos enseignements. Ces années de travail et de formation ont été agréables à vos côtés.

A mes amis d'enfance, de la faculté, du foot et autres loisirs traumatiques, les années passent mais les souvenirs restent.....une décennie se clôture, un autre chapitre s'ouvre désormais ! C'est bon ça !!!

Une lanterne accrochée dans le dos n'éclairera jamais que le chemin parcouru « Confucius ».

▪ **Table des matières**

Remerciements	7
Table des matières	9
Liste des abréviations	12
Liste des figures	13
Liste des tableaux	15
Préface	16
Partie I : Description du syndrome Triple-A	17
1. Description et généralités sur le syndrome Triple-A.....	18
1.1 Introduction	18
1.2 Aspects génétiques et bio-cellulaires	19
1.3 Alacrymie	23
1.4 Achalasie	24
1.4.1 Diagnostic de l'achalasie	28
1.4.2 Traitement de l'achalasie.....	30
1.5 Insuffisance surrénalienne.....	34
1.5.1 Rappel sur la physiologie corticosurrénalienne.....	35
1.5.2 Diagnostics différentiels devant une ISA ou une ISL.....	35
1.5.3 Traitement de l'insuffisance surrénalienne	36
1.5.4 Suivi clinico-biologique	37
2. Historique du syndrome	38
2.1 Biographie de J. Allgrove	38
2.2 Publication : The Lancet 1978	39
3. Les atteintes neuropathiques	41
3.1 Introduction	41
3.2 Manifestations neurologiques à l'examen clinique.....	42
3.3 Les tests diagnostiques utilisés en neurologie	43
3.3.1 Le réflex ostéo-tendineux	43

3.3.2 L'électromyogramme.....	43
3.3.3 Le reflex de clignement.....	43
3.3.4 Le réflex cutané sympathique.....	44
3.4 Diagnostics différentiels de l'atteinte neuropathique	44
3.5 Conclusion.....	45
Partie II : Physiopathologie et hypothèses pathogénétiques	46
A. Le complexe du pore nucléaire	47
1. Généralités.....	47
2. Structure et composition des NPC	49
2.1 Architecture générale du NPC	49
2.2 Composition en nucléoporine du NPC.....	52
2.3 Les nucléoporines du canal central	54
3. Les mécanismes du flux antérograde et rétrograde via le NPC	60
3.1 Importation.....	60
3.2 Exportation	62
B. Défaut de localisation de la protéine ALADIN.....	66
1. Introduction.....	66
2. Matériel et méthode	66
2.1 La GFP : Green Fluorescent Protein.....	67
2.2 mAb414 : Anticorps monoclonal anti-NPC.....	68
3. Résultats	69
C. Conséquences cellulaires du défaut de localisation de la protéine ALADIN	71
1. Hypothèses	71
2. Les ROS : Espèces réactives de l'oxygène.....	72
2.1 L'anion superoxyde : O_2°	73
2.2 Le peroxyde d'hydrogène : H_2O_2	75
2.3 Le radical hydroxyle : $^\circ OH$	76

3. Matériel et méthode	77
4. Résultats	80
5. Discussions.....	85
6. Conclusion	87
Partie III : Méta-analyse et étude de cas cliniques.....	89
1. Introduction.....	90
2. Méta-analyse	91
2.1 Prévalence des pathologies	91
2.2 Statistiques	93
2.3 Résultats	94
2.4 Corrélation génotype - phénotype	97
3. Etudes de cas clinique	99
3.1 Description générale des patients.....	99
3.2 Profil neuropathique des 5 patients.....	101
4. Le suivi pluridisciplinaire	103
5. Discussion	104
Conclusion.....	105
Annexes.....	106
Bibliographie.....	117

▪ Liste des abréviations

AAA	: Alacramia Achalasia Adrenal Insuficiency
ACTH	: AdrenoCorticoTrophin Hormone
ADN	: Acide Désoxyribo-Nucléique
AMM	: Autorisation de Mise sur le Marché
ARNm	: Acide Ribonucléique messagé
ATP	: Adénosine Tri-Phosphate
CAT	: Catalase
CD	: Cluster of Determination
CLU	: Cortisol Libre Urinaire
CMV	: Cytomégalovirus
DHEA	: Déhydroépiandrostérone
EMG	: Electromyogramme
FG	: Phénylalanine Glycine
GFP	: Green Fluorescent Protein
GSR	: Glutathion Reductase
HC	: Hydrocortisone
HFME	: Hôpital Femme Mère Enfant de Lyon
HLA	: Human Leucocyte Antigen
ISA	: Insuffisance surrénalienne Aigue
ISBN	: International Standard Book Number
ISL	: Insuffisance surrénalienne Lente
kDa	: kilo Daltons
mM	: millimolaire
NES	: Nuclear Export Signal
NLS	: Nuclear Localization Signal
NPC	: Nuclear Pore Complex
NUP	: Nucléoporine
POM	: Nuclear envelope pore membrane protein
PSI	: Pound per Square Inch
ROS	: Reactive Oxygen Species
ROT	: Reflex Ostéo-Tendineux
SIO	: Sphincter Inférieur de l'Oesophage
SIPS	: Stress Induced Premature senescence
SNARE	: Soluble N-éthylmaleimide-sensitive-factor Attachment protein REceptor
SOD	: Super Oxyde Dismutase
TNF α	: Tumor Necrosis Factor alpha
VIH	: Virus de l'Immunodéfiscience Humaine
VIP	: Vasoactive Intestinal Peptide
VIPR1	: Vasoactive Intestinal Peptide Receptor 1
9 α FC	: 9-alpha-fludrocortisone

▪ Liste des figures

Figure 1 : le chromosome 12.	p.19
Figure 2 : Organisation intronique/exonique du gène AAAS.	p.20
Figure 3 : Structure primaire de la protéine ALADIN v1 (domaines WD en bleu) et ALADIN v2.	p.21
Figure 4 : représentation tri-dimensionnelle d'un domaine protéique WD40.	p.22
Figure 5 : représentation schématique du test de Schirmer.	p.24
Figure 6 : Imagerie d'un transit baryté oeso-gastro-duodéal.	p.28
Figure 7 : Schéma de la dilatation pneumatique.	p.31
Figure 8 : Schéma de l'injection de toxine botulique.	p.32
Figure 9 : Schéma de la myotomie de Heller.	p.33
Figure 10 : Image de microscopie électronique d'un noyau d'une levure <i>S. cerevisiae</i> (eucaryote unicellulaire) ; en bleu les pores nucléaires.	p.48
Figure 11 : Schéma de la structure d'un complexe du pore nucléaire.	p.50
Figure 12 : Composition en nucléoporines des différents éléments d'un complexe du pore.	p.52
Figure 13 : Structure primaire des nucléoporines du canal central.	p.54
Figure 14 : Structure secondaire des nucléoporines du canal central. Nup54 présente un feuillet β central.	p.55
Figure 15 : Assemblage des nucléoporines Nup58 et Nup54.	p.56
Figure 16 : Assemblage de la triple hélice Nup54(x1) – Nup62(x2). En rouge, le feuillet Q central.	p.58
Figure 17 : Le canal central formé par Nup54, Nup58 et nup62.	p.59
Figure 18 : schéma de l'importation de la molécule rétinoblastone.	p.61
Figure 19 : Schéma de l'exportation de la molécule STAT-1.	p.63
Figure 20 : Structure tertiaire de la GFP.	p.67

Figure 21 : Mise en évidence du défaut de localisation par immunoflorescence via 3 mutations.	p.69
Figure 22 : Les différentes Espèces Réactives de l'Oxygène.	p.74
Figure 23 : Représentation 3D du paraquat.	p.78
Figure 24 : Le potentiel de membrane mitochondriale.	p.83
Figure 25 : Schéma illustrant les hypothèses du mécanisme pathogénétique dans la maladie d'Allgrove.	p.88

▪ Liste des Tableaux

Tableau I : Tableau conciliant les normes retenues pour le test de Schirmer.	p.23
Tableau II : Tableau consignant les spécialités remboursables utilisées dans l'alacrymie	p.24
Tableau III : Grille utilisé pour établir le score d'Eckardt.	p.26
Tableau IV : Arbre dichotomique de la classification de Chicago dans l'achalasia.	p.28
Tableau V : Génotype (rouge) et phénotypes (bleu) des 13 patients triple A.	p.77
Tableau VI : Tableau regroupant les différents résultats de l'étude sur les ROS.	p.80
Tableau VII : Tableau de statistiques pour les quatre enzymes détoxifiant les ROS.	p.81
Tableau VIII : Histogramme des prévalences de la triade « AAA » issues de l'étude de 89 patients.	p.92
Tableau IX : Diagramme représentant les différentes proportions de symptômes combinés au sein de la triade « AAA ».	p.95
Tableau X : Mise en évidence de la mauvaise corrélation génotype/phénotype.	p.97
Tableau XI : Mise en évidence des symptômes « AAA » ainsi que des traitements associés.	p.99
Tableau XII : Résumé des atteintes neuropathiques développées par les patients de HFME.	p.101

Préface

Le sujet traité dans cette thèse est le syndrome Triple-A. J'ai décidé de m'atteler à ce syndrome afin de faire émerger les dernières hypothèses pathogénétiques s'y référant. Le but étant d'une part d'explicitier le syndrome en en définissant les grandes caractéristiques et d'autre part, après un travail de recherche bibliographique, de mettre en relief les trois symptômes caractéristiques de la maladie d'Allgrove. Cette troisième partie du travail, via une méta-analyse, sera complétée par une synthèse de cas clinique suivis en consultation d'endocrinologie à l'hôpital Femme Mère Enfant de Lyon au sein du service du Pr PUGEAT.

Partie I :
Description du syndrome Triple-A

1. Description et généralités du syndrome Triple-A

1.1 Introduction

Le syndrome Triple-A est une maladie complexe, multisystémique et dont l'origine est génétique. Il est engendré par une ou plusieurs mutations autosomiques récessives qui conduisent à un tableau caractéristique composé par une alacrymie (absence de production de larme), une achalasia du cardia (absence de relaxation du sphincter inférieur de l'œsophage) et une insuffisance cortico-surrénalienne ne répondant pas à l'hormone adrénocorticotrope (ACTH). (1)

Cette triade symptomatologique caractérise les patients atteints de ce syndrome et permet d'explicitier le sigle « AAA » issu de l'anglais : ***Alacrimia, Achalasia*** et ***Adrenal insufficiency***.

A ce tableau typique « AAA », se greffent des perturbations neurologiques sévères, parfois très invalidantes, touchant le système nerveux central, autonome et périphérique. Ces atteintes ne sont pas contemporaines de la triade triple A, arrivant plus tardivement, mais sont invalidantes et responsables d'une diminution majeure de la qualité de vie des patients. C'est pourquoi, on qualifie parfois le syndrome de quadruple A (***Alacrimia, Achalasia, Adrenal insufficiency*** et ***Autonomic dysfunction***).

De fait, le syndrome Triple A apparaît comme étant un syndrome neuro-endocrinien engendrant une symptomatologie atypique, complexe et variée. Le **diagnostic précoce** paraît un élément indispensable à la prise en charge spécialisée qui doit être adaptée au profil symptomatologique de chaque patient.

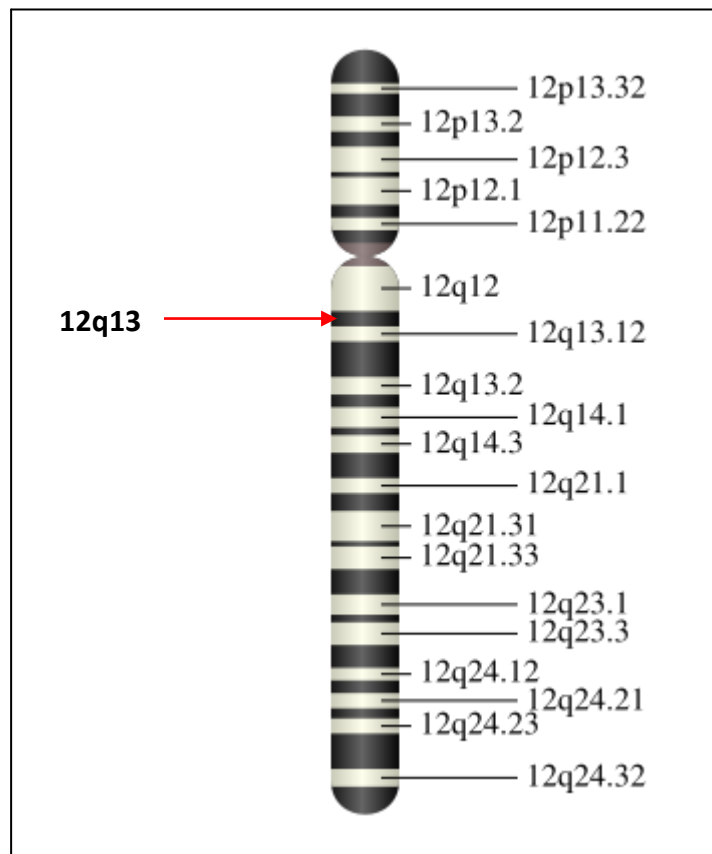
1.2 Aspects génétiques et bio-cellulaires

Le syndrome Triple A est la conséquence d'une mutation génétique (substitution, délétion, inversion....) du le gène *AAAS* (Achalasia – Addisonianism- Alacrima Syndrome). Ce gène *AAAS* code pour une protéine, une nucléoporine, c'est-à-dire une protéine appartenant à la macrostructure du complexe du pore nucléaire, sujet détaillé dans la partie II.

Cette nucléoporine a été nommée **ALADIN** (acronyme de : **A**lacrima – **A**chalasia - **A**drenal Insufficiency - **N**eurologic disorder). On peut également la trouver sous le nom *ADRACALIN*.

Le gène *AAAS* se situe sur la paire de chromosome n°12 (2), et présente 14 172 paires de bases (localisation génique 12 : 53 701 239 - 53 715 411). Ce gène comporte seize exons (*cf* figure 2). La localisation précise du gène *AAAS* est 12q13 à la coloration Giemsa (3). Le locus du gène est situé au début du bras long du chromosome douze (*cf* figure 1), chromosome classé parmi les chromosomes submétacentriques à l'analyse caryotypique.

Figure 1 : le chromosome 12.



A ce jour, plus de 46 différentes du gène AAAS ont été décrites (introniques ou exoniques). En Europe, le dépistage génétique n'est effectué que par trois laboratoires spécialisés de génétique : Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus, Dresde, Allemagne (Pr A. Huebner), l'hôpital Necker (Inserm U-871), Paris, France, et Unidad de Medicina Molecular, Santiago de Compostela, Espagne.

Figure 2 : Organisation intronique/exonique du gène AAAS.

Exon	Exon size (bp)	cDNA sequence	Splice acceptor	Splice donor	Intron size (bp)
1	205	1-205		GCCAGgtggc	650
2	128	206-333	tatagTGGAT	ATTTGgtgag	4782
3	56	334-389	atcagGCGTG	AGAGGgtgag	300
4	92	390-481	tacagTGTTT	TGTCTgtaag	194
5	47	482-528	tacagCTCAG	AATTGgtgag	244
6	99	529-627	cttagGTCCA	AGCAGgtgtg	309
7	144	628-771	cctagCACCA	ACCCGgtgag	>4575
8	121	772-892	tccagACCCT	TCCGGgtgag	319
9	125	893-1017	cctagGTATG	TTTCGgtgag	136
10	61	1018-1078	ctcagAGTCT	GTCAGgtgag	144
11	91	1079-1169	cccagACTGG	TTGTGgtgag	195
12	94	1170-1263	cacagGTGAG	GAGAGgtgag	85
13	68	1264-1331	cacagGCTTG	GAAAGgtgag	148
14	82	1332-1413	tacagGAAAG	CCCTGgtgag	122
15	85	1414-1498	tctagTGGCA	GTGTGgtgag	131
16	253	1499-1751	tgcagGGCTG		

La protéine qui en découle est constituée de 546 acides aminés pour un poids d'environ 60 kilo-daltons (kDa) chez *Homo sapiens*. Cette protéine *ALADIN*, au niveau de sa structure primaire, comprend notamment quatre domaines de répétition WD c'est-à-dire des séquences riches en résidus tryptophane (W) et aspartate (D)(Cf figure 3).

Deux isoformes de cette protéine sont actuellement décrites. L'isoforme v1 (Q9NRG9-1) de 546 acides aminés pour une masse moléculaire de 59,574 kDa et l'isoforme v2 (Q9NRG9-2) de 513 acides aminés pour une masse moléculaire de 55 814 daltons.

Figure 3 : Structure primaire de la protéine ALADIN v1 (domaines WD en bleu) et ALADIN v2.

V1

10	20	30	40	50	60
MCSLGLFPPP	PPRGQVILYE	HNNELVTGSS	YESPPPDFRG	QWINLPVLQL	TKDPLKTPGR
70	80	90	100	110	120
LDHGTRTAFI	HHREQVWKRC	INIWRDVGLF	GVLNEIANSE	EEVFEWVKTA	SGWALALCRW
130	140	150	160	170	180
ASSLHGSLFP	HLSLRSEDLI	AEFAQVTNWS	SCCLRVFVAWH	PHINKFAVAL	<u>LDDSVRVYNA</u>
190	200	210	220	230	240
<u>SSTIVPSLKH</u>	<u>RLQRNVASLA</u>	<u>WKPLSASVLA</u>	<u>VACQSCILIW</u>	<u>TLDPTSLSTR</u>	PSSGCAQVLS
250	260	270	280	290	300
<u>HPGHTPVTSL</u>	<u>AWAPSGGRLI</u>	<u>SASPVDAAIR</u>	<u>VWDVSTETCV</u>	<u>PLPWFRGGGV</u>	<u>TNLLWSPDGS</u>
310	320	330	340	350	360
<u>KILATTPSAV</u>	<u>FRVWEAQMTI</u>	<u>CERWPTLSGR</u>	<u>CQTGCWSPDG</u>	<u>SRLLFVTLGE</u>	<u>PLIYLSLFP</u>
370	380	390	400	410	420
RCGEGKGCVG	GAKSATIVAD	LSETTIQIPD	GEERLGGEAH	SMVWDPSGER	LAVIMKKGKPR
430	440	450	460	470	480
VQDGKPVILL	FRTRNSPVFE	LLPCGIIQGE	PGAQPQLITF	HPSFNKGALL	SVGWSTGRIA
490	500	510	520	530	540
HIPLYFVNAQ	FPRFSPVLGR	AQEPPAGGGG	SIHDLPLFTE	TSPTSAPWDF	LPGPPFVLP
SPHSHL					

V2

10	20	30	40	50	60
MCSLGLFPPP	PPRGQVILYE	HNNELVTGSS	YESPPPDFRG	QWINLPVLQL	TKDPLKTPGR
70	80	90	100	110	120
LDHGTRTAFI	HHREQVWKRC	INIWRDVGLF	GVLNEIANSE	EEVFEWVKTA	SGWALALCRW
130	140	150	160	170	180
ASSLHGSLFP	HLSLRSEDLI	AEFAQVTNCT	IVPSLKHRLQ	RNVASLAWKP	LSASVLAVAC
190	200	210	220	230	240
QSCILIWILD	PTSLSTRPSS	GCAQVLSHPG	HTPVTISLAWA	PSSGRLLSAS	PVDAAIRVWD
250	260	270	280	290	300
VSTETCVPLP	WFRGGGVINL	LWSPDGSKIL	ATTPSAVFRV	WEAQMTICER	WPTLSGRCQT
310	320	330	340	350	360
GCWSPDGSRL	LFTVLGEPLI	YLSLFFPERCG	EGKGCVGGAK	SATIVADLSE	TTIQTDPGEE
370	380	390	400	410	420
RLGGEAHSMV	WDPSGERLAV	LMKKGKPRVQD	GKPVILLFRT	RNSPVFELLP	CGIIQGEPGA
430	440	450	460	470	480
QPQLITFHPS	FNKGALLSVG	WSTGRIAHIP	LYFVNAQFPR	FSPVLGRAQE	PPAGGGGSIH
490	500	510			
DLPLFTETSP	TSAPWDPLPG	PPFVLPSPH	SHL		

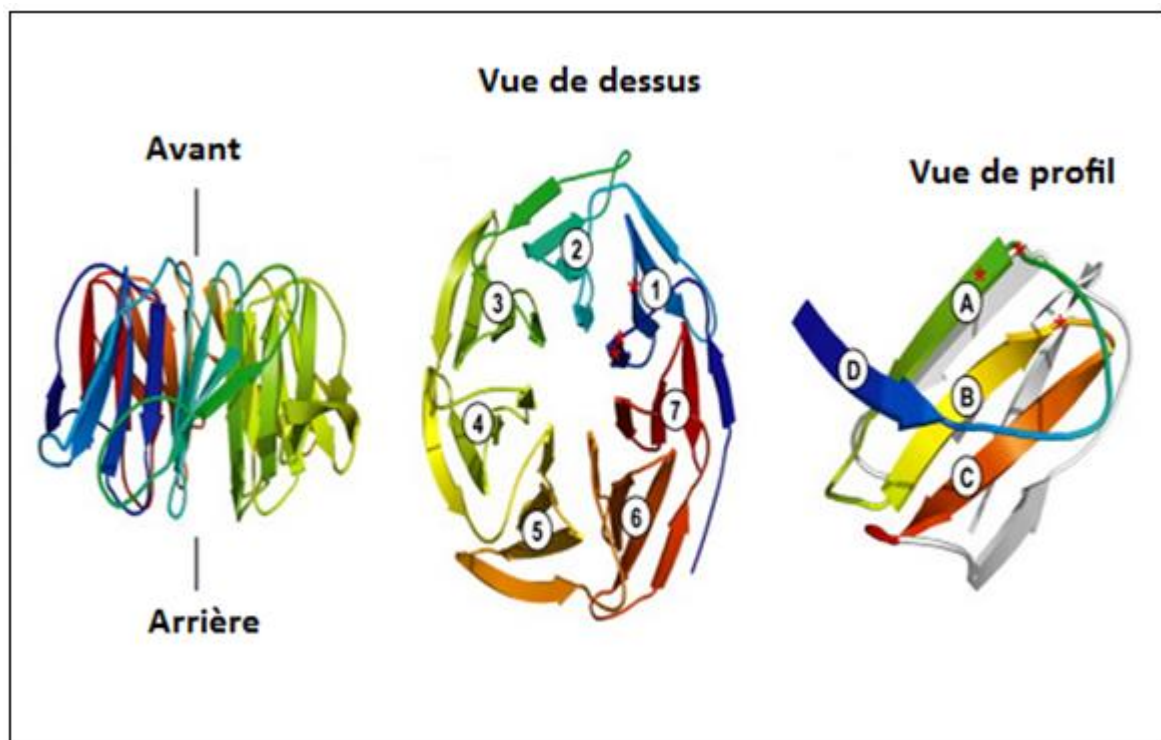
On remarque que les deux structures primaires sont identiques jusqu'au premier domaine de répétition WD qui débute par l'acide aminé tryptophane en position 149.

- domaine WD 1 : 149-188
- domaine WD 2 : 191-230
- domaine WD 3 : 243-282
- domaine WD 4 : 285-324

Les domaines de répétition WD sont des motifs structuraux d'environ quarante acides aminés (appelé également domaine WD40) souvent terminé par le dipeptide tryptophane – aspartate. Chaque domaine WD40 est formé par sept pales qui décrivent ensemble une hélice β . Chaque pale est formée par quatre brins anti-parallèle définissant une structure secondaire en feuillet β . La répétition de ces motifs WD40 confère à la protéine une forme solénoïdale permettant de rigidifier la structure tertiaire de la protéine (4). (cf figure 4)

Les protéines à domaine WD40 forment une vaste famille de protéines chez les eucaryotes. Environ 277 protéines sont identifiées à ce jour, formant quantitativement le huitième groupe de famille de protéine. (5)

Figure 4 : représentation tri-dimensionnelle d'un domaine protéique WD40.



1.3 Alacrymie

L'alacrymie est l'un des trois symptômes cardinaux constituant le tableau de base du syndrome Triple A. Ce symptôme apparaît comme étant le plus précoce, et il est généralement constaté par les parents des patients atteints dans leur première année de vie. C'est également le symptôme qui présente la plus grande prévalence au sein de la triade triple A avec environ 90% de sujets atteints (cf partie III).

Au niveau du diagnostique différentiel, une alacrymie vraie représente un symptôme rare. D'ailleurs maintenant, la maladie d'Allgrove étant bien documentée dans la littérature scientifique, en présence d'une alacrymie, le diagnostique de maladie d'Allgrove est rapidement évoqué si le tableau se complète d'une insuffisance cortico-surrénalienne et/ou d'une dysphagie.

L'alacrymie se retrouve également dans un syndrome rare appelé syndrome de Levy-Hollister. Ce syndrome présente un tableau très varié lacrimo-auriculo-dento-digital et est la conséquence d'une dysplasie congénitale (6).

Deux autres étiologies sont également possibles devant une alacrymie : involution sénile, due au vieillissement des glandes lacrymales et la maladie de Gougerot-Sjögren qui est une maladie auto-immune systémique caractérisée par une atteinte des glandes exocrines, en particulier des glandes lacrymales et salivaires.

Pour confirmer une alacrymie, on procède au test de Schirmer. Ce test est utilisé en ophtalmologie et en contactologie pour déceler une hypo-lacrymie voire une alacrymie vraie. Ce test diagnostique fût élaboré par Otto Schirmer, ophtalmologiste d'origine allemande vers la fin du dix-neuvième siècle (7).

Pour ce faire, on place un papier buvard calibré de 35 millimètres de long sur 5 millimètres de large dans le cul-de-sac lacrymal inférieur, au niveau du premier tiers interne de l'œil.(cf figure 5) On y associe également une anesthésie locale afin de bien mesurer le débit lacrymal basal et non un débit réflexe causé par l'introduction du papier buvard. On mesure la partie mouillée du papier buvard au bout de cinq minutes. Le test est positif si la longueur de la partie mouillée est inférieure à cinq millimètres en cinq minutes. (cf tableau I)

Chez un sujet normal, ayant une quantité suffisante de larmes, les cinq millimètres de buvard sont imbibés en une minute environ, et au moins quinze millimètres seront imprégnés au bout du temps imparti. Pour une lecture facilitée, les nouveaux papiers buvard sont associés à un réactif qui engendre la coloration du papier buvard au contact des larmes.

Tableau I : Tableau conciliant les normes retenues pour le test de Schirmer.

> 15 mm	Normal
14 – 9 mm	Hypolacrymie moyenne
8 – 4 mm	Hypolacrymie modérée
< 4 mm	Hypolacrymie sévère

Figure 5 : représentation schématique du test de Schirmer.



Pour les patients Triple A, cette alacrymie engendre une gêne oculaire : irritations de la cornée (partie exposée de l'œil) voire kératite et une augmentation du risque d'infections oculaires. De plus, il présente généralement une myopie importante. La fatigue oculaire et la photophobie sont par contre à mettre au crédit de l'atteinte neuropathique.

A ce jour, il n’y a pas d’hypothèse précise expliquant cette alacrymie. Des chercheurs japonais ont mis en évidence une hypoplasie des glandes lacrymales chez un sujet masculin de douze ans Triple A positif grâce à un IRM cérébrale (8).

Au niveau des traitements médicamenteux, pour corriger l’absence de production de larmes, les patients utilisent des collyres de substitution lacrymale, permettant une hydratation et une lubrification de l’œil. Ce sont des traitements purement symptomatiques, qui sont auto-instillé plusieurs fois par jour, à la demande, par le patient. On retrouve soit des larmes artificielles en flacon ou en conditionnement unidose (faible viscosité), soit des correcteurs de sécheresse oculaire non physiologique de viscosité élevée, permettant un meilleur effet rémanent. On retrouve notamment : (cf Tableau II)

- l’acide hyaluronique (glucurono-glycosylamino-glycane).
- le carbomère (polymère synthétique de haut poids moléculaire d'acide acrylique réticulé).
- l’hypromellose (hydroxypropylmethylcellulose).
- la carmellose sodique (carboxyméthylcellulose sodique).
- la povidone (N-vinylpyrrolidone polymérisée).

Tableau II : Tableau consignant les spécialités remboursables utilisées dans l’alacrymie.

Viscosité	Principe actif	Spécialité(s) remboursable(s)
Très haute viscosité	Acide hyaluronique	Vismed®
Haute viscosité	Carbomère	Gel-larmes® / Lacryvisc® / Lacryfluid® / Siccafluid® / Liposic® / Lacrigel® / Civigel® / Lacrinorm®
	Hypromellose	Artelac®
	Carmellose sodique	Celluvisc®
	Povidone	Fluidabak® / Dulcilarmes® / Nutrivisc® / Refresh® / Unifluid®
	Chondoïtine sulfate	Lacrypos®
Faible viscosité	Chlorure de sodium	Larmabak® / Larmes Artificielles®

1.4 L'Achalasie

L'achalasia du cardia est caractérisée par une relaxation incomplète du sphincter inférieur de l'œsophage (SIO) associé à un défaut de péristaltisme du corps œsophagien. On nomme également cette anomalie : mégaoesophage. Cette achalasia provoque une **dysphagie basse**, une régurgitation et parfois de la toux. La prévalence est de huit cas pour un million de personne avec une incidence évaluée approximativement à un cas pour cent milles personnes par an (9). Dans la maladie d'Allgrove, on retrouve cette dysphagie basse chez environ 70% pourcent des patients (*cf* partie III). Elle entraîne une rétention œsophagienne de salive et d'aliments.

Au niveau anatomo-histologique, les sphincters inférieur et supérieur de l'œsophage sont sensiblement différents. Le sphincter supérieur est constitué de muscles striés et est innervé directement par le système nerveux somatique via la composante vagale issue du noyau ambigu. A contrario, le sphincter inférieur est un muscle lisse et son innervation est le fruit de plusieurs voies nerveuses. Le nerf vague pré-ganglionnaire issu du noyau dorsal moteur innerve deux types de nerfs post-ganglionnaires au sein du plexus mésentérique. Premièrement, le neurone excitateur sécrèteur d'acétylcholine et deuxièmement, la voie inhibitrice avec le peptide intestinal vaso-actif (VIP) et les neurones sécrèteurs de monoxyde d'azote.

Un ensemble d'études portant sur l'achalasia des patients Triple A s'accordent sur le fait que la perte de l'inhibition médié par les neurones sécrèteurs de monoxyde d'azote, associée à une fibrose du feuillet intermusculaire constitue l'élément physiopathologique déterminant conduisant au défaut de relaxation du cardia (10) (11).

Au point de vue causal, plusieurs hypothèses ont été décrites.

les phénomènes génétiques avec au premier lieu les mutations du gène AAAS (syndrome Triple-A), les mutations du gène VIPR1 (récepteur de type 1 du peptide intestinal vasoactif VIP) et également certaines prédispositions génétiques : HLA-DR et HLA-DQ.

Des phénomènes auto-immuns : infiltrations lymphocytaires du plexus mésentérique CD3+/CD8+, inflammation médiée par l'interleukine 2 et le TNF α .

Une composante infectieuse est parfois en cause avec le virus de l'herpès simplex et celui du zona (virus varicelle-zona).

On retrouve parfois une achalasia dans la maladie de Parkinson, engendré par l'état neuro-dégénératif.

Cette dysphagie basse entraîne des vomissements, une perte d'appétit, une perte de poids, des régurgitations avec douleurs à la poitrine et à la longue, une dysphagie pour les liquides et les solides. Chez les enfants, cela va engendrer des pneumonies récurrentes, une toux nocturne et des problèmes d'alimentation importants.

D'ailleurs, devant ce tableau, le diagnostique différentiel de l'anorexie mentale est souvent évoqué, surtout chez les enfants et les pré-adolescents.

L'achalasia est également présente dans :

- le syndrome de Down
- le syndrome de l'hypoventilation centrale congénitale
- la maladie de Chagas
- le leiomyomes du cardia (tumeur bénigne formée de cellules musculaires lisses) (12).

Le score d'Eckardt est utilisé pour évaluer la gravité des symptômes en fonction d'un grade de 0 à 3 (13). (Cf tableau III)

- La dysphagie (sensation de gêne ressentie au moment d'avaler)
- La régurgitation des aliments.
- L'amaigrissement de cinq à dix kilogrammes
- Des douleurs thoraciques. Il peut s'agir de brûlures rétro-sternales ou pyrosis.
- Une toux nocturne du décubitus

Tableau III : Grille utilisé pour établir le score d'Eckardt (13).

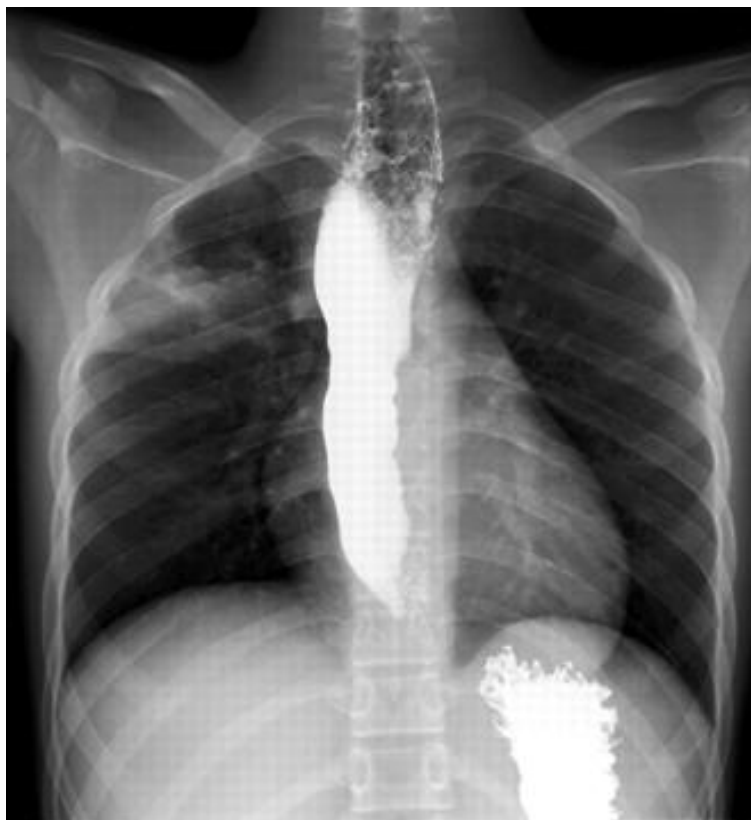
Table 1 Clinical scoring system for achalasia (Eckardt score)				
Score	Symptom			
	Weight loss (kg)	Dysphagia	Retrosternal pain	Regurgitation
0	None	None	None	None
1	<5	Occasional	Occasional	Occasional
2	5–10	Daily	Daily	Daily
3	>10	Each meal	Each meal	Each meal

1.4.1 Diagnostic de l'achalasie.

Le diagnostic de l'achalasie repose sur trois examens : le transit baryté oeso-gastro-duodéal, la manométrie de l'œsophage et l'examen de l'œsophage par une sonde pH-métrique avec établissement du score de De Meester.

- le transit baryté est un examen radiologique permettant d'étudier le tube digestif haut : œsophage, estomac, duodénum et intestin grêle proximal.(cf figure 6). Il consiste à faire ingérer par un patient de la baryte (sulfate de baryum de formule $BaSO_4$), un produit de contraste opaque aux rayons X. Ensuite, des clichés radiographiques sont pris à différents temps, permettant d'explorer l'ensemble du tractus digestif haut à mesure que celui-ci se remplit de baryte. Dans notre cas, ce sont les tous premiers clichés qui nous intéressent. Généralement dans le cadre d'un patient Triple A, l'examen de transit baryté révèle une stagnation du produit de contraste au dessus du sphincter inférieur de l'œsophage associé à une dilatation de l'œsophage (mégaoesophage).

Figure 6 : Imagerie d'un transit baryté oeso-gastro-duodéal.



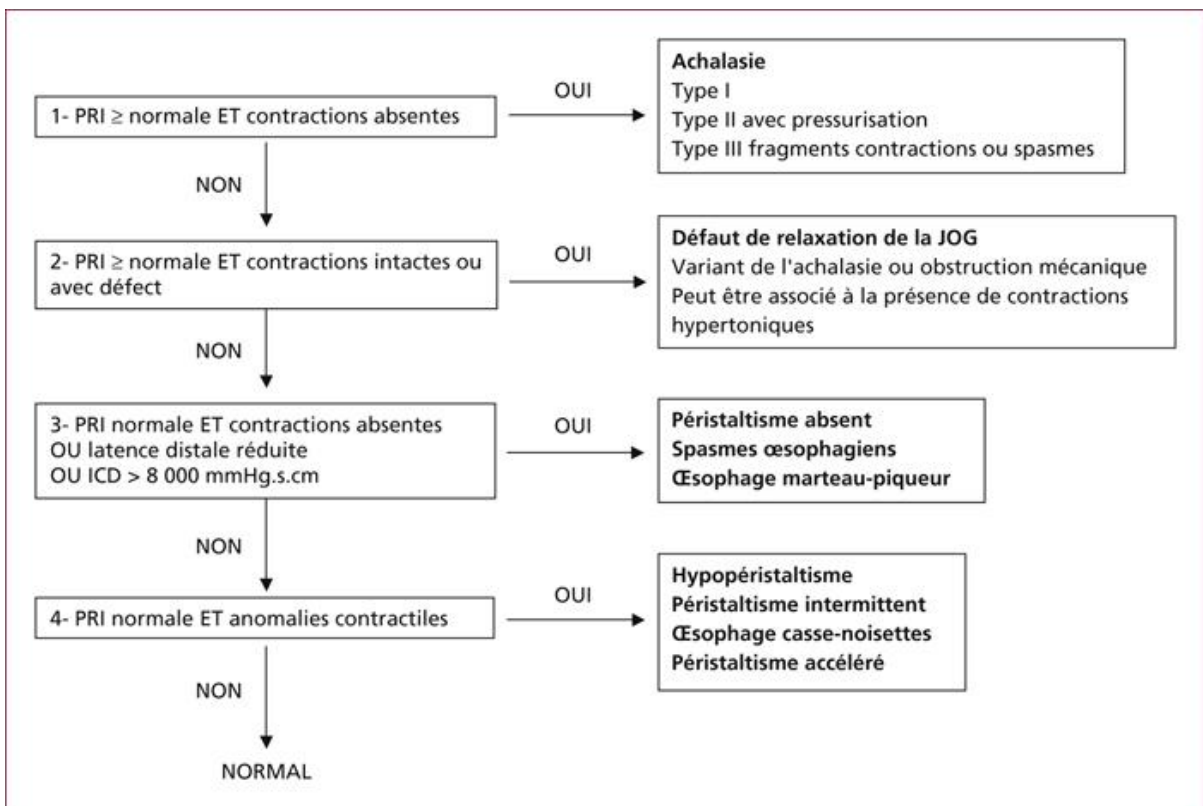
- La manométrie permet d'effectuer un relevé de pression *in situ*. Cette manométrie œsophagienne représente le principal outil diagnostique. Les signes cliniques essentiels au diagnostic sont :

- absence de péristaltisme du corps de l'œsophage.
- élévation de la pression du SIO
- absence de relaxation complète du SIO à la déglutition.

On utilise la classification de Chicago (*cf* tableau IV) pour différencier les différents types d'achalasia selon les résultats de la manométrie (14).

Les fréquences sont d'environ 8% pour le Type I, 72% pour le Type II et 20 % pour le Type III (15).

Tableau IV : Arbre dichotomique de la classification de Chicago dans l'achalasia.



- Le score de De Meester est établi après un monitoring de vingt quatre ou quarante-huit heures durant lesquelles les valeurs de pH œsophagien sont consignées. Pour cela on utilise une sonde trans-nasale munie d'un pH-mètre que l'on fixe cinq centimètres au dessus du sphincter inférieur de l'œsophage. Le relevé de mesure enregistre six paramètres :

- le nombre total de reflux
- le nombre de reflux supérieur à cinq minutes
- le reflux le plus long (en minutes)
- le pourcentage de temps passé à un pH supérieur à quatre
- le pourcentage de temps passé à un pH inférieur à quatre
- le temps le plus à un pH inférieur à quatre (en minutes)

Le résultat est positif si le score obtenu est supérieur à 14,72.

Dans le traitement de l'achalasia, plusieurs options thérapeutiques existent. Leur but est de diminuer la pression du sphincter inférieur de l'œsophage pour livrer le passage au bol alimentaire.

1.4.2 *Traitement de l'achalasia*

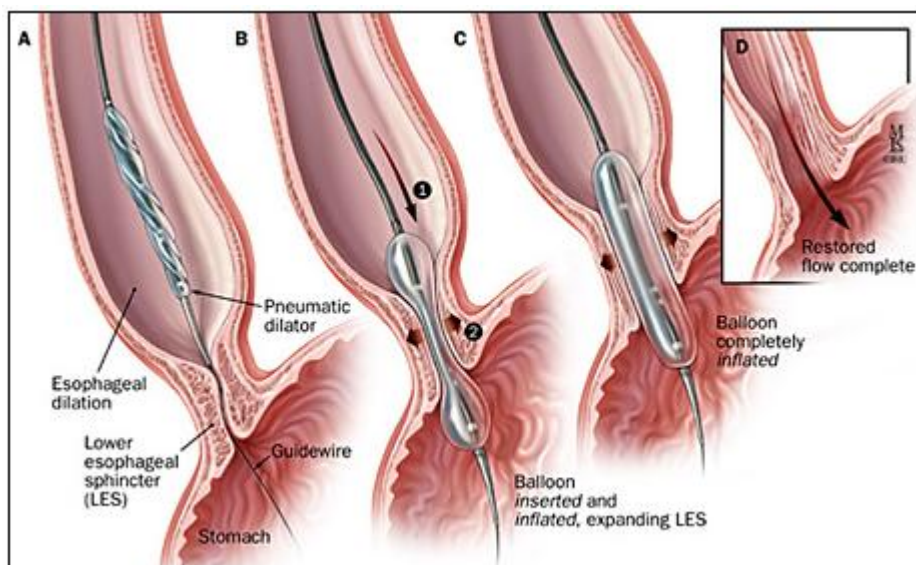
- Traitements par médicaments myorelaxants : dérivés nitrés et inhibiteurs calciques (dihydropyridines hors AMM), indiqués seulement dans l'achalasia récente ou s'il y a une contre-indication aux traitements invasifs.

Traitements endoscopiques :

- Dilatation pneumatique : elle représente le traitement le plus souvent proposé en France et est le plus efficace sur le court et moyen terme (93 % d'amélioration des symptômes). L'opération consiste en l'introduction d'un ballon au niveau de la jonction œsogastrique et de gonfler celui-ci sous une pression déterminée. Généralement le ballon possède un diamètre de 30 mm et est gonflé à une pression comprise entre 4,5 et 5,5 PSI. La procédure peut être éventuellement répétée en employant dans un second temps, un ballon de diamètre plus grand en cas de résurgence des symptômes dysphagiques (ballon de 40 mm de diamètre avec une pression comprise entre 5 et 6 PSI). (16)

La dilatation pneumatique est proposée lorsque le score d'Eckardt est supérieur à 3 (cf figure 7). Les complications possibles sont : perforations (3 %), fissuration de l'œsophage (2,5 %), reflux gastro-œsophagien (25–30 %). Dans la maladie d'Allgrove, les patients subissent souvent plusieurs dilatations pneumatiques.

Figure 7 : Schéma de la dilatation pneumatique.

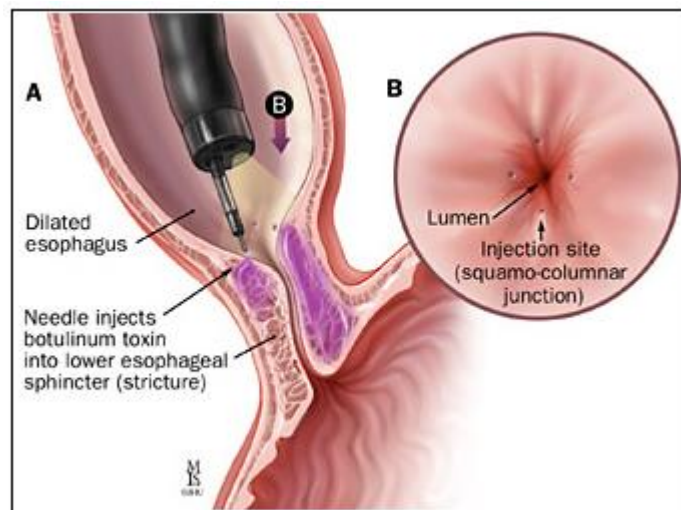


- Injection de toxine botulique : La toxine botulique agit au niveau de la fusion des vésicules d'acétylcholine avec la membrane de la cellule nerveuse en agissant sur le complexe SNARE. Le complexe SNARE permet la fusion entre la vésicule et la membrane pré-synaptique (17). Ainsi les récepteurs à acétylcholine des cellules musculaires restent vides et les muscles n'entrent pas en contraction. On injecte 20 à 25 unités de toxine botulique dans chaque cadran du sphincter inférieur de l'œsophage. On réalise donc une dénervation chimique permettant la relaxation du cardia (cf figure 8).

Elle est utilisée en cas de refus ou de contre-indication aux traitements invasifs, principalement chez des personnes âgées.

Cette technique présente un risque élevé de récurrence (50 % des cas).

Figure 8 : Schéma de l'injection de toxine botulique.

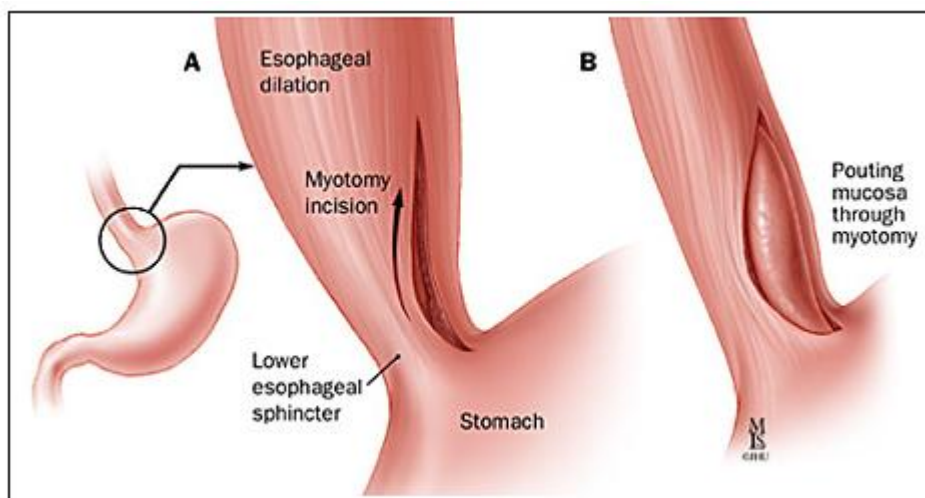


-Traitement chirurgical :

- La myotomie d'Heller qui consiste à réaliser une incision longitudinale extra-muqueuse de la couche musculaire du cardia sur une dizaine de centimètres (cf figure 9). La myotomie est efficace dans 92 % des cas. (18) Cette technique présente les meilleurs résultats sur le long terme.

Le traitement chirurgical est proposé au sujet jeune ou en cas d'échec à la dilatation pneumatique. Les complications possibles sont les perforations et une dysphagie persistante (5 à 10 pourcent des cas).

Figure 9 : Schéma de la myotomie de Heller.



L'achalasie semble représenter le symptôme le plus invalidant de la triade « AAA » dans la maladie d'Allogrove. Elle entraîne le plus souvent une perte de poids non négligeable associé à un état de fatigue chronique et d'inappétence tant qu'elle n'est pas corrigée. La prise en charge de ce symptôme doit se faire dans les meilleurs délais afin de limiter au maximum la perte de poids et la dégradation de la qualité de vie. On surveillera par ailleurs de près la dentition afin de ne pas surajouter un problème de prise alimentaire chez des personnes souvent très maigres.

1.5 L'insuffisance surrénalienne

Le dernier symptôme de la triade Triple-A est constitué par le déficit surrénalien et sa fréquence est estimée à 70 % dans la maladie d'Allgrove (*cf* partie III). D'une manière générale, ce déficit reste cantonné à un hypocortisolisme périphérique isolé. Les patients présentent souvent une insuffisance de réserve s'aggravant au cours du temps. La réponse au test dynamique n'est donc pas nulle (*e.g* test au synacthène®, activité rénine plasmatique couché – debout). Ce déficit s'installe progressivement et l'âge de survenu est très variable, allant de la première à la troisième décennie, favorisant encore l'errance diagnostique.

Néanmoins, ce déficit peut également toucher la fonction minéralocorticoïdienne et la fonction androgénique. Les patients présentant les signes d'insuffisance surrénalienne (*e.g* ACTH plasmatique > 80 ng/L à 8h, cortisol plasmatique effondré, hypotension, hyponatrémie : < 135 mM et hyperkaliémie : > 4,5 mM) reçoivent un bilan complet permettant de mettre en place un traitement substitutif d'emblée, à vie, évitant ainsi la survenue d'épisodes de décompensation.

Classiquement, dans leur première décennie de vie, les patients Triple-A présentent plusieurs épisodes hypoglycémiques. Parfois, la cortisolémie très basse engendre un état comateux, conséquence d'une hypoglycémie majeure (glycémie inférieure à 0,4 g/L). Le cortisol à pour fonction, parmi d'autres, d'induire la néoglucogenèse.

Avant que le syndrome Triple A ne soit documenté, les patients étaient considérés comme des addisonniens *i.e* présentant la maladie d'Addison (insuffisance surrénalienne lente primitive). D'ailleurs, il existe toujours une errance diagnostique, car le syndrome Triple-A ne s'impose pas si facilement pour le praticien, surtout si le tableau clinique général est pauvre.

La maladie d'Addison se compose d'une ACTH plasmatique élevée avec un cortisol plasmatique indétectable et un cortisol libre urinaire (CLU) effondré. On peut également doser la 17 α -hydroxyprogestérone, qui sera basse. Au point de vue clinique, le tableau est constitué par une asthénie physique et psychique, à prédominance vespérale et lors d'efforts, un amaigrissement, une anorexie, et une amyotrophie. On note également dans 80% des cas, une mélanodermie associée causée par les taux sanguin importants d'ACTH (19).

1.5.1 Rappel sur la physiologie corticosurrénalienn

Le cortex des glandes surrénales dérive du feuillet mésodermique embryonnaire. Ce cortex représente environ les 4/5 de la glande et est composé de trois zones histologiquement distinctes. La zone glomérulée, produit essentiellement de l'aldostérone sous l'influence de l'angiotensine II et de la rénine. La zone fasciculée produit la grande majorité du cortisol sous l'influence de l'ACTH hypophysaire. La zone réticulée produit la DHEA, précurseur des hormones sexuelles et une petite partie du cortisol endogène (19). L'ACTH et le cortisol présentent un rythme nyctéméral dont le maxima se situe à 8h du matin.

1.5.2 Diagnostic différentiel devant une insuffisance surrénalienn ***lenn lente ou aigue.***

- Tuberculose surrénalienn.
- Rétractation corticale (maladie auto-immune).
- Iatrogénie (e.g chirurgie, kétoconazole, mitotane).
- Maladie de système (e.g hémochromatose, amyloïdose, sarcoïdose, maladie de Wilson).
- Envahissement des glandes surrénales lors de cancer pulmonaire notamment.
- Infections (e.g syphilis, VIH, CMV, toxoplasmose, cryptococcose).
- Hémorragie bilatérales des surrénales
- Thrombose surrénalienn : syndrome des anti-phospholipides
- Adrénoleucodystrophie (maladie lié au chromosome X)
- Bloc enzymatique : déficit en 21-hydroxylase, 11 β -hydroxylase ou 3 β -hydroxystéroïde deshydrogénase.

1.5.3 Traitement de l'insuffisance surrénalienne.

Le traitement est basé sur l'apport exogène de glucocorticoïdes, de minéralocorticoïdes, voir de DHEA si besoin est. Le traitement sera instauré dès la carence établie et sera poursuivi **à vie** par le patient.

- Apport de **glucocorticoïdes** : le traitement substitutif est à base d'hydrocortisone en une prise matinale voire en deux prise, matin et midi (voire 16h) afin, de respecter le cycle nyctéméral physiologique du cortisol (pic plasmatique à 8h). La prise du matin étant plus forte que celle du midi. La posologie est adaptée selon le déficit, le sexe, le poids et l'état de stress du patient.
- Apport de **minéralocorticoïdes** : traitement par apport de Fludrocortisone (fluoro-9- α -hydrocortisone) à la posologie de 25 ou 50 μ g en une ou deux prises. Il est à noter que le Flucortac® est de nouveau disponible en officine de ville depuis novembre 2012, facilitant l'accès au traitement des patients présentant une insuffisance minéralocorticoïde (20).
- Apport de **DHEA** : généralement, apport entre 25 à 50 mg de DHEA synthétique préparé sous forme de gélule, à l'officine de ville à raison d'une prise par jour.

1.5.4 Suivi clinico-biologique.

Un bilan régulier est pratiqué pour contrôler le bon équilibre du patient. Pour cela, on dose l'ACTH, la DHEA, la 17-hydroxyprogestérone, le CLU voire le cortisol libre salivaire (praticité du prélèvement) ainsi qu'une glycémie à jeun et un ionogramme sanguin.

Les tests dynamiques sont effectués pour juger de la progression des déficits surrénaliens.

Le but du traitement substitutif consiste à avoir des valeurs d'ACTH dans les normes, preuve d'un **bon rétro-contrôle** du cortisol sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, une pression sanguine également dans la norme (13/8 mmHg) ainsi qu'une réserve androgénique satisfaisante.

Les patients Triple-A doivent être éduqués afin de connaître tous signes de **décompensation** de leur insuffisance surrénalienne (fièvre, troubles digestifs, asthénie intense) ou tous événements pouvant induire une décompensation :

- arrêt de traitement.
- acte chirurgical / traumatisme.
- régime désodé / perte de sel (vomissement, forte diarrhée, sueurs profuses).
- efforts physiques majeurs.
- médicaments (*e.g* laxatifs, diurétiques, opiacés, sédatifs).
- stress / infection.

Pour cela, les patients Triple-A ont en permanence sur eux de **l'hydrocortisone injectable** (sous forme d'hémi-succinate d'hydrocortisone dosée à 100 mg). De plus, ils doivent doubler les doses de corticoïdes en cas de fièvre, d'infection ou de stress.

On a donc vu l'ensemble des trois symptômes caractéristiques de la maladie d'Allgrove. Ces symptômes apparaissent très variés les uns des autres. Le traitement substitutif est simple pour l'alacrymie et l'insuffisance surrénalienne lorsqu'il est bien conduit. En revanche, la prise en charge de l'achalasia est complexe, invasive et requière de nombreux examens voire plusieurs actes chirurgicaux.

On va donc voir par la suite l'historique de ce syndrome avant d'évoquer les atteintes neuropathiques, qui représentent la grande problématique de cette maladie.

2. Historique du syndrome Triple-A :

The Lancet, juin 1978.

Allgrove J, Clayden G. S, Grant D. B, Macaulay J. C. Familial glucocorticoid deficiency with achalasia of the cardia and deficient tear production. The Lancet. June 17, 1978; 1284-86.

2.1 Biographie de Jeremy Allgrove

Jeremy Allgrove est un médecin britannique spécialisé en endocrinologie pédiatrique. Il a eu son diplôme de médecine en 1973 après des études au *Corpus Christi College* de Cambridge. Il est actuellement consultant au sein de deux hôpitaux, le *St Bartholomew's Hospital* et le *Newham General Hospital*. Il est également consultant au sein du *Royal College of Paediatrics and Child Health (RCPCH)* dans la section *Diabetes Dataset Advisory Group* et est affilié au *Royal London School of Medicine and Dentistry*.

Jeremy Allgrove est le co-auteur de deux ouvrages : *Evidence-Based Paediatric and Adolescent Diabetes (Evidence-Based Medicine)* publié en octobre 2007 (ISBN-13 : 978-1405152921) et *Calcium and Bone Disorders in Children and Adolescents (Endocrine Development)* publié en juin 2009 (ISBN-13 : 978-3805591614).

Au niveau des publications scientifiques, Jeremy Allgrove apparaît dans 46 publications dont 17 en tant que premier auteur. La période de publication s'étend de 1975 à 2013 (21).

2.2 La publication scientifique : The Lancet, 1978.

Pour établir cette publication, l'équipe de Jeremy Allgrove se base sur l'étude de quatre patients. La particularité vient du fait que ces **quatre patients** appartiennent à deux familles différentes, permettant la comparaison entre frères et sœurs, surtout pour l'âge d'apparition des différents symptômes. Avec seulement quatre patients, ils ont mis en lumière plusieurs caractéristiques atypiques appartenant à cette pathologie.

Tout d'abord, lors de la publication, seulement 35 cas étaient décrits dans la littérature, par Shepherd *et al.* Le syndrome était alors nommé « déficit glucocorticoïde isolé familial » (1).

L'étude de la première famille leur ont permis de démontrer que le déficit portait seulement sur les glucocorticoïdes par des études sur la fonction surrénalienne (dosage du cortisol plasmatique, de l'ACTH plasmatique, de l'aldostérone plasmatique, de l'activité de la rénine plasmatique et de la sécrétion urinaire de sodium). L'ensemble de ces paramètres permettent, avec le test au synacthène® et le régime hyposodé de 3 jours, de conclure au déficit de production de cortisol uniquement.

Autre élément, l'unité de temps dans l'apparition de l'achalasia ou du déficit surrénalien. Le premier patient présentait des épisodes hypoglycémiques dès 3 ans et 2 mois alors que les premiers signes de dysphagie ont commencé vers 8 ans et 6 mois. Pour son frère, l'alacrymie est découverte à 2 ans et 6 mois, l'achalasia à 6 ans et 6 mois. En outre il ne présentait pas de déficit de production du cortisol mais des épisodes de vertiges et de transpiration importante en l'absence de toute hypoglycémie. De plus, ces pupilles étaient souvent largement dilatées et parfois leurs diamètres n'étaient pas égaux.

Ils ont donc mis en lumière pour la première fois des signes d'anomalies neurologiques. Ces signes neurologiques étaient confortés par le fait que la biopsie réalisée lors de la myotomie de Heller subit par les deux frères indiquait une absence de fibre nerveuse au sein du cardia.

Au sujet de la deuxième famille, le tableau est plus dramatique puisque la sœur aînée de la famille est décédée à l'hôpital. Néanmoins, l'anatomo-histopathologie de la glande surrénale de la patiente décédée montrait une atrophie nette de la zone fasciculée et réticulée ainsi qu'une hypertrophie musculaire du cardia. Le corps de l'œsophage présentait des cellules ganglionnaires et nerveuses typiques tandis qu'au niveau distal, les ganglions étaient absents et ne persistaient que de petites fibres nerveuses.

Pour le quatrième patient, le petit frère de la patiente décédée, il a montré une aggravation de son déficit de production en cortisol en seulement 18 mois. L'achalasia quant à elle, ne fut opérée qu'à l'âge de 9 ans et 8 mois lorsque les symptômes dysphagiques et les vomissements devenaient incoercibles.

Au final, l'étude fondatrice du syndrome d'Allgrove a permis de mettre en lumière la grande disparité d'intensité présentée par les patients, pour l'achalasia, le déficit surrénalien et même l'alacrymie ainsi que la disparité temporelle d'apparition de chacun des symptômes. Allgrove *et al.* notent également que l'apparition d'une achalasia est un phénomène non commun durant l'enfance. De plus, le fait que 3 patients sur 4 présentaient une hyperpigmentation légère des mains et des organes génitaux montre bien la difficulté d'établir un diagnostic précis sans rester figé sur une maladie d'Addison. **L'errance diagnostic** est très souvent de mise dans la maladie d'Allgrove, de nos jours encore, notamment du fait que l'intensité des symptômes s'accroît **progressivement** jusqu'à être pathologique ou invalidante.

Cette étude réunit pour la première fois la triade symptomatologique « AAA » et conclut sur le fait que **la symptomatologie typique d'un patient triple A ne respecte pas d'unité de temps ni d'intensité**. Ils proposent également une **distribution récessive de la pathologie** en se basant sur les études familiales.

3. Les atteintes neuropathiques

3.1 Introduction

Les manifestations neurologiques associées au syndrome Triple-A ont été longtemps ignorées et rarement explorées. En effet, les descriptions dans la littérature sont peu fréquentes et lorsqu'un patient présente un tableau neurologique prédominant devant la triade symptomatique habituelle, cela rend le diagnostic complexe. Ceci permet d'expliquer que de nombreux patients soient diagnostiqués comme ayant la maladie d'Allgrove que très tardivement.

Le symptôme neurologique le plus fréquemment décrit est la **dysautonomie** (dystonie neurovégétative) *i.e.* un dérèglement global du système neurovégétatif (22). Les signes pyramidaux, les signes périphériques et les troubles issus du bulbe cérébral (rythme cardiaque, respiration et pression artérielle) sont aussi largement évoqués (23).

Le but de cette partie de mon travail est de mettre en lumière **l'hétérogénéité des atteintes neuropathiques**, en évoquant leurs conséquences pour les patients ainsi que les principaux tests permettant de les mettre en évidence.

3.2 Manifestations neurologiques à l'examen clinique.

Généralement, le symptôme que l'on repère facilement lorsqu'un patient se présente, c'est le problème de démarche, elle n'est pas académique. Il faut bien noter que l'ensemble des symptômes neuropathiques sont amenés à **progresser lentement**, tout au long de la vie du patient, influant majoritairement sur la **qualité de vie**, le tout sans réel approche thérapeutique envisageable.

Les différents symptômes observés sont :

- neuropathie périphérique chronique.
- **syndrome pyramidal** : perturbations de la motricité volontaire.
- **dépérissement distal** avec déformations orthopédiques (*pes cavus* : exagération pathologique de la voûte plantaire, rétractation du tendon calcanéen).
- **déficit sensoriel** : hypoesthésie distale (peu fréquent néanmoins).
- **dystonie neurovégétative** : hypotension orthostatique, dysfonctionnement vésical, diarrhée ou constipation, dysfonctionnements sexuels (impuissance, éjaculation rétrograde), dyshidrose palmo-plantaire.
- **déficiences faciales et bulbaires** : insuffisance vélo-pharyngée induisant une voix nasonnée (rhinolalie) typique des patients Triple-A ; amyotrophie ou parésie de la langue, fasciculation linguale, déficience du muscle orbiculaire de la bouche.
- **ataxie cérébelleuse** : défaut de coordination fine des mouvements volontaires.
- **amyotrophie des membres** : prédominance pour l'éminence hypothénar.
- **perturbations cognitives** : léger retard mental, perturbation de la mémoire.
- **symptômes neuro-ophtalmiques** : réactivité pupillaire anormale, dysfonctionnement du nerf optique (anisocorie, aréflexie pupillaire, atrophie du nerf optique).

Pour les patients Triple A, le tableau neurologique se compose de ces différents éléments symptomatologiques (24). Il n'y a pas de règle précise, les intensités peuvent varier mais la lente dégradation des symptômes semble être la seule notion commune à l'ensemble des patients présentant la maladie d'Allgrove (25).

3.3 Les tests diagnostiques utilisés en neurologie.

3.3.1 *Le reflex ostéo-tendineux (ROT) :*

Le ROT est un réflexe polysynaptique d'étirement composé de deux éléments : une voie monosynaptique excitatrice ou "réflexe myotatique" (entraînant la contraction du muscle qui a été étiré) et une voie polysynaptique entraînant le relâchement du muscle antagoniste du muscle étiré. Le test se pratique fréquemment sur le tendon achilléen, rotulien, bicipital, tricipital, cubito-pronateur ou stylo-radial et permet d'étudier selon le cas **une racine nerveuse**.

3.3.2 *L'électromyogramme (EMG) :*

EMG consiste à stimuler un tronc nerveux à l'aide d'un choc électrique bref. Ensuite, on recueille la réponse d'un muscle distal faisant partie du territoire moteur du nerf stimulé à l'aide d'une électrode collée sur celui-ci. Le nerf est stimulé en deux points de son trajet. La réponse du site de stimulation proximal est recueillie après celle du distale. Le temps de latence entre les deux réponses correspond au temps de conduction sur le tronc nerveux entre les deux points de stimulation. La longueur du nerf entre les deux points de stimulation est mesurée directement sur la peau. Le rapport de cette distance au temps de conduction représente la **vitesse de conduction nerveuse motrice**.

A l'EMG les patients Triple A montrent une dénervation distale active. Les amplitudes sensorielles ainsi que la vitesse de conduction semblent moins fréquemment altérées.

3.3.3 *Le réflexe de clignement (blink reflex) :*

Le blink réflexe utilise des électrodes de surfaces placées sur la partie inférieure des muscles orbiculaires des paupières. Par la suite, on stimule le nerf sus-orbitaire à l'aide d'une cathode et d'une anode. On enregistre la réponse primitive de clignement qui est homolatérale à la stimulation puis la réponse secondaire qui est bilatérale et plus prolongée.

Ce test permet d'étudier la **conduction proximale des nerfs de la face** (nerfs V et VII) (26).

3.3.4 *Le réflexe cutané sympathique (RCS) :*

L'activité sympathique cutanée peut être évaluée par l'étude de la réponse du RCS. Ce test explore le changement de voltage au niveau de la peau lié à l'activation des glandes sudoripares en réponse à divers stimuli. Le stimulus le plus courant est un stimulus électrique délivré le plus souvent de façon controlatérale au site de recueil (nerf médian au poignet, nerf tibial à la cheville), avec une intensité égale au seuil moteur. Le RCS explore alors un arc réflexe dont la voie afférente est constituée par les **fibres sensibles myélinisées** (26).

3.4 **Diagnostiques différentiels de l'atteinte neuropathique.**

La difficulté diagnostique de maladie d'Allgrove se pose généralement lorsque le patient consulte pour des troubles neuropathiques quand bien même les signes d'achalasia ou d'insuffisance surrénalienne restent discrets ou inexistants. Dans ce cas de figure, la grande variété d'expression clinique conjuguée aux résultats atypiques de l'électromyogramme entraîne une **errance diagnostique** importante.

Les autres syndromes ou maladie évoqués sont (27):

- La sclérose latérale amyotrophique juvénile
- L'ataxie spino-cérébelleuse
- L'amyotrophie spinale
- Les myopathies mitochondriales
- L'adrénoleucodystrophie
- La sclérose en plaque
- Le syndrome de Charcot-Marie-Tooth type 1 et 2

3.5 Conclusion :

Le tableau neuropathique apparait comme étant **très hétérogène** entre les patients. Les résultats démontrent que les axones longs sont les premiers touchés et que la maladie dégénérative progressera lentement sans discontinuer (28). En plus de l'achalasie souvent très invalidante, les neuropathies associées à la maladie d'Allgrove imputent très fortement la qualité de vie des patients surtout qu'à l'heure actuelle, aucun traitement ne peut leur être proposé. Seule l'hypotension orthostatique peut être corrigés par des médicaments type alpha-1-sympathomimétiques directes (midodrine : Gutron®).

Nous avons vu dans cette première partie les caractéristiques et symptômes fondamentaux de cette pathologie. Dans la partie II, nous allons voir plus en détail l'architecture des pores nucléaires afin de mieux situer la protéine ALADIN, d'expliquer son rôle et son environnement moléculaire et cellulaire. On abordera également les hypothèses pathogénétiques actuelles qui tendent à expliquer le tableau caractéristique du syndrome Triple-A.

Partie II :

Physiopathologie et hypothèses pathogénétiques

A. Le Complexe du Pore Nucléaire

1. Généralités

Les cellules eucaryotes se différencient des cellules procaryotes par la présence d'un noyau renfermant les chromosomes, constitués d'ADN, supports de l'information génétique.

Le noyau est une structure à part entière de la cellule et la première observation de cet organite remonte au dix-septième siècle. Son identification formelle n'a été rapportée qu'en 1833 par le botaniste écossais Robert Brown (1773 – 1853), qui était l'un des premiers scientifiques à utiliser de façon quasi-systématique le microscope pour les observations. (29)

La membrane nucléaire est une double couche phospholipidique qui renferme le contenu du noyau cellulaire. Cette ségrégation du matériel génétique par l'enveloppe nucléaire, réelle barrière physique, confère un degré supplémentaire de régulation de l'expression génique chez les eucaryotes.

Ainsi, la transcription intra-nucléaire et la traduction, cytoplasmique, requièrent un système de transport et de communication hautement élaboré. Pour permettre les échanges entre ces deux compartiments cellulaires, le système doit être efficient et finement régulé. (5)

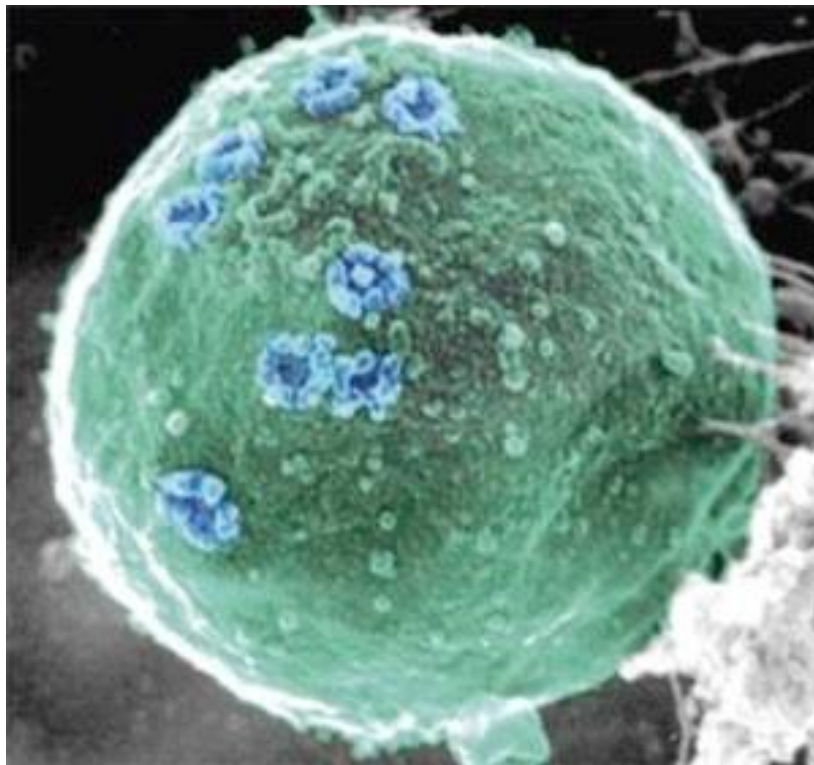
Le noyau des cellules eucaryotes présente une taille allant de 5 à 7 μm , c'est de fait l'organite le plus grand de la cellule. Au niveau de la membrane nucléaire, la face externe est en continuité avec le réticulum endoplasmique rugueux (REG), et peut être comme ce dernier, parsemée de ribosomes sur sa face cytoplasmique, permettant traduction des ARNm lors de leur export. La face interne, quant à elle, interagit avec la lamina nucléaire, soutient rigide de la membrane. Les deux membranes fusionnent à intervalle régulier, formant les **pores nucléaires** (30) (cf figure 10).

Une étude récente suggère que de larges complexes ribonucléoprotéiques (RNP) peuvent être exportés du noyau par bourgeonnement via la membrane nucléaire (31).

Néanmoins, la grande majorité des échanges nucléocytoplasmiques s'effectuent au travers de **complexes de pore nucléaire (NPC)**, qui sont de **grands complexes multiprotéiques** formant un canal qui pénètre la membrane nucléaire.

De fait, les NPC représentent la principale communication physique entre noyau et cytoplasme, c'est pourquoi il apparaît indispensable que leur fonction et leur biogénèse s'effectuent parfaitement pour assurer les échanges et l'homéostasie cellulaire.

Figure 10 : Image de microscopie électronique d'un noyau d'une levure *S. cerevisiae* (eucaryote unicellulaire) ; en bleu les pores nucléaires.



2. Structure et composition des complexes du pore nucléaire.

2.1 Architecture générale du NPC :

Chaque pore nucléaire est formé à partir d'une macrostructure protéique élaborée appelée complexe du pore nucléaire ou « nuclear pore complex » (NPC). Le NPC fut découvert dans les années cinquante grâce à l'avènement de la microscopie électronique (32). L'ensemble du complexe supporte une masse d'environ 125 000 kDa chez les vertébrés, soit l'équivalent de trente fois la masse d'un ribosome. Il représente le plus important complexe protéique de la cellule, avec une taille d'environ 145 x 80 nanomètres. (5)

Au niveau moléculaire, le NPC est constitué de différentes protéines appelées **nucléoporines** (NP ou Nup) et de protéines du pore nucléaires associées aux membranes (Pom : pore membrane protein). On dénombre une trentaine de nucléoporines différentes au sein du NPC (33). Ces nucléoporines sont identifiées et classées selon la valeur de leur poids moléculaire.

Par exemple, Nup 58, est une nucléoporine présentant une masse moléculaire de 58 kDa.

Au sein du NPC, la plus faible des nucléoporines possède une masse de 45 kDa, et la plus élevée, de 358 kDa (cf **Annexe 1**).

C'est l'assemblage des différentes nucléoporines et des protéines associées aux membranes qui forment un NPC. On évalue à environ deux milles à quatre milles complexes du pore nucléaire par noyau cellulaire chez les vertébrés. L'architecture et la composition du NPC apparaissent comme étant très conservées depuis les plus vieux ancêtres eucaryotes communs. (34)

Schématiquement, le complexe du pore nucléaire présente une **structure octogonale** cylindrique constituant un **pore central**. Un motif constitué de plusieurs Nup différentes, dont plusieurs copies de la même nucléoporine représentent l'unité structurale de base. Ce **motif structurel** est répété huit fois pour former le cylindre qui perce la membrane nucléaire. On note une symétrie d'ordre deux selon le plan de la membrane nucléaire et une symétrie d'ordre huit selon la direction nucléocytoplasmique.

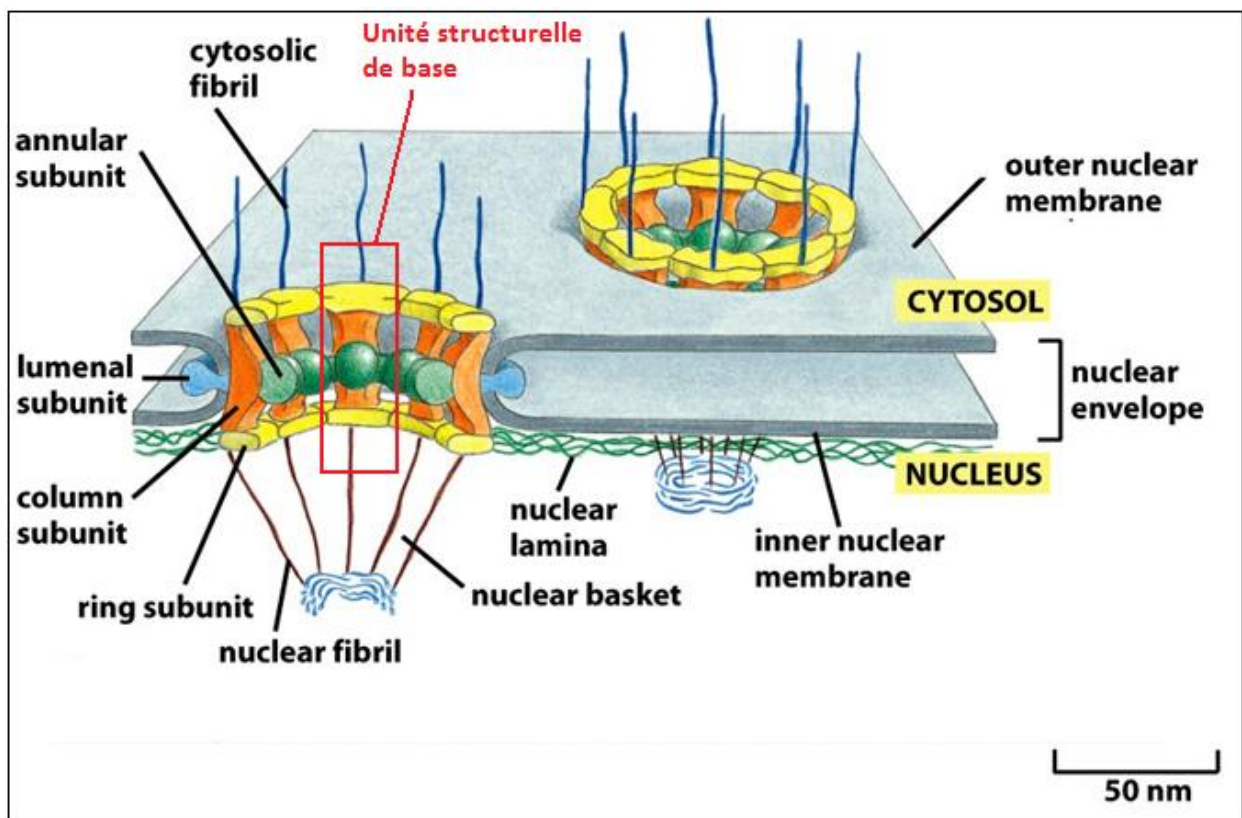
Cette **architecture octogonale** enveloppe un **canal central** et ainsi, la trentaine de nucléoporines y sont alors présentes par huit copies ou par un multiple de huit copies.

Le tout est rassemblé dans le tableau de l'**annexe 2**.

L'anneau de la face cytoplasmique comporte huit fibrilles cytoplasmiques de 50 nm de long s'étendant vers le cytoplasme tandis que le versant nucléaire comporte également des fibrilles nucléaires qui se rejoignent pour former une structure en forme de panier, de 100 nm de hauteur (cf figure 11).

L'ensemble est illustré par le schéma ci-dessous.

Figure 11 : Schéma de la structure d'un complexe du pore nucléaire.



Il y a donc huit unités structurales associées entre-elles, le tout inséré dans la membrane nucléaire pour former l'architecture de base du NPC. De part et d'autre de cette base protéique, un anneau à huit motifs protéiques également vient circonscrire le cylindre ainsi constitué. Le tout est ancré dans l'enveloppe nucléaire au niveau médian par huit complexes protéiques transmembranaires constitués de POM121, NUP210 et **NDC-1** (35). **L'anneau cytoplasmique** se voit greffer huit fibrilles libres qui baignent dans le cytoplasme. Pour l'anneau de la face nucléaire, les huit fibrilles sont plus courtes et sont liées par leur partie terminale par un anneau nucléaire formant ainsi un **panier nucléaire**. C'est au niveau distal du panier du NPC que le diamètre est minimal, soit environ 45 nm.

Cette structure physique du NPC en forme de sablier lui permet de fonctionner comme un **canal aqueux de communication** entre le noyau et le reste de la cellule. Ainsi les particules ioniques et les divers éléments (oses, acides aminés, petites protéines...) possédant une masse moléculaire inférieure à 40 – 60 kDa, et dont le diamètre n'excède pas 4 à 5 nm pourront circuler librement. Le reste des échanges est de type actif, ce point sera développé ultérieurement dans mon propos.

L'architecture et la composition du NPC sont extrêmement conservées au cours de l'évolution (33). Cela permet aux chercheurs de pouvoir étudier plus facilement la structure et le fonctionnement global du pore nucléaire en utilisant plusieurs espèces modèles. Généralement, ces espèces modèles généralement sont les levures (eucaryote unicellulaire à croissance rapide telle *Saccharomyces cerevisiae*), la drosophile, un invertébré (*Drosophila melanogaster*), un amphibien vertébré (*Xenopus laevis*) et parfois un végétal, une brassicacée l'arabette des dames (*Arabidopsis thaliana*). Néanmoins, pour une étude plus précise et pour éviter tous biais d'espèces, les nouvelles études fonctionnelles se font sur des fibroblastes obtenus par biopsie cutanée, chez l'Homme notamment (36). De plus, les glycosylations post-traductionnelles spécifiques des vertébrés ont apporté un degré supplémentaire de complexité au sein du NPC même si l'ossature de base reste conservée. A noter que les nucléoporines spécifiques du canal central se trouvent être plus abondantes également chez les vertébrés (37).

2.2 Composition en nucléoporines du NPC :

La trentaine de nucléoporines du NPC ainsi que les POMs se répartissent dans les différentes sous-structures du complexe macromoléculaire. Comme cela a été vu précédemment, l'ancrage de l'anneau central est assuré par trois molécules : POM121, NUP210 et **NDC-1** (cf figure 12), et le canal central est constitué par NUP45, NUP54, NUP58 et NUP62.

L'ensemble des différents constituants du NPC sont représentés ci-dessous.

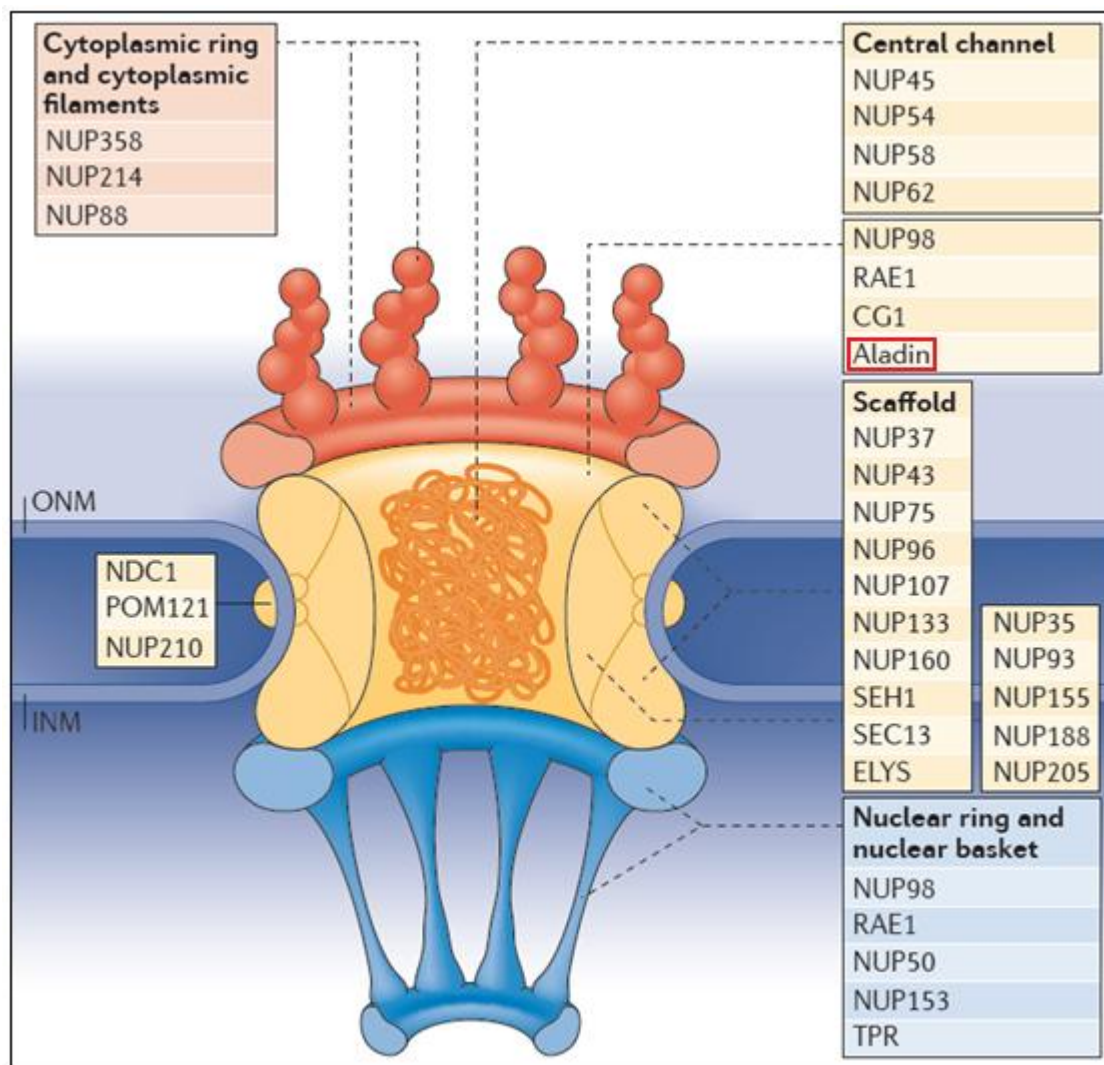


Figure 12 : Composition en nucléoporines des différents éléments d'un complexe du pore.

On remarque que la protéine ALADIN est située dans le cœur du complexe du pore nucléaire, et plus précisément du côté cytoplasmique comme l'indique le schéma de ***l'annexe 3.***

Les nucléoporines sont également divisées en plusieurs groupes selon leur structure primaire (composition en acides aminés), et l'abondance relative de certaines répétitions. Il y a principalement trois groupes : la famille des **WD-repeats** (dont fait parti la protéine *ALADIN*) avec une répétition du motif Tryptophane/Aspartate, la famille des motifs Gly (succession de glycine) et les **FG-Nups** *i.e* nucléoporines riches en répétitions phénylalanine-tryptophane. Ces FG-Nups présentent un rôle majeur au sein du canal central du pore nucléaire. Nous allons aborder cet aspect du NPC par la suite.

L'ensemble des différents motifs et les nucléoporines en comportant sont consignés dans ***l'annexe 4.***

2.3 Les Nucléoporines du canal central :

Les nucléoporines du canal central jouent un rôle majeur dans lors du passage actif au travers du pore nucléaire en interagissant directement avec les molécules en transit afin d'assurer les flux antérogrades et rétrogrades.

Au sein du canal central, on distingue trois nucléoporines majeures : Nup54, Nup58 et Nup62. Ces trois nucléoporines présentent toutes des domaines de **répétitions FG** (cf figure 14). La phénylalanine (F) et la glycine (G) sont tous les deux des amino-acides à caractère hydrophobe. Au niveau des structures primaires de ces nucléoporines, on remarque que ces répétitions de domaines hydrophobes se retrouvent aux extrémités N-terminales des molécules Nup54 et Nup62. Nup58 quant à elle, possède des domaines de répétitions FG aux deux extrémités N et C-terminales (cf figure 13).

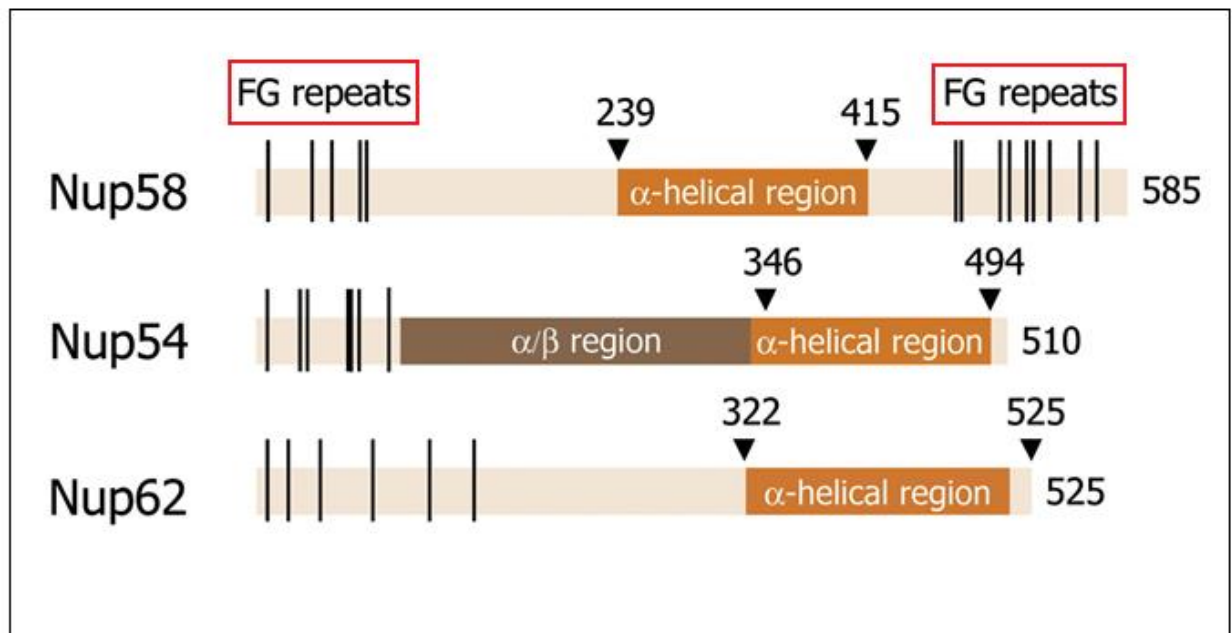
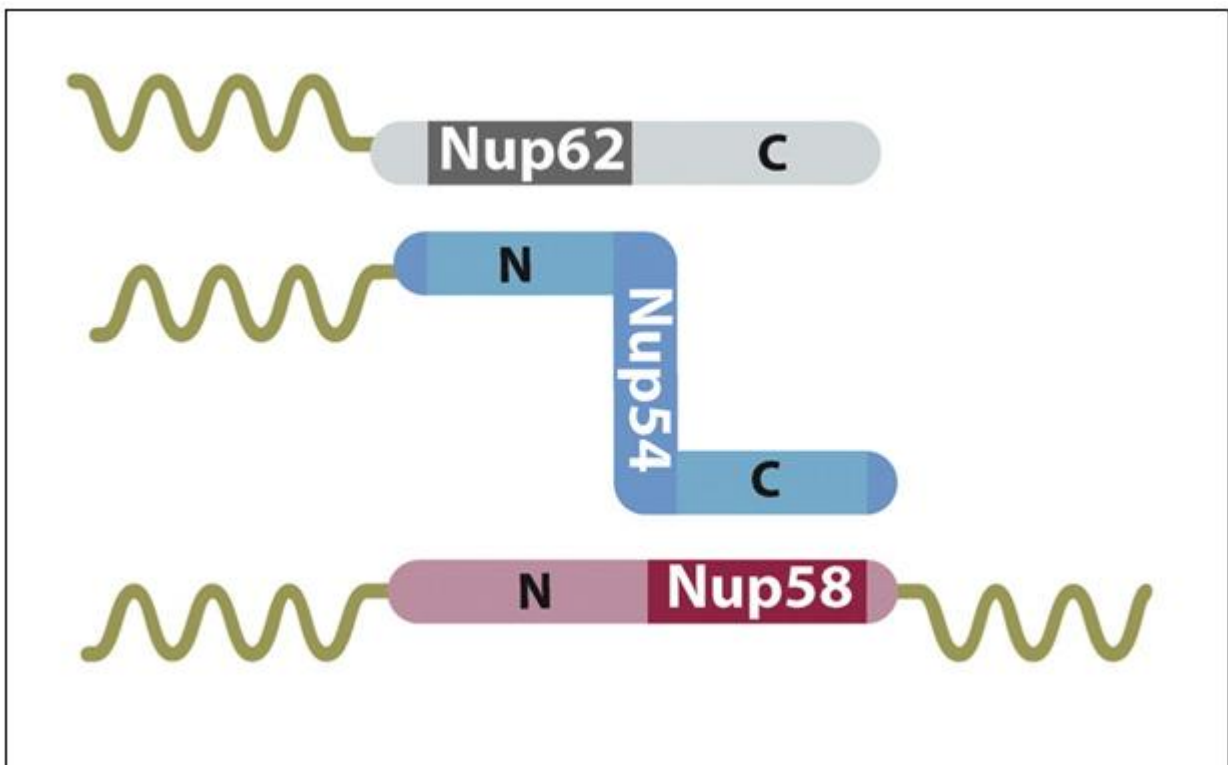


Figure 13 : Structure primaire des nucléoporines du canal central.

Il a été démontré lors des études sur les nucléoporines du canal central qu'elles présentent toutes les trois des iso-formes. Deux pour les nucléoporines Nup58 et Nup62 et quatre pour Nup54. Ceci est représenté schématiquement à *l'annexe 5*.

Au sein des ces trois protéines se trouvent des régions à hélice α . Nup54 possède également une région avec feuilletts β . Ainsi, Nup58 et Nup62 présentent une structure tertiaire linéaire tandis que Nup54 présente une **forme arquée** (cf figure 14).

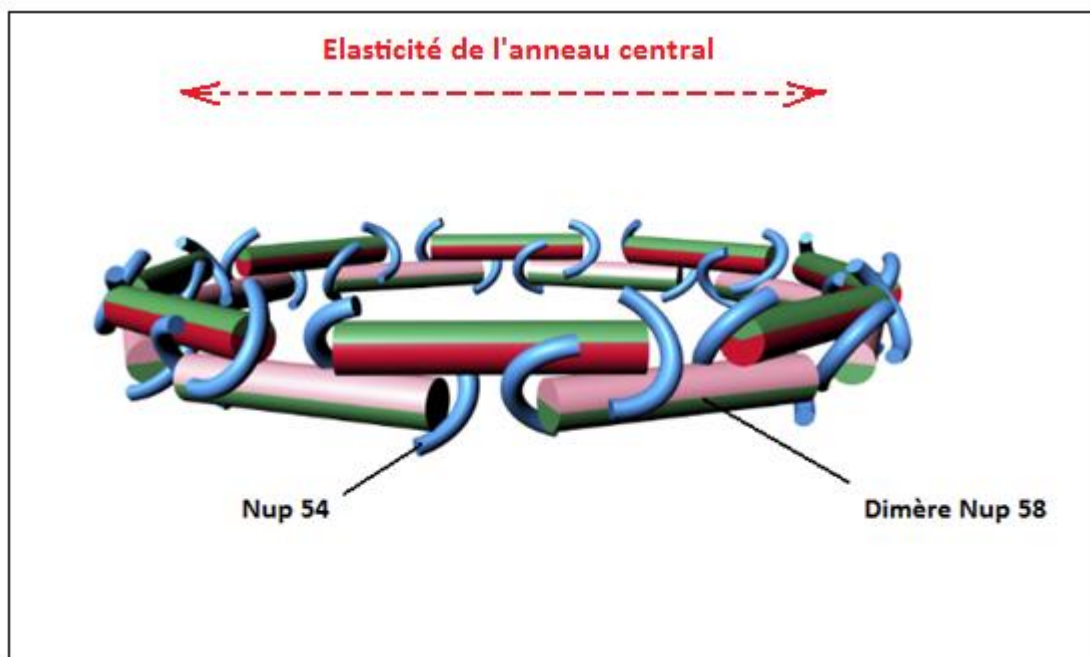
Figure 14 : Structure secondaire des nucléoporines du canal central.
Nup54 présente un feuillet β central.



Les études sur la structure primaire et tertiaire ainsi que la cristallisation en trois dimensions ont permis de mettre en lumière deux niveaux d'interactions bien distincts entre les nucléoporines du canal central. Il y a donc interaction spécifique entre Nup54 – Nup58 et entre Nup62 – Nup54. Les régions en hélice α de Nup58 permettent à la molécule de former un tétramère via deux homo-dimères. Il y a alors arrangement de huit de ces tétramère, formant un anneau, qui constituent la **trame principale** du pore central.

La forme arquée de Nup54 permet de lier les tétramères de Nup58 entre eux. Cette conformation permet une certaine laxité de l'anneau. Ainsi, l'ouverture de l'anneau peut varier de quelques nanomètres. Le NPC est donc une **structure dynamique**, permettant au diamètre interne du canal central de s'élargir ou de se resserrer de 3 nm (*cf* figure 15).

Figure 15 : Assemblage des nucléoporines Nup58 et Nup54.



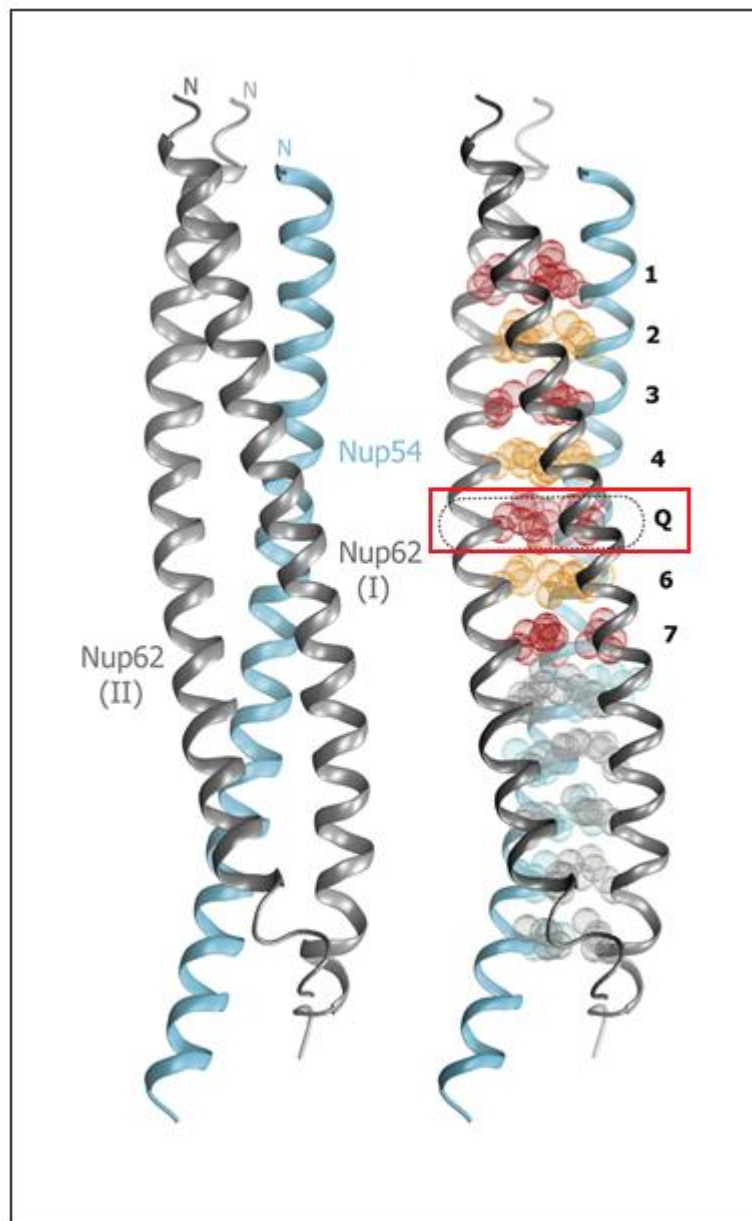
L'interaction entre ces Nup54 et Nup58 forme un anneau qui s'inscrit dans le plan de la membrane nucléaire. Ainsi, la nucléoporine Nup54 adopte deux conformations distinctes « *straight* » pour droite et « *bent* » pour courbée, selon le niveau d'écartement de l'anneau central. Nup54 est donc la variable d'ajustement du diamètre central. L'ensemble est lié par des interactions hydrophobes de Van der Waals et par d'importantes liaisons hydrogène (38).

L'interaction entre Nup54 et Nup62 se fait perpendiculairement par rapport à l'axe d'interactions Nup54 – Nup58. A l'instar des deux autres nucléoporines (Nup58 et Nup62), Nup54 présente en milieu de molécule des feuillets β au sein de sa structure secondaire. Une triple hélice composée de deux molécules Nup62 pour une molécule de Nup54 se forme. Une hélice α de Nup54 interagit avec l'hélice α de chaque molécule de Nup62 formant cette triple hélice parallèle. Chaque interaction entre hélice α est maintenue par de nombreuses liaisons hydrophobes de Van der Waals.

Le pôle C-terminal formé par les résidus C-terminaux des trois protéines ressemble à un arrangement classique d'hélices α protéique. A contrario, la partie N-terminale de la triple hélice intègre une série de sept feuillets β apporté par Nup54 et perpendiculaire à l'axe de la triple hélice. Les feuillets un à quatre et le feuillet sept sont constitués exclusivement de résidus non-polaires. Le feuillet n°5 comporte uniquement des résidus polaires de glutamine (Q). Cela forme une trame de liaisons hydrogènes. La surface externe de la triple hélice présente un réseau de liaisons ioniques qui connecte les nucléoporines Nup54 et Nup62 entre-elles et rend leur liaison spécifique (*cf* figure 16).

Le feuillet Q (i.e feuillet n°5) est un élément prépondérant de la stabilité du complexe Nup54 – Nup62. En effet, la nécrose striatale bilatérale infantile (IBSN) est due à la mutation somatique récessive de type substitution Gln-391-Pro au sein de Nup62. Ce remplacement d'un résidu polaire par une proline apolaire déstabilise le feuillet β . Ceci a été démontré lors d'une étude sur la stabilité du complexe Nup54 – Nup62 portant la mutation Q391P contre le complexe de type sauvage WT (wild type) (38). Cet exemple tend à démontrer l'importance de la relation structure – activité puisqu'ici, une seule mutation ponctuelle engendre une déstabilisation majeure du feuillet Q et entraîne un état pathologique.

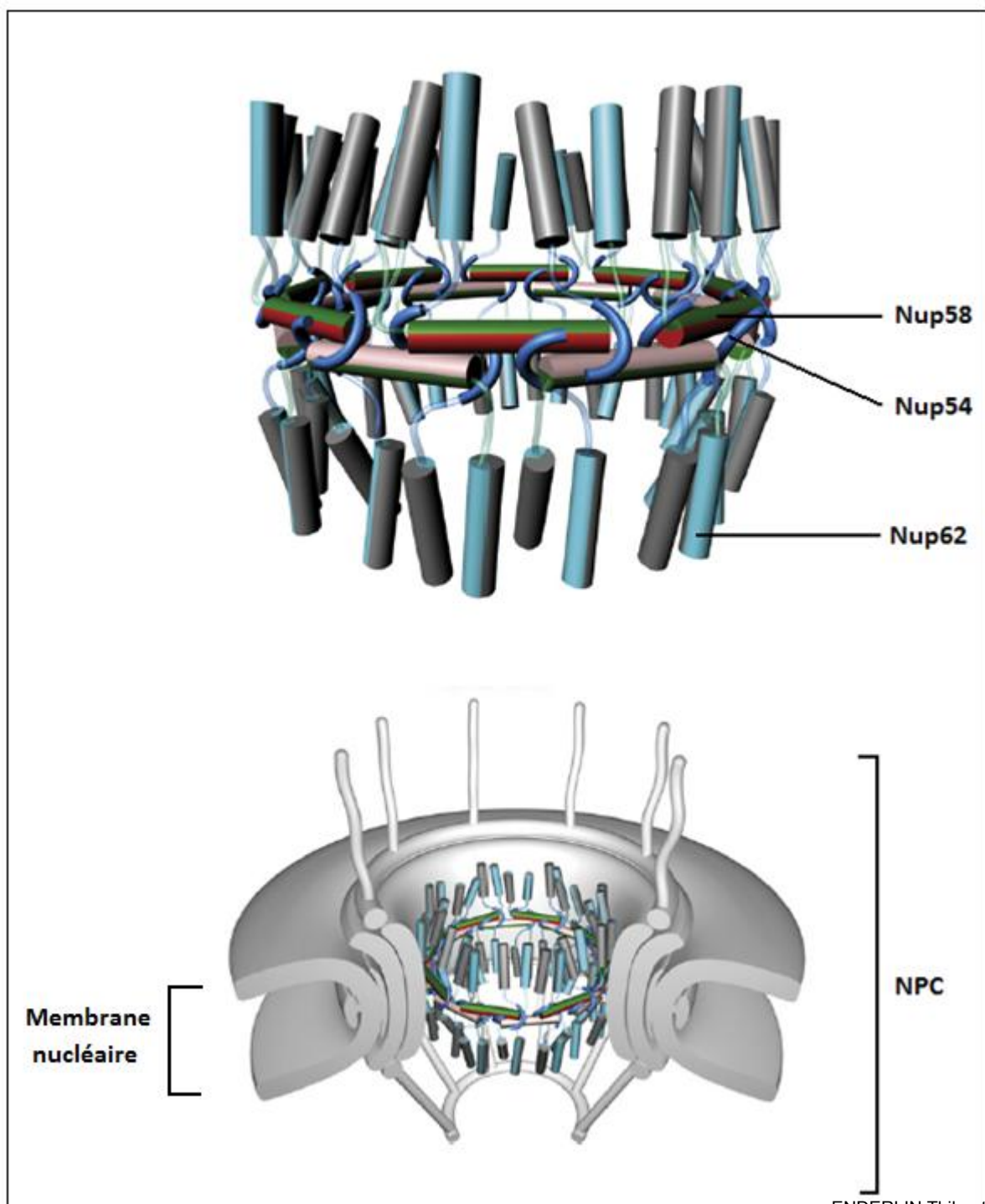
Figure 16 : Assemblage de la triple hélice Nup54(x1) – Nup62(x2). En rouge, le feuillet Q central.



L'hétérotrimère Nup54 – Nup62 se projette verticalement par rapport au plan constitué par l'anneau Nup54 – Nup58 pour former les entrées cytoplasmique et nucléocytoplasmique du canal central du pore nucléaire (cf figure 17).

L'assemblage final du canal central est basé sur la stœchiométrie Nup62 : Nup54 :Nup58 de type 4 : 2 : 1. Etant donné que la structure est octogonale, cela donne 32 molécules Nup58, 64 molécules Nup54 et 128 molécules Nup62 chez les mammifères puisque le point de départ est un homotétramère de Nup58. Au total, on trouve donc **256 motifs FG**. Pour Nup58, l'ensemble des motifs FG sont exposés du côté luminal du canal central, permettant les **interactions** entre le canal central et les molécules importées ou exportées de manière active au travers du pore nucléaire (*cf* figure 17).

Figure 17 : Le canal central formé par Nup54, Nup58 et nup62.



3. Les mécanismes du flux antérograde et rétrograde via le NPC

3.1 *L'importation :*

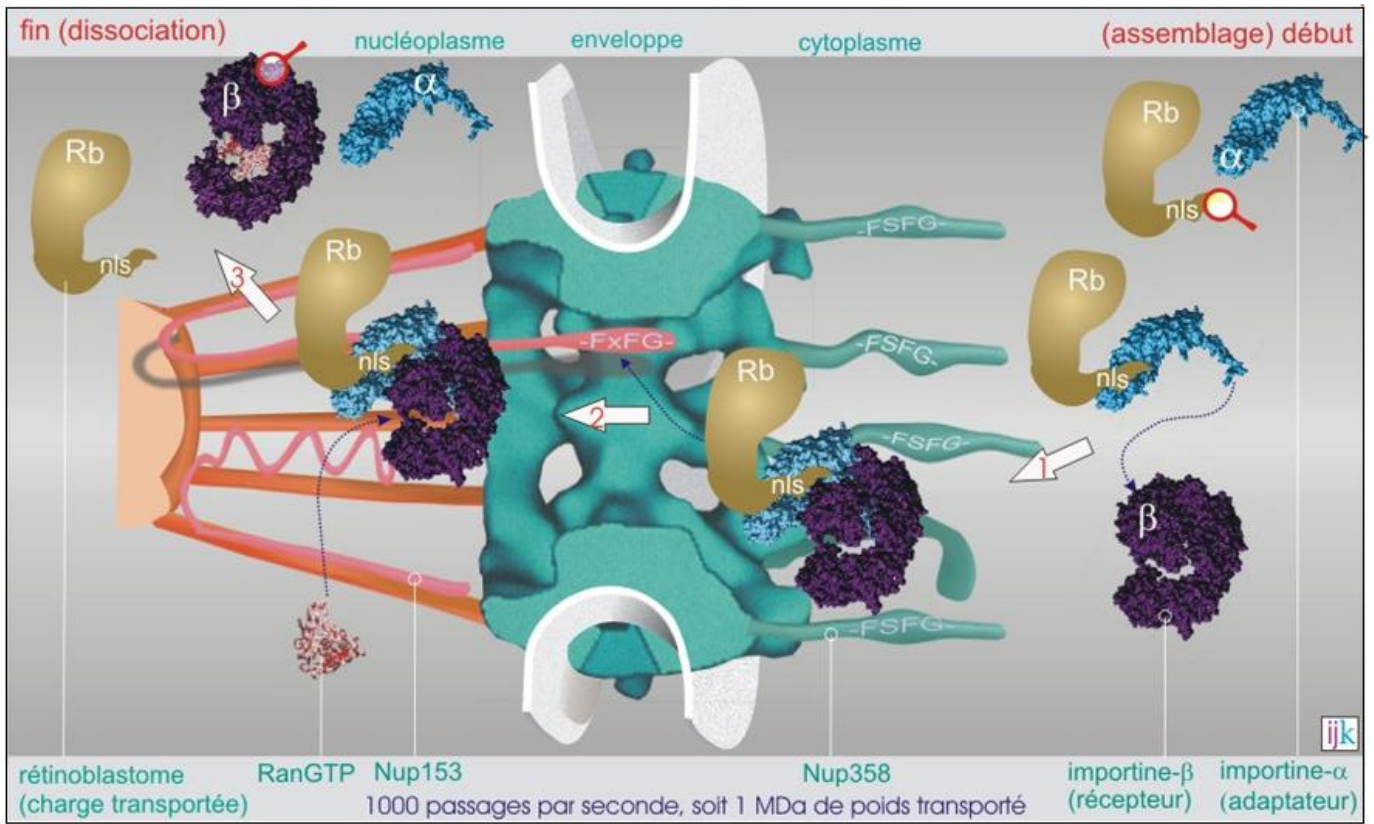
Les protéines entrantes, portent au sein de leur structure primaire la séquence de destination NLS (Nuclear Localisation Signal). Cette séquence est constituée d'acides aminés basiques (lysine et arginine) qui s'arrangent en une séquence continue – F – K – K – K – R – K – V – ou en une séquence interrompue – K – R – F – A – A – T – K – K – A – G – Q – A – K – K – K – K – Ces séquences sont reconnues par une protéine adaptatrice, l'importine- α (protéine de 60 kDa), qui ensuite reconnaît son récepteur, l'importine- β (protéine de 97 kDa).

Le complexe ainsi formé se fixe aux filaments cytoplasmiques qui bordent le pore, sur une séquence riche en phénylalanine et glycine (séquence – F – S – F – G –) de la protéine Nup358.

C'est l'amorçage d'un processus de navette qui se déroule comme suit : le complexe formé de la protéine entrante, de la protéine adaptatrice et de son récepteur, franchira en bloc le pore, attiré par une autre séquence riche en phénylalanine et glycine (FxFG) située sur la protéine Nup153 (cf figure 18). Cette protéine est une protéine « élastique » et peut adopter des formes « rétractées » ou « étirées ». Après avoir été apporté dans le nucléoplasme par Nup153, le complexe récepteur-adaptateur est libéré de sa charge par une protéine liant le GTP, RanGTP (protéine de 24 kDa). Il existe des protéines (non évoquées ici) qui renvoient les importines- α et - β vers le cytoplasme pour y être « rechargées ».

Il faut noter que certaines protéines se fixent directement au récepteur, importine- β , sans intervention de l'adaptateur. Certaines protéines semblent également passer le pore sans aucune intervention de RanGTP, donc sans besoin apparent du récepteur. (5) (30)

Figure 18 : schéma de l'importation de la molécule rétinoblastone.



3.2 L'exportation :

Les protéines destinées à sortir du noyau portent aussi une séquence de destination, appelée « nuclear export signal » (NES). Elle est riche en résidus leucine (L), non polaires, distribués le long de la chaîne (-L-X₁₋₃-L-X₂₋₃-L-X-L/I).

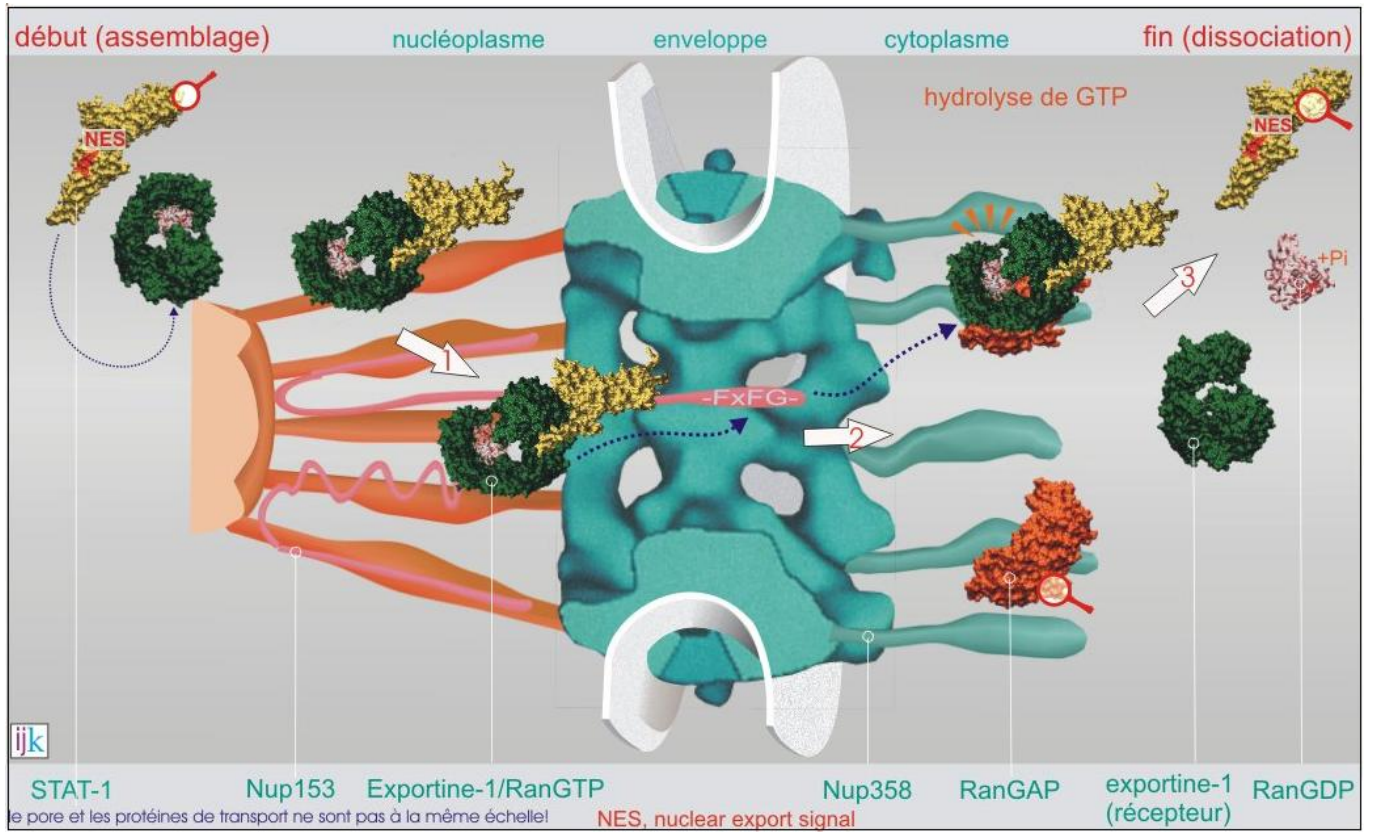
Le processus d'exportation s'effectue selon des principes qui sont très proches de ceux des processus d'importation, utilisant des récepteurs spécifiques tels que exportine-1 (aussi appelé CRM1 (chromosome region maintenance protein-1, protéine de 123 kDa). L'exportine-1 reconnaît sa charge en fixant le RanGTP (au contraire de l'importine-β). Le complexe se déplace dans le pore grâce à l'interaction avec des protéines contenant une séquence riche en F - X - F - G (par exemple Nup153 et Nup214).

Dans le cytoplasme, le complexe se fixe à un filament cytoplasmique (Nup358) et à RanGAP (GTPase activating protein). RanGAP une protéine qui provoque l'hydrolyse du GTP (en GDP et Pi). Le complexe se dissocie en libérant sa charge dans le cytoplasme (cf figure 19).

En ce qui concerne la sortie des très nombreux ARN (ARNt, ARNm, ARNr), les processus d'exportations actifs ne sont parfaitement définis. Il existe une protéine, TAP (tip associating protein), qui se fixe aux ARNm et qui a aussi la capacité d'interagir avec les protéines du pore nucléaire portant la séquence F - X - F - G. TAP peut donc fonctionner comme une « exportine », mais cependant, il existe un récepteur spécifique des ARNt : l'exportine-t (protéine de 111 kDa). Lorsque TAP est liée au RanGTP, elle se fixe à l'ARNt mature et comme l'exportine-1, elle interagit avec les protéines nucléoporiques et perd sa charge après hydrolyse de GTP côté cytoplasme.

Il faut noter que la famille des importines (adaptateurs et récepteurs) contient chez l'Homme au minimum 17 membres et que chaque membre peut avoir une préférence pour une charge ou une autre. Dans leur ensemble ces protéines sont qualifiées de **karyophérines**, regroupant les importines, les exportines et les transportines, qui semblent être moins sensibles aux molécules Ran. De plus, on estime à environ deux cents sites de fixations par karyophérines. (5)
(30)

Figure 19 : Schéma de l'exportation de la molécule STAT-1.



Fondamentalement, le transport nucléaire facilité fait intervenir des récepteurs à double affinité : ils fixent d'une part leur charge (par exemple importine- α /Rb ou exportine-1/STAT-1) et d'autre part, se lient à un motif riche en phénylalanine et glycine (FxFG) localisé sur les protéines du pore. Dans ce processus la GTPase Ran joue un rôle important en déterminant l'affinité du récepteur pour sa charge. Lorsque Ran est fixé au GTP (RanGTP), il entraîne la perte de charge de l'importine- β . Inversement, sous la forme RanGDP, il entraîne la perte de charge de l'exportine-1.

En conséquence, une fois libérée, la charge ne peut effectuer le trajet inverse. Ce mode de fonctionnement détermine donc l'orientation du passage à condition que le RanGTP soit abondant dans le nucléoplasme et rare dans le cytoplasme, et inversement pour RanGDP.

Ce gradient de RanGTP/RanGDP est mis en place grâce à une forte activité enzymatique qui échange GDP pour GTP dans le nucléoplasme, et une forte activité enzymatique qui hydrolyse le GTP (en GDP + Pi) dans le cytoplasme. L'échange est réalisé par le RanGEF (Guanosine Exchange Factor) et nécessite la présence d'histones (protéines liées à l'ADN pour former la chromatine), donc coté nucléoplasme. L'hydrolyse elle-même, est effectuée par le RanGAP (GTPase Activating Protein) et nécessite la présence d'une protéine filamenteuse cytoplasmique (Nup358 aussi appelée protéine de liaison de Ran ou RanBP).

Le trafic peut être modifié en quelques heures par l'augmentation ou la réduction du nombre de pores nucléaires. Une cellule en prolifération, avec une synthèse protéique trois fois plus élevée, double le nombre de ses pores nucléaires. Si la cellule synthétise de l'ADN, elle a besoin d'importer 100 protéines de la famille des histones par pore et par minute (pour emballer son ADN néo synthétisé) et dans le même temps 6 sous-unités ribosomales nouvellement assemblées sortent du noyau. Le trafic peut aussi être modifié par le masquage et démasquage des séquences de destination, NLS et NES, consécutivement à des phénomènes de phosphorylation (modification post-traductionnelle), de fixation d'un ligand hormonal (stéroïde, hormone thyroïdienne ou rétinoïde) ou d'association avec une protéine masquante. De plus, certaines protéines à destination nucléaire sont retenues provisoirement par des protéines cytoplasmiques (phénomène de séquestration cytoplasmique).

Le flux au travers des pores nucléaire est intense et nécessite un système d'importation et d'exportation finement élaboré. Pour qu'un transit via le complexe du pore nucléaire se déroule convenablement, cela nécessite des interactions entre les karyophérines et les séquences FG des nucléoporines du canal central.

Par conséquent, la constitution intrinsèque du complexe du pore nucléaire est un élément déterminant du bon fonctionnement des échanges entre le noyau et le reste de la cellule.

La description du NPC permet de mieux comprendre les enjeux autour de la protéine *ALADIN*, qui appartient à ce complexe protéique.

Nous allons donc nous intéresser maintenant aux conséquences cellulaires engendrées par les mutations génétiques touchant le gène codant pour la nucléoporines *ALADIN*.

B. Défaut de localisation de la protéine

ALADIN

1. Introduction :

Dans le chapitre précédent, nous avons vu que la protéine *ALADIN* était une nucléoporine appartenant au complexe NPC. La protéine *ALADIN* se positionne du côté de l'anneau cytoplasmique.

De nombreuses études utilisant l'imagerie microscopique à fluorescence mettent en lumière le fait qu'une ou plusieurs mutations affectant le gène *AAAS* codant pour la protéine *ALADIN*, provoquent un défaut de localisation de celle-ci au sein de la macrostructure constituant le pore nucléaire (39) (40).

2. Matériels et méthodes :

Nous allons donc voir la technique utilisée pour mettre en évidence le défaut de localisation de la protéine *ALADIN*. Pour cela, les chercheurs utilisent des cellules Hela (pour Henrietta Lacks, du nom de la donneuse historique de la lignée), cellules cancéreuses humaines immortalisées couramment utilisées en biologie cellulaire.

Ces cellules sont transfectées, c'est-à-dire qu'on introduit un vecteur génétique, avec la version sauvage WT (pour Wild Type) de la protéine *ALADIN* à laquelle on greffe un marqueur : le GFP (pour Green Fluorescent Protein) ; on obtient donc une protéine de fusion « GFP-wt-*ALADIN* », témoin de l'expérimentation.

On transfecte également une version mutante de la protéine *ALADIN* dont la mutation est connue comme *I428S*, *Q15K* ou *312del* à laquelle on greffe aussi le GFP ; soit la protéine de fusion « GFP-mutant-*ALADIN* ».

1. La GFP : Green Fluorescent Protein

La protéine fluorescente verte, abrégée GFP (de l'anglais « Green Fluorescent Protein ») est une protéine ayant la propriété d'émettre une fluorescence de couleur verte. Cette protéine est issue d'une méduse (*Aequorea victoria*), et présente comme particularité d'être intrinsèquement fluorescente.

La découverte et les applications de la GFP ont été couronnées par le prix Nobel de chimie décerné à Osamu Shimomura, Martin Chalfie et Roger Tsien le 8 octobre 2008 (41).

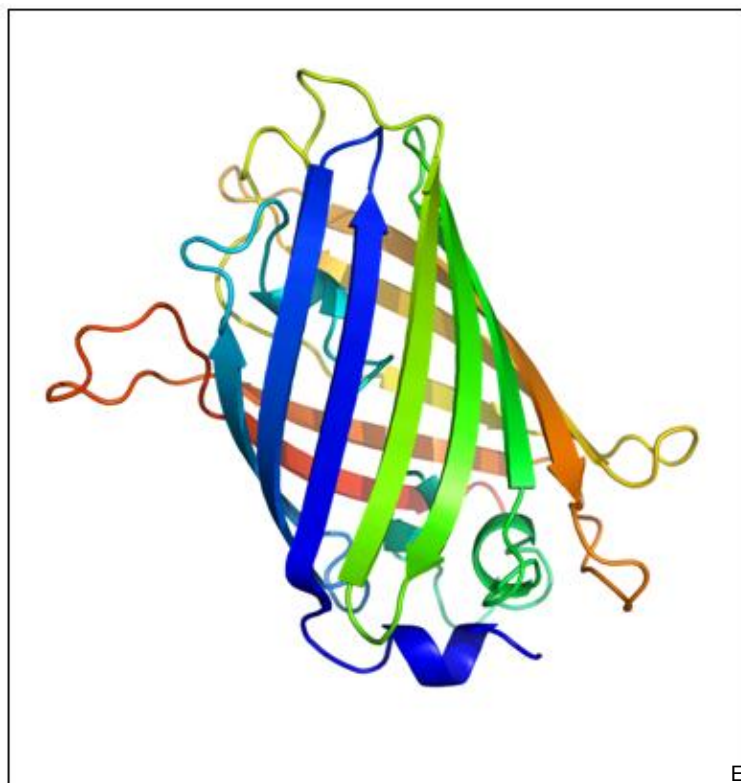
La GFP a été décrite pour la première fois en 1962. Elle est constituée de 238 acides aminés pour une masse moléculaire d'environ 27 kDa (cf figure 20).

Le chromophore, c'est-à-dire le centre actif responsable de la fluorescence est constitué par les chaînes latérales d'une glycine, d'une tyrosine et d'une sérine.

Ainsi, son gène peut être fusionné *in-vitro* au gène d'une protéine d'intérêt afin de l'étudier. Le gène recombinant est ensuite réintroduit (transfecté) dans des cellules ou un embryon, qui vont alors synthétiser la protéine de fusion, fluorescente. On pourra donc observer, *in situ*, la protéine d'intérêt à l'aide d'un microscope à fluorescence.

Cette méthode permet d'étudier plus facilement les protéines dans leur environnement naturel.

Figure 20 : Structure tertiaire de la GFP.



La GFP non modifiée *i.e* sauvage (wild type : wtGFP) présente deux maxima d'excitation. Le premier se trouve à une longueur d'onde de 395 nm (domaine de l'ultra-violet), le deuxième à 475 nm (lumière bleue). La longueur d'onde d'émission maximale est à 504 nm. Elle est également photo-excitable, ce qui signifie que l'intensité de la fluorescence émise peut être intensifiée par une exposition à des photons ultraviolets, caractéristique perdue dans la plupart des variants produits par la suite.

Il existe maintenant différentes variantes de la GFP qui ont été obtenues en la modifiant par ingénierie génétique. Il existe également d'autres protéines fluorescentes issues d'autres organismes qu'*A. victoria* (41).

2. mAb414 : Anticorps monoclonal anti-NPC

Les chercheurs utilisent également un anticorps de type monoclonal spécifiquement dirigé contre les nucléoporines de NPC. Cet anticorps est un anticorps de type IgG1 de souris qui reconnaît spécifiquement un épitope commun aux nucléoporines Nup62, Nup153, Nup214 et Nup358. Il est utilisé pour marquer les complexes du pore nucléaire du fait de son affinité pour des nucléoporines appartenant, nous l'avons vu, à différentes sous-parties du NPC.

mAb414 est utilisable en immunoprécipitation, immunoblotting, immunofluorescence et en microscopie électronique avec anticorps marqués, à des dilutions dépendant de la technique employée (42). On peut également l'utiliser lors des mouvements cellulaires dynamiques tels la mitose et la méiose, ou le complexe du pore nucléaire semble jouer un rôle fondamental, et fait actuellement l'objet de nombreuses recherches et publications.

De plus, cet anticorps est utilisable chez différentes espèces : l'homme, la souris, le rat, le nématode, le chat, la levure, xénope et le poisson zèbre (43).

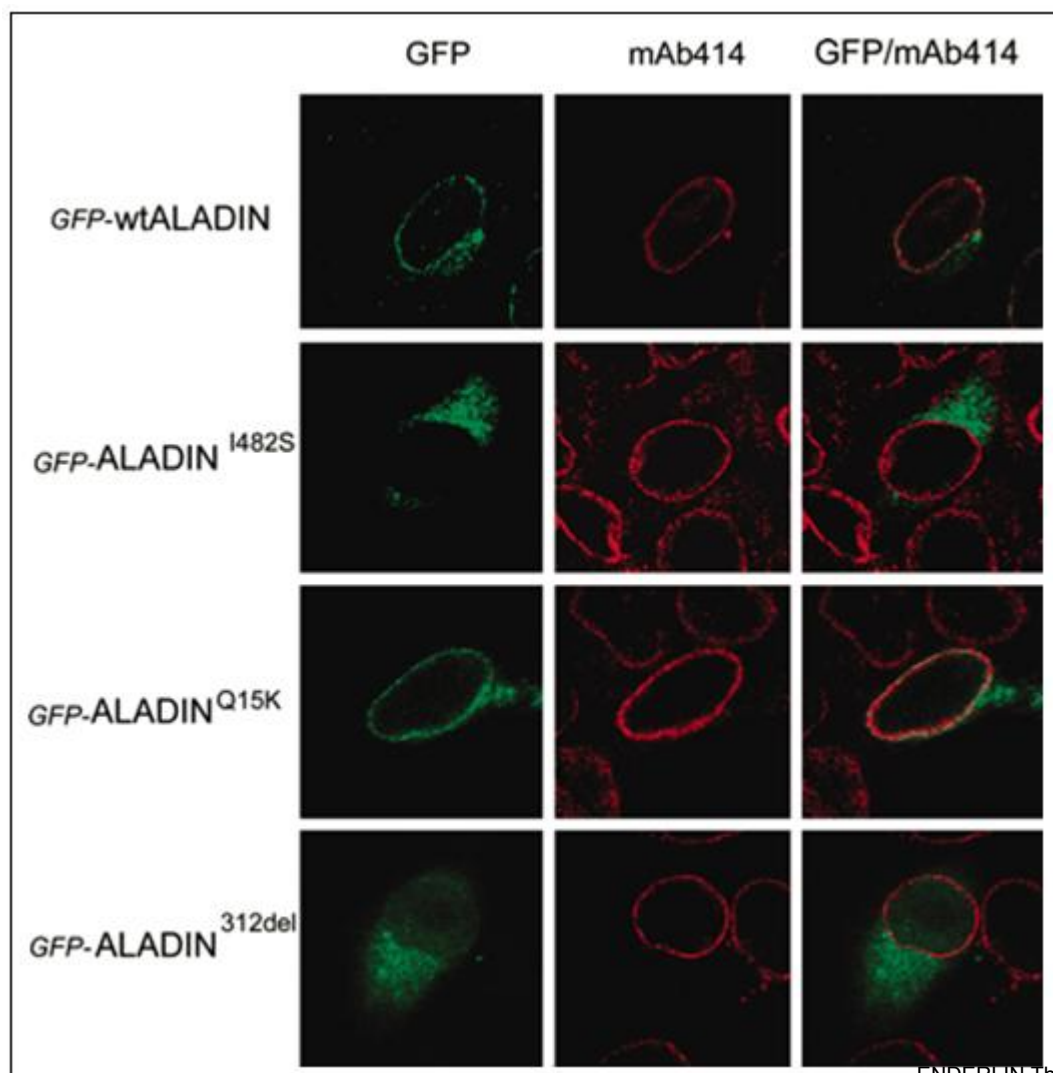
3. Résultats

Les résultats et les images sont issus d'une publication dont l'objectif était de mettre en évidence ce défaut de localisation de la protéine *ALADIN* au sein du NPC. (39)

En premier lieu, on révèle seulement la protéine *ALADIN* à l'aide d'un microscope électronique à fluorescence. Dans un deuxième temps, on révèle les complexes du pore nucléaire via l'anticorps monoclonal mAb414. La nucléopore *ALADIN* ressort en vert puisqu'on lui a greffée la GFP. Pour l'anticorps spécifique du NPC, on effectue un immunomarquage secondaire à l'aide d'un anticorps spécifique des fragments Fc γ (car mAb414 est un IgG1) greffé d'un fluorophore rouge. On obtient donc deux images distinctes (cf figure 21).

Pour mettre en lumière le défaut de localisation de la protéine *ALADIN*, on effectue une double excitation des fluorophores rouge et vert afin de superposer les deux résultats.

Figure 21 : Mise en évidence du défaut de localisation par immunofluorescence via 3 mutations.



D'après l'image 7, on remarque que pour le type « sauvage » de la protéine *ALADIN*, lors révélation de la protéine via la GFP, celle-ci coïncide parfaitement avec le complexe du pore nucléaire. Les deux images se superposent très nettement. La protéine *ALADIN* est donc parfaitement et intégralement insérée dans la macrostructure du complexe du pore nucléaire.

Pour les mutations *I482S* et *312del*, on remarque que la protéine *ALADIN* ne circonscrit pas parfaitement le complexe du pore nucléaire. L'image montre la formation d'un « panache », indiquant que l'intégration de la protéine *ALADIN* au sein du NPC est largement incomplète.

Pour la mutation *Q15K*, le « panache » visible sur l'image semble être de moindre importance mais cela est difficile à déterminer car l'image obtenue par immunofluorescence rend compte de deux dimensions seulement (36). Néanmoins, tout comme précédent, la protéine *ALADIN* apparaît aussi faiblement intégrée dans le complexe du pore nucléaire.

La localisation précise de la nucléoporeine *ALADIN* reste encore imprécise, néanmoins, il a été démontré que la protéine NDC-1 (protéine d'ancrage du NPC à la membrane nucléaire) intervient dans la localisation d'*ALADIN* au sein du NPC. Les mutations du gène *AAAS* rendent la protéine *ALADIN* non fonctionnelle et empêchent celle-ci d'intégrer le NPC par interactions avec la protéine NDC-1. **Le défaut de localisation de la protéine *ALADIN* est dû à la perte d'interaction avec la protéine d'ancrage NDC-1 au sein du NPC (44).**

L'utilisation de la GFP permet de mettre en évidence une protéine *in-situ* et ainsi visualiser aisément une anomalie par comparaison à un cas témoin. On a donc vu que les mutations du gène *AAAS* engendrent un défaut de localisation de la protéine *ALADIN* au sein du NPC. Quelles en sont les conséquences cellulaires ?

C. Conséquences cellulaires du défaut de localisation de la protéine *ALADIN*

L'hypothèse « ROS » (Reactive Oxygen Species) :

Hypersensibilité cellulaire au stress oxydatif

1. Hypothèses

Une étude de 2010 conduite par le Professeur Angela Huebner de l'université de Dresde en Allemagne (« *Intracellular ROS level is increased in fibroblasts of Triple-A syndrome patients* », publié dans : *Journal of Molecular Medicine*) tend à démontrer que le défaut de localisation de la protéine *ALADIN* **influence l'importation nucléaire** de molécules spécifiques et modifie en profondeur **l'homéostasie des ROS**.

Dans le syndrome Triple A, en plus de la triade *Alacramia*, *Achalasia* et *Adrenal insufficiency*, se surajoute plus tardivement une dégénérescence neurologique variée.

Pour rechercher les différentes causes de cette dégénérescence progressive, l'équipe du professeur Huebner s'est focalisée sur l'état de stress oxydatif de fibroblastes de patients Triple-A en comparaison à des patients contrôle, Triple-A négatif.

Le but de l'étude consiste à analyser l'homéostasie des espèces réactives de l'oxygène, les « ROS » ainsi que l'activité de la mitochondrie, principal organite producteur de ROS (40).

2. Les « ROS » : Espèces réactives de l'oxygène

L'oxygène est un élément fondamental et est utilisé par nos organismes sous forme d'oxygène moléculaire (*i.e* O₂) dans la respiration cellulaire pour conduisant à la formation d'ATP, source final d'énergie du corps humain. L'utilisation de l'oxygène par les êtres vivants est contrôlée par un grand nombre d'enzymes qui rendent le dioxygène chimiquement actif. Ces espèces oxygénées activées sont impliquées dans les dysfonctionnements consécutifs à une ischémie, mais jouent également des rôles physiologiques. Les ROS déterminent la durée de vie cellulaire, par leur contribution à la surcharge calcique, modulant également la perméabilité mitochondriale. Elles agissent sur la concentration en calcium et sur l'apoptose (45).

En 1931, Haber et Willstätter proposèrent l'existence fugace d'espèces oxygénées telles que l'anion superoxyde.

Les ROS les plus fréquemment rencontrés chez l'homme sont : l'anion superoxyde, l'anion peroxyde, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle. Ils peuvent être produits par les rayons ionisants (radioactivité tellurique, cosmique...), par des agents oxydants ou de manière endogènes, par la chaîne de respiration mitochondriale. En effet, la mitochondrie est l'organite qui produit la plus grande partie des ces ROS, au niveau des cellules non inflammatoires. Par contre, dans les neutrophiles, les macrophages activés et certains lymphocytes, la source principale de ROS est cytosolique, de part les activités de la NADPH oxydase et de la myéloperoxydase.

La production physiologique de ROS est consécutive à l'activité mitochondriale. Au sein de cette chaîne mitochondriale, le complexe numéro I (NADH deshydrogénase), et le complexe numéro III (ubiquinone – cytochrome c réductase) sont les principaux producteurs de ROS, notamment d'anion superoxyde (46) (47).

Cette production centralisée de ROS est due au fait que la mitochondrie est le lieu central de consommation de l'oxygène au cours de la phosphorylation oxydative. Les ROS sont des produits normaux de l'activité mitochondriale et participent aux phénomènes de régulation et d'homéostasie cellulaire. Elles régulent notamment la genèse des facteurs anti-hypoxiques HIF (Hypoxia Inducible Factors) (48).

2.1 L'anion superoxyde : O_2^\bullet

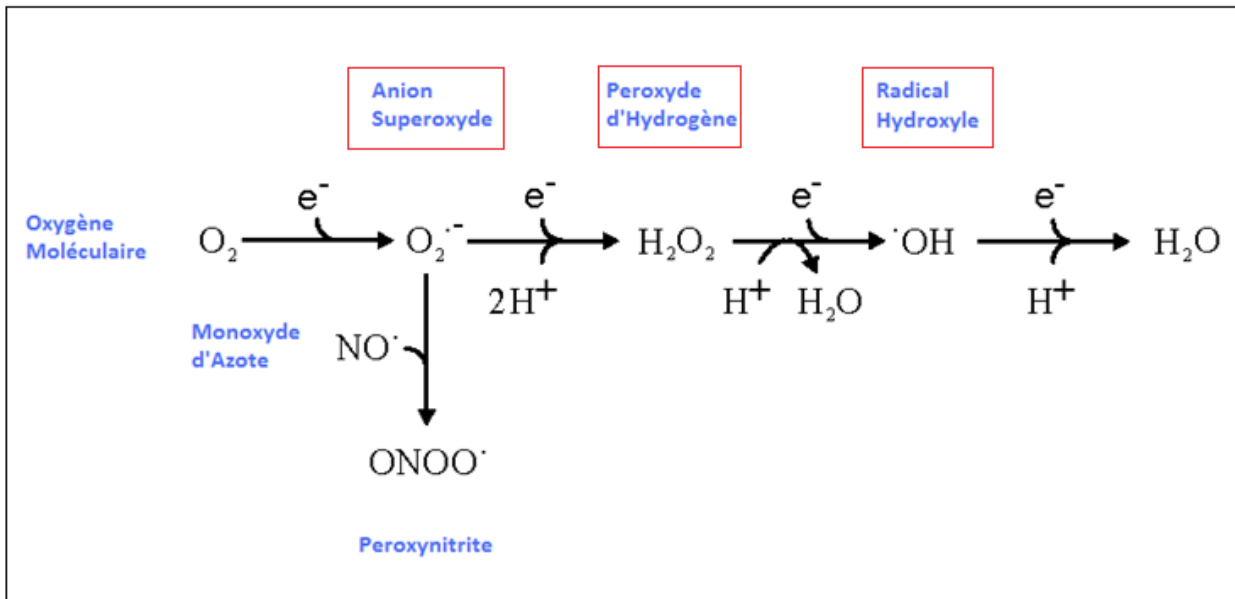
L'anion superoxyde est la principale espèce radicalaire des mitochondries. Lors de la réduction de l'oxygène moléculaire, l'anion superoxyde figure comme la première étape conduisant aux ROS et, constitue l'élément le plus agressif (*cf* figure 22). Cette molécule est mono-électronique et endothermique, il est donc nécessaire d'apporter de l'énergie. Sa formation n'est donc pas spontanée, exigeant la participation d'un catalyseur (enzyme de type oxydase).

Etant polarisé, l'anion superoxyde ne peut pas traverser les membranes hydrophobes, sauf en empruntant les canaux anioniques. La plus grande partie de O_2^\bullet est déversée, par les canaux IMAC (Inner Membrane Anion Channel), dans les espaces inter-membranaires où se situent les enzymes antioxydantes (49). L'anion superoxyde est très instable et dismute rapidement en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

La durée de vie de l'anion superoxyde est pourtant suffisamment longue pour que la rencontre avec une molécule de monoxyde d'azote ($^\bullet NO$) conduise à la formation de peroxydinitrite (NO_3^-) et par cette voie, à la formation de radical hydroxyle ($^\bullet OH$).

La présence de superoxydes dismutase (SOD), enzymes anti-oxydante, permettent une dismutation mille fois plus rapide de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, diminuant ainsi considérablement les chances de rencontre de l'anion superoxyde avec du monoxyde d'azote.

Figure 22 : Les différentes Espèces Réactives de l'Oxygène.



La dismutation de l'anion peroxyde se passe comme si les réactions mettaient en jeu des paires de molécules d' $O_2^{\cdot-}$, l'une de celle-ci réduisant l'autre en redevenant O_2 , tandis que la molécule réduite capte deux protons (H^+) et devient le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

Ce bilan met en évidence le rôle des protons dans la stabilité de l'anion superoxyde.

En milieu aqueux, aux pH biologiques, l'anion superoxyde a une durée de vie très courte, car il subit, dans ces conditions, le processus de dismutation.

La réalité chimique est plus compliquée, car thermodynamiquement, la réaction directe $O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-}$ est endothermique et ne peut donc pas être spontanée. Ceci permet d'expliquer la durée de vie relativement longue de l'anion superoxyde en milieux aprotiques (sans H^+).

Les bi-couches phospholipidiques, au niveau des longues chaînes d'acides gras, représentent un espace hydrophobe aprotique. Par réaction nucléophile, au sein de ces espaces aprotiques, l'anion superoxyde réagit avec les esters d'acides gras des phospholipides.

Ainsi, la présence de ROS et surtout de l'anion superoxyde peut conduire à la déstabilisation des bi-couches phospholipidiques. Cette déstabilisation des membranes par désestérification des molécules phospholipidiques peut conduire à la lyse cellulaire.

2.2 Le Peroxyde d'Hydrogène : H₂O₂

Tout d'abord, nuance importante, le peroxyde d'hydrogène n'est pas une espèce radicalaire mais une espèce activée de l'oxygène (ROS). S'il n'est pas en présence d'enzymes (péroxydases) ou de métaux de transition, le peroxyde d'hydrogène est relativement stable. On le trouve d'ailleurs à la vente dans les officines sous forme d'eau oxygénée diluée à dix volumes.

Le peroxyde d'hydrogène représente la seconde étape dans la voie de réduction de l'oxygène. Il est maintenant considéré comme un messenger intracellulaire ubiquitaire agissant à des concentrations subtoxiques, notamment sur la biosynthèse des prostaglandines ou lors de la transduction du signal provenant du PDGF (Platelet-Derived Growth Factor) (50).

Le peroxyde d'hydrogène est peu réactionnel en soi, mais la présence d'atomes de fer complexé ou d'hème provoquera une sorte de réaction de Fenton *in vivo*, particulièrement agressive. La réaction de Fenton, basée sur l'équation-bilan d'Haber-Weiss, est une réaction d'oxydation avancée aboutissant à la formation du radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$).

Au cours de la réaction, le peroxyde d'hydrogène oxyde le fer ferreux (ou ion fer II) selon la réaction d'oxydo-réduction:

$$\text{Fe}^{2+}_{(\text{aq})} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+}_{(\text{aq})} + \text{OH}^{-}_{(\text{aq})} + \bullet\text{OH}$$

Il y a donc génération de fer ferrique (ou ion fer III) et de radical hydroxyle.

Le danger constitué par ce radical hydroxyle explique l'abondance d'enzymes s'attaquant au peroxyde d'hydrogène : GSH peroxydase, thiorédoxine-2, catalase, peroxyrédoxine-3

De plus, contrairement à l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène traverse aisément les membranes cellulaires. Il apparaît donc essentiel de pouvoir contrer sa formation le plus rapidement possible pour éviter toute dispersion cellulaire (51).

2.3 Le radical hydroxyle ($\cdot\text{OH}$)

La radiolyse de l'eau est un événement naturel qui se produit quand une molécule d'eau est scindée en deux par l'action d'un rayonnement électromagnétique. Néanmoins, il faut que ce rayonnement soit très intense (rayons X ou γ). Il entraîne la formation de radicaux hydroxyles, durant quelques nanosecondes. Outre l'exposition aux radiations ionisantes, deux autres systèmes peuvent générer ces radicaux hydroxyles dans les milieux biologiques : la décomposition du peroxy-nitrite et les radicaux oxo-ferryles (transfert d'un électron du fer vers une molécule d'oxygène après fixation de celle-ci par une des liaisons de coordination du fer).

Le radical hydroxyle, comme toute molécule radicalaire, est très instable du fait de l'électron célibataire. Très réactifs vis à vis des molécules biologiques telles que les protéines, les lipides, les hydrates de carbone et l'ADN, ils peuvent causer des dommages irréversibles aux structures et fonctions métaboliques cellulaires.

Les radicaux libres sont responsables de plusieurs phénomènes : la peroxydation des membranes lipidiques, la formation de ponts disulfures non constitutionnels, et l'altération de l'ADN. Ainsi l'organisme lutte de deux façons contre ces radicaux libres : par le biais des enzymes anti-oxydantes (catalase, superoxyde dismutases, thioperoxydase, thioredoxine, glutathion peroxydase...) présentes dans la matrice mitochondriale, dans le cytoplasme et dans les peroxysomes et par le biais des molécules anti-oxydantes comme les vitamines A, C et E (bêta-carotène, acide ascorbique et alpha-tocophérol) mais aussi la taurine, la bilirubine et l'acide urique, anti-oxydant majeur du système sanguin.

3. Matériels et méthodes :

Les dysfonctionnements mitochondriaux et les stress oxydatifs jouent un rôle important dans de nombreuses maladies dégénératives du système nerveux (52) (53).

Les **neurones** sont des cellules fortement **sensibles au stress oxydatif**, mais leur utilisation s'avère non viable pour les expériences à suivre, car les cellules sont maintenues artificiellement en vie, après biopsie, dans des incubateurs tamponnés en présence de nutriments. Ainsi, pour ces raisons, les expériences ont été conduites sur des **cellules fibroblastiques**.

L'échantillon comporte 13 patients, homme et femme, tous génétiquement diagnostiqués positif pour le syndrome Triple-A. Le profil génotypique et phénotypique, avec notamment les différents dysfonctionnements neurologiques sont concilié dans le tableau ci-dessous (*cf* tableau V).

Pour les treize patients, les fibroblastes ont été obtenu par **biopsie cutanée**. Douze des treize patients avaient moins de vingt-six ans lors de l'isolement cellulaire. Treize autres séries de fibroblastes « contrôle » ont été prélevés anonymement, via une banque de cellules fibroblastiques, sur des hommes sains après circoncision.

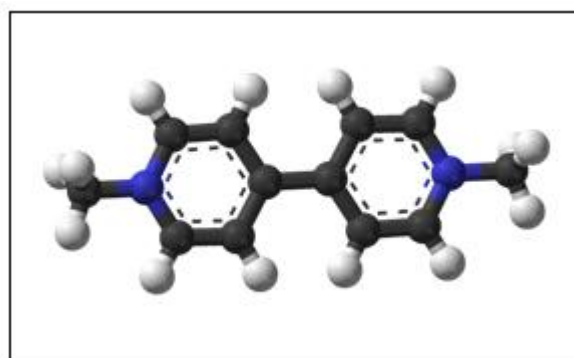
Tableau V : Génotype (rouge) et phénotypes (bleu) des 13 patients triple A (40).

AAAS mutation	Sex	Age of onset (years)	Main symptoms			Neurological and other symptoms				
			Alacrima	Achalasia	Adrenal insufficiency	Hyperreflexia	Optic Atrophy	Muscle wasting/ muscle weakness	Nasal speech	Others
p.S263P	Male	2	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Anisokoria, ataxia, visual problems, seizures
p.Q387X	Male	2	Yes	Yes	Yes	Yes	n.d.	Yes	Yes	Visual problems
p.R342X	Male	4	Yes	Yes	Yes	n.d.	Yes	n.d.	n.d.	Seizures
p.H160R	Female	8	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Ptosis, ataxia, sensory impairment
IVS14G>A	Male	8	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Impaired sweating
p.W84X	Female	4	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Pes cavus, visual problems, seizures
p.W295X	Male	5	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Fasciculation of the tongue, pes cavus, sensory impairment
p.W295X	Male	4	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Fasciculation of the tongue, pes cavus, sensory impairment, seizures
IVS14G>C	Female	2	Yes	No	Yes	No	No	Yes	Yes	Mental retardation
p.W295X	Male	1	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	n.d.	Anisokoria, sensory impairment
IVS14G>A	Female	5	n.d.	n.d.	Yes	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	No data available
p.R119X/ K301N	Male	1	Yes	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	Ataxia, pes cavus, sensory impairment, visual problems
p.W84X/L430F	Female	1	Yes	Yes	No	Yes	No	Yes	No	Ataxia, pes cavus

Au niveau de ces fibroblastes, plusieurs paramètres ont été suivis afin de comparer le niveau de stress oxydatif ainsi que l'homéostasie de la cellule. Pour estimer le flux mitochondrial, l'équipe du professeur Huebner a quantifié le nombre de copies d'ADN mitochondriale par cellule. Pour l'activité métabolique, ils ont quantifié l'expression des différentes enzymes luttant contre les ROS (ici : la SOD 1 & 2, la catalase et la glutathion réductase). Les concentrations en ROS ont été mesurées au niveau de la cellule et au niveau de la mitochondrie, mais également, le temps de doublement cellulaire, l'activité métabolique, la composition de l'espace inter-membranaire mitochondrial et la production d'ATP. L'ensemble de ces mesures ont été faites en deux étapes : une mesure des différents paramètres à l'état basal et une mesure après induction d'un stress oxydatif exogène par le biais d'une molécule, le *paraquat* (cf figure 23).

Le *paraquat* (1,1'-Diméthyl-4,4'-bipyridinium) est un produit phytosanitaire ayant un effet herbicide. Ce pesticide appartient à la famille chimique des pyridines, et est une molécule très soluble dans l'eau. Le *paraquat* est l'un des herbicides les plus utilisés au monde. Bien que très toxique, il est largement répandu par son faible coût et sa facilité d'utilisation.

Figure 23 : Représentation 3D du paraquat.



En biologie, le *paraquat* est une molécule fréquemment utilisée pour induire un stress oxydatif exogène massif. Son coût très faible et sa bonne solubilité aqueuse rendent son usage aisé. Au sein de l'expérience, les cellules fibroblastiques sont mises en contact avec le *paraquat* à la concentration de 10 mM durant vingt heures et à la concentration de 1 mM pour les mitochondries seules. Le stress oxydatif résultant est alors très important.

Le maintien cellulaire des fibroblastes se fait dans un milieu de culture spécifiques pour cellules de mammifère.

Afin de simplifier mon propos, je ne développerai volontairement pas les aspects techniques utilisés pour mesurer les paramètres de la mitochondrie, la quantification des ROS et la mesure des enzymes détoxifiant ces ROS.

4. Résultats :

Tableau VI : Tableau regroupant les différents résultats de l'étude sur les ROS. (40)

Experiment	Detection of	Wild type fibroblasts [n]	Patient fibroblasts [n]	Pat. : WT fibroblasts	Significance level
DHR stain	Intracellular ROS	51.6±12.3 aU [9]	106.8±41.8 aU [9]	2.1	***
DHR stain (10 mM paraquat treated)	Stress response	84.2±14.9 aU [12]	223.5±91.1 aU [12]	2.7	***
MitoSOX stain	Mitochondrial ROS	1299±266 aU [12]	1788±404 aU [12]	1.4	**
MitoSOX stain (1 mM paraquat treated)	Stress response	3158±1044 aU [12]	2820±936 aU [12]	0.9	n.s.
MtDNA copy number/cell	MtDNA vs. gDNA	1417±262 [12]	1657±187 [12]	1.2	*
NAO stain	Content of inner mitochondrial membranes	106±13 aU [12]	186±36 aU [12]	1.8	***
JC-1 (red)	High $\Delta\psi$	43±9 aU [12]	78±24 aU [12]	1.8	***
JC-1 (green)	Low $\Delta\psi$	33±9 aU [12]	59±15 aU [12]	1.8	***
JC-1 (red : green)	Metabolic activity	1.3	1.3		
CFSE stain	Doubling time	33±7 hrs [12]	45±9 hrs [12]	1.4	**
Maximum ATP	ATP production	0.0652±0.0265 $\mu\text{M}/\text{cell}/\text{hr}$ [12]	0.0602±0.0208 $\mu\text{M}/\text{cell}/\text{hr}$ [13]	0.9	n.s.

Significance levels: n.s., $p>0.05$; *, $p<0.05$; **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$. aU, arbitrary units

Les résultats les plus intéressants sont encadrés en rouge. Le résultat correspond au rapport de la valeur des résultats des patients contrôle sur la valeur des résultats des patients Triple-A.

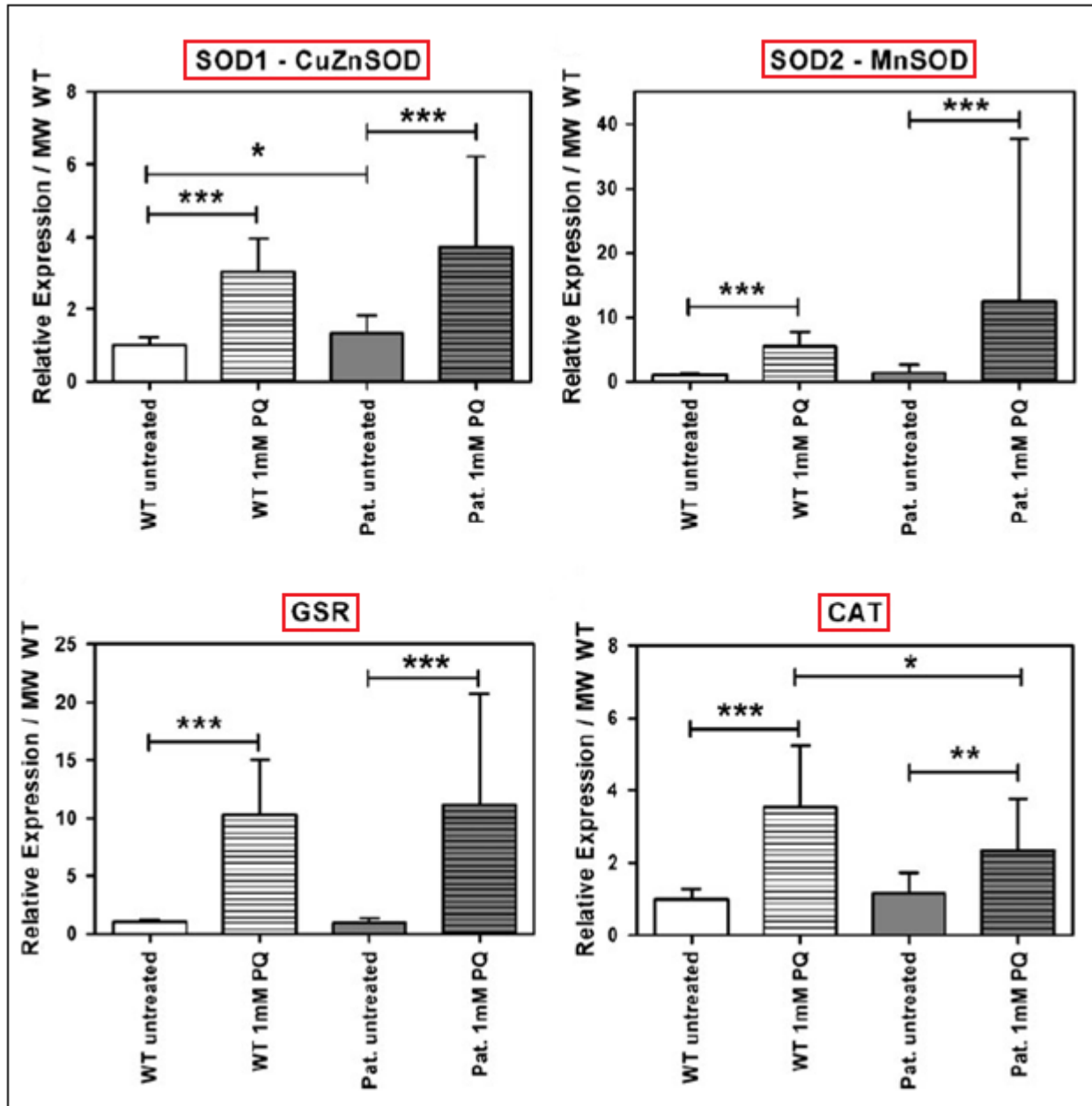
Voici les commentaires que l'on peut apporter à ce tableau VI récapitulatif de l'ensemble des résultats de l'étude.

- A l'état basal, la concentration intracellulaire en ROS dans les fibroblastes Triple-A est **2,1** fois supérieure par rapport aux patients contrôles, en l'absence de stress oxydatif artificiellement induit.
- Après induction d'un stress oxydatif massif, la concentration intracellulaire en ROS dans les fibroblastes Triple-A est **2,7** fois supérieure, par rapport aux patients contrôles.
- le temps de doublement cellulaire est en moyenne de **36% plus long** par rapport aux patients contrôles.
- la réponse au stress ainsi que la production d'ATP ne semble pas être significativement impactées.

A la suite de ces résultats, on peut dire que les cellules Triple-A présentent un **état de stress significativement supérieurs** aux autres cellules, en présence ou en absence de stress exogène induit.

Afin de mieux cerner la problématique, il faut se focaliser sur les résultats des différentes enzymes détoxifiant les ROS (cf tableau VII).

Tableau VII : Tableau de statistiques pour les quatre enzymes détoxifiant les ROS. (40)



L'expression des différentes enzymes détoxifiant les ROS a été réalisée par PCR en temps réel. Le gène de la β -actine, gène résidant, est utilisé pour établir une quantification relative.

L'expression du gène SOD-1 qui code pour une enzyme cytosolique, la CuZnSOD qui catalyse la détoxification de l'anion superoxyde et la formation du peroxyde d'hydrogène dans le cytosol et dans l'espace inter-membranaire mitochondrial. Le complexe III de la chaîne de respiration est majoritairement responsable de la production de l'anion superoxyde dans le cytosol et dans l'espace inter-membranaire. (47)

A l'état basal, les patients triple A présentent une expression de la CuZnSOD 1,3 fois supérieure aux patients contrôles. Après traitement par le *paraquat*, les deux groupes répondent dans les mêmes proportions, avec une élévation de l'expression de l'enzyme. De 3,1 fois pour les patients contrôles contre 3,7 fois pour les patients triple A.

Il existe une autre iso-enzyme, codée par le gène SOD2, et cette enzyme est la MnSOD, localisée dans la matrice mitochondriale. Elle est responsable de l'anion superoxyde principalement relâché par le complexe I de la chaîne mitochondriale. (47) Pour cette enzyme, à l'état basal, il est difficile de faire ressortir une tendance car les valeurs obtenues sont trop disparates. Néanmoins, après le stress oxydatif induit, il y a une nette élévation de l'expression de l'enzyme dans les deux groupes. De 5,5 fois pour les patients contrôles et de 12,5 fois la valeur basale pour les patients Triple-A.

En ce qui concerne le peroxyde d'hydrogène, il est détoxifié par la glutathion réductase (GSR). Cette enzyme se situe dans la matrice mitochondriale et est responsable de la réaction d'oxydoréduction visant à régénérer les dimères de glutathion en glutathion réduit.

A l'état basal, l'enzyme se situe à des niveaux similaires pour les deux groupes. Une fois le stress oxydatif induit, les deux groupes répondent fortement et les taux de glutathion réductase augmentent à 10,3 fois la valeur basale pour les fibroblastes contrôles et à 11,1 fois pour les fibroblastes Triple-A.

La catalase (CAT) est une enzyme localisée dans la matrice mitochondriale mais aussi dans le cytosol et les peroxysomes. Cette enzyme catalyse l'étape de réduction du peroxyde d'hydrogène en eau au sein de la cascade de détoxification des ROS. A l'état basal, au sein des fibroblastes Triple-A, la concentration en enzyme est 1,2 fois supérieure par rapport aux fibroblastes contrôles. Après contact avec le *paraquat*, les fibroblastes contrôles présentent une augmentation significative de 3,5 fois la valeur basale. Pour les fibroblastes Triple-A, l'augmentation d'expression de l'enzyme est nettement inférieure avec 2,4 fois la valeur basale. L'augmentation d'expression de la catalase est donc **30 % inférieur** à la valeur contrôle.

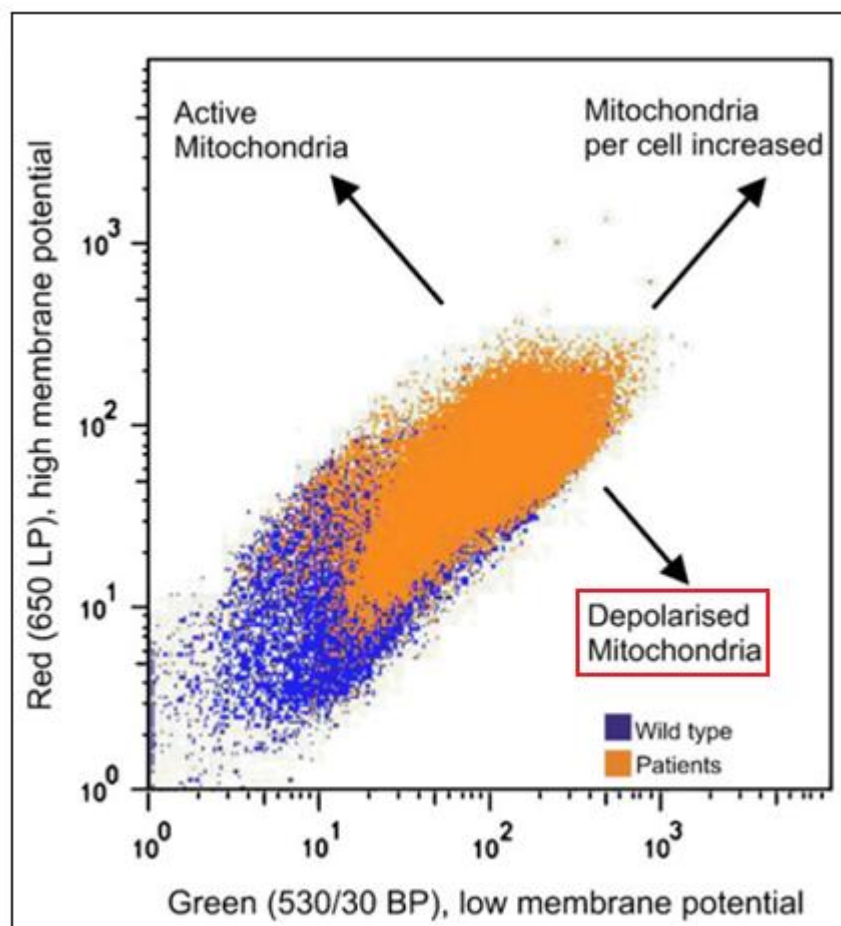
La majorité des ROS intracellulaire voient leur concentration augmenter avec la respiration cellulaire. Ainsi, un changement au niveau de la concentration des ROS est imputable au nombre ou à l'activité mitochondriale.

Tout d'abord, l'étude met en lumière un **nombre plus important de mitochondries** à l'état basal par cellule dans les fibroblastes Triple-A par rapport aux fibroblastes contrôles. Cette observation permet d'expliquer les résultats du DHR test (dihydrorhodamine) (tableau de résultats), à savoir une augmentation de la concentration des ROS intracellulaire à l'état basal et après traitement par le *paraquat*. De plus, le nombre de copies de l'ADN mitochondrial est supérieur de **20%** chez les patients Triple-A.

On peut conclure que **seule la catalase** ne voit pas sa concentration augmenter suffisamment pour détoxifier le surplus de ROS engendré par le *paraquat* au niveau des fibroblastes triple-A.

La figure 24 montre une représentation en nuage de points mentionnant les potentiels de membrane haut et bas des mitochondries au sein des deux groupes, ainsi que le nombre de mitochondrie par cellule.

Figure 24 : Le potentiel de membrane mitochondriale. (40)



Ce diagramme illustre le fait que les patients Triple-A présentent en grande majorité un nombre de mitochondries par cellule, supérieur aux patients contrôles, et dans un état dépolariées.

Enfin, pour étudier le fonctionnement de la chaîne respiratoire, on mesure la capacité des fibroblastes à produire de l'ATP, élément final de la chaîne de respiration. Aucune différence n'est relevée entre les deux populations de fibroblastes. La capacité de production énergétique n'est donc pas altérée.

Par contre, lors de la mesure du temps de doublement cellulaire, les fibroblastes des patients Triple-A présentaient un allongement significatif du temps de doublement cellulaire. Cette augmentation est de l'ordre de 36%.

5. Discussions

Bien que le gène *AAAS* soit exprimé de manière ubiquitaire, les patients atteints du syndrome Triple-A présentent des symptômes tissu-dépendant. Il y a une susceptibilité au niveau de quelques tissus (cœur, glandes lacrymales, glandes surrénales, neurones périphériques). Une question se pose alors car, cette pathologie présente un caractère multi-systémique mais une symptomatologie tissulaire spécifique, donc quel est le mécanisme pathogénétique pouvant expliquer cela ?

Le plus invalidant des symptômes de la maladie d'Allgrove sont représentés par les perturbations neurologiques, qui de plus, ne sont pas curables à l'heure actuelle. On note une dépréciation du système nerveux central, autonome et périphérique, avec plus tardivement des neuropathies mixtes, sensorielles et motrices (54). Cela suggère que les principales cellules affectées par les mutations du gène *AAAS* sont les neurones. Les symptômes neurologiques mais aussi l'alacrymie et l'achalasie sont secondaires à une dégénérescence neuronale progressive (55). Les neurones sont des cellules fortement consommatrices d'énergie par rapport aux autres cellules de l'organisme (56), leur activité mitochondriale est augmentée car les neurones ont besoin de maintenir en permanence leurs gradients ioniques au travers des membranes cellulaires (57).

Lors de conditions pathologiques, une augmentation de l'activité de la chaîne respiratoire peut conduire à un accroissement du stress oxydatif cellulaire. Généralement, une augmentation du stress oxydatif au sein des neurones apparaît comme étant l'événement déclenchant qui affecte la chaîne de respiration cellulaire et qui conduit le neurone à la mort cellulaire (58).

Au niveau de l'étude du Pr Huebner, sur les résultats à proprement parler ; seule l'expression de la catalase après induction pose ne présente pas de résultats cohérents car son augmentation est bien plus faible, et est de 30 % inférieur pour les fibroblastes Triple A en comparaison des fibroblastes contrôles (40). La cause de cette sous expression de la catalase n'est pas élucidée. Néanmoins, une diminution de l'expression de l'enzyme responsable de la détoxification du peroxyde d'hydrogène, au niveau de la matrice mitochondriale mais aussi au niveau du cytosol et des peroxysomes, peut expliquer la différence des résultats DHR et MitoSOX red (cf tableau figure 10).

Au niveau cellulaire, le nombre maximum de division est déterminé et l'on considère qu'une cellule se divise jusqu'à une limite, dite la limite de Hayflick. Chez l'Homme, le nombre maximum de division se situe aux alentours de cinquante deux. Une fois cette limite atteinte, les divisions suivantes sont dites divisions répliquative de sénescence (59).

Un stress cellulaire prolongé, à des niveaux sub-toxiques peut induire un arrêt de croissance irréversible et une sénescence prématurée, c'est **l'hypothèse SIPS** : Stress-Induced Premature Senescence (60). Au vue des résultats de l'étude, l'équipe du professeur Huebner émet l'hypothèse que les fibroblastes Triple-A subissent cette **sénescence prématurée**. Les signes de sénescence prématurée sont : une morphologie altérée, un temps de doublement cellulaire allongé, une amplification du nombre de copie d'ADN mitochondriale et une augmentation du degré de ROS mitochondriaux et cellulaires (61).

Néanmoins, l'hypothèse SIPS n'est pas suffisante pour expliquer l'origine des troubles inhérents au syndrome Triple-A. Les premiers effets du défaut de localisation de la protéine *ALADIN* au sein du complexe du pore nucléaire sont une diminution de l'importation nucléaire de la DNA ligase I, de l'aprataxine et de la chaîne lourde de la ferritine, démontré par l'étude sur les conséquences de la mutation I482S du gène *AAAS* (39). Ces protéines jouent toutes un rôle de protection et de réparation nucléaire pour les cellules.

La DNA ligase I et l'aprataxine ont une fonction de réparation des lésions simple brin de l'ADN. La chaîne lourde de la ferritine prévient les dommages dus au stress oxydatif et également les dommages induits par le rayonnement ultra-violet et le fer.

Lorsque l'importation de ces molécules ne se fait pas de manière convenable, cela conduit à une **amplification des ROS intracellulaire** causée par la **diminution de leur neutralisation**.

C'est l'hypothèse mécanistique de la maladie d'Allgrove, émise par l'équipe du Pr Huebner, conduisant à la dégénérescence neuronale prématurée. Le tableau caractéristique se compose de la triade symptomatologique « AAA » accompagné de neuropathies dégénératives invalidantes.

6. Conclusion

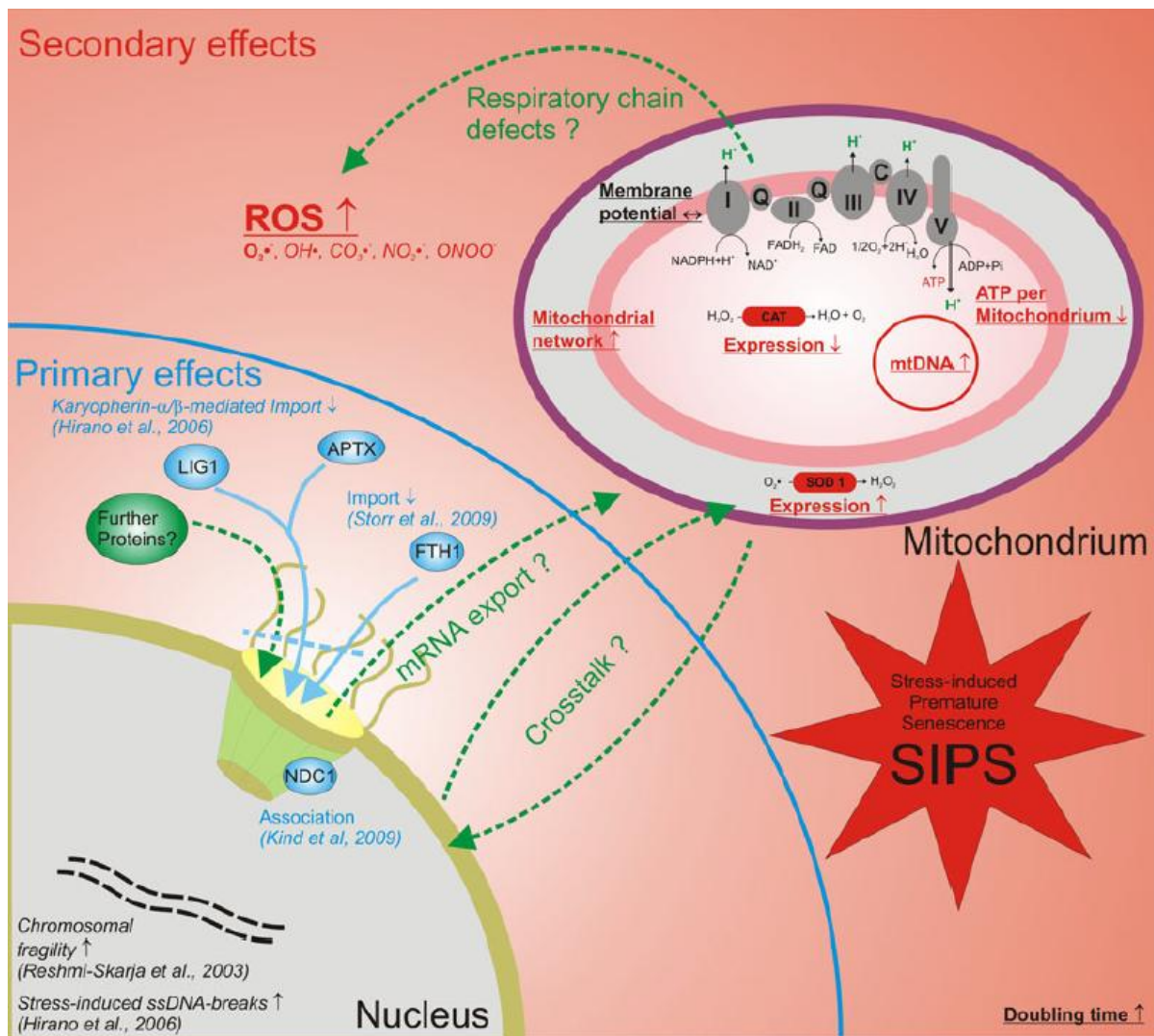
L'hypothèse de la sénescence prématurée induite par un stress oxydatif apparaît comme étant le meilleur mécanisme pathogénétique expliquant le syndrome Triple-A et étant compatible avec les affections neurodégénératives subies par les patients présentant le syndrome d'Allgrove. L'extrapolation des observations sur les fibroblastes vers les cellules neuronales permet d'émettre l'hypothèse que le syndrome Triple-A est causé par une augmentation intracellulaire du degré de stress oxydatif conduisant la cellule neuronale vers une sénescence prématurée et provoquant par la suite le phénomène neurodégénératif.

Ainsi, le défaut de localisation de la protéine *ALADIN*, au sein du complexe du pore nucléaire est consécutif à une mutation sur le gène *AAAS* codant *ALADIN*. Cette absence induit un défaut d'importation de molécules intranucléaires, molécules principalement à visée anti-oxydante (62). Lors de la respiration cellulaire, la mitochondrie produit des ROS qui sont normalement rapidement détoxifiés. Dans le syndrome Triple-A, cette détoxification est moins efficace et la concentration en ROS augmente, faisant entrer la cellule dans un stress oxydatif sub-toxique. Ce niveau de stress oxydatif engendre des lésions sur l'ADN et notamment l'ADN mitochondrial induisant un niveau de mutation supérieur (63). L'augmentation de la concentration des ROS induit donc un plus grand nombre de mutation, notamment sur la fonction de la chaîne de respiration, mutation qui engendre une augmentation de la production de ROS, qui engendre à son tour une augmentation du nombre de mutation (64). La cellule rentre dans un **cercle vicieux de mutation et de production de ROS**, ce qui provoquera une sénescence prématurée. **Les neurones présentent un niveau métabolique élevé et sont de fait particulièrement affecté par ce phénomène de SIPS.**

La spécificité tissulaire des symptômes dans le syndrome d'Allgrove reflète la différence de sensibilité des tissus et des organes par rapport à ce processus de sénescence prématurée, en prenant en compte la distribution tissulaire d'*ALADIN* au sein de l'organisme.

Le schéma ci-dessous (figure 25) permet de bien faire le lien entre tous les acteurs de cette étude, à savoir, les ROS et la mitochondrie, l'importation et l'exportation au travers des pores nucléaires ainsi que les conséquences du défaut d'importation de molécules à visée anti-oxydantes et réparatrices des lésions de l'ADN.

Figure 25 : Schéma illustrant les hypothèses du mécanisme pathogénétique dans la maladie d'Allgrove.



Partie III :

Méta-analyse

Etude de cas clinique

Discussion

1. Introduction

Pour cette troisième partie, mon but est de mettre en lumière de manière plus précise la prévalence des trois grands symptômes caractéristiques de la maladie d'Allgrove.

On a vu précédemment la complexité de la macrostructure qu'est le NPC, ainsi que les principales hypothèses patho-génétiques pouvant actuellement expliquer le syndrome Triple-A.

Dans un premier temps, je ferai ressortir la prévalence des différents symptômes de la triade « AAA » par le biais d'une méta-analyse épidémiologique basée sur les publications scientifiques de 2006 à 2013. Cette étude permettra également de mettre en évidence la difficulté de corrélation entre le génotype des patients et les phénotypes exprimés.

Dans un deuxième temps, on se penchera sur des patients suivis en consultation d'endocrinologie au sein du service du Pr PUGEAT. Cette analyse clinico-biologique permettra de mieux cerner la pathologie du point de vue des patients mais aussi du point de vue des équipes soignantes, afin de montrer la grande disparité symptomatologique que peuvent présenter les personnes atteintes de la maladie d'Allgrove.

On évoquera le suivi pluridisciplinaire auquel sont confrontés les patients Triple-A. Ce suivi est conséquent mais apparaît être indispensable pour une prise en charge adaptée.

Pour finir, on discutera des différents points mis en avant par la méta-analyse et l'étude des cas clinique.

2. Méta-analyse

2.1 *Prévalence des pathologies.*

Le syndrome d'Allgrove est une pathologie rare et, même s'il est de plus en plus évoqué dans la littérature, le **nombre de cas** décrit reste **restreint**. Le but de cette étude est de pouvoir effectuer une analyse statistique des proportions des symptômes de la triade exprimés ou non par les patients Triple-A. Ceci permettra d'avoir une meilleure idée de l'incidence de chacun des symptômes « AAA » au sein de la maladie d'Allgrove, puisque celle-ci présente une très **grande hétérogénéité physiopathologique**.

Pour cela, j'ai effectué un recueil de données sur le moteur de recherche *Pubmed*[®] en entrant dans la zone de recherche la requête suivante : "Triple A" OR "Allgrove syndrome" OR "AAAS ". Cette requête engendre 2412 résultats sur une période allant de 1946 à 2013. Il faut noter que de nombreux articles se réfèrent à l'anévrisme aortique abdominal de symbole AAAs. Néanmoins, en filtrant la recherche de 2006 à 2013 (avant 2006, le dépistage génétique n'était pas effectué ou pas connu), j'ai pu extraire les données génétiques et phénotypiques de 89 patients, provenant de 30 études différentes, de tous continents, en incluant les patients suivi à HFME (en rouge dans l'annexe 6).

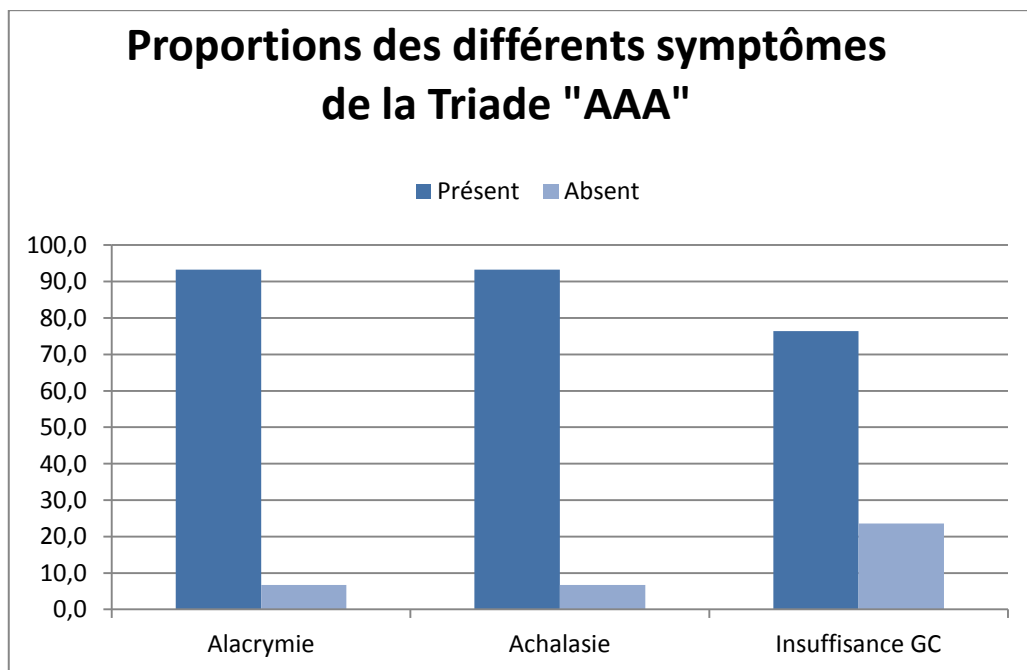
Bibliographie de la méta-analyse à l'annexe 7.

Afin d'éviter tous biais de sélection, j'ai inclus dans ce recueil de données uniquement les patients pour lesquels le **dépistage génétique** avait été effectué et correctement renseigné dans la publication. Il fallait également que la présence ou l'absence des symptômes de la **triade « AAA »** ai été clairement renseignés.

L'ensemble des données est concilié sous forme de tableau à l'annexe 6. Celui-ci contient la ou les mutations génétiques selon si le patient est homozygote ou hétérozygote composite, ainsi que le sexe, la présence ou l'absence de l'alacrymie, de l'achalasia et de l'insuffisance surrénalienne.

Au point de vue des résultats, il en ressort que **93,3 %** des patients diagnostiqués Triple-A présentent une alacrymie, **76,4 %** des patients présentent un déficit de production du cortisol et **93,3 %** présentent une achalasie (cf tableau VIII).

Tableau VIII : Histogramme des prévalences de la triade « AAA » issues de l'étude de 89 patients.



2.2 Statistiques :

Afin d'avoir une vision significative de ces trois pourcentages issus de la méta-analyse, j'ai calculé les intervalles de confiance de chacun des pourcentages. L'échantillon est de grande taille ($n=89$) donc la loi parente des proportions suit une loi normale centrée réduite.

Un risque α de 0,01 est utilisé, soit $u_\alpha = 2.576$ dans la table de l'écart réduit.

- Alacrymie : $f = 0.993$ et $s = \sqrt{f \times (1-f)/n}$ soit $s = 2,81 \times 10^{-3}$

$$i.C_{(1-\alpha)}(p) = f \pm u_\alpha \times \sqrt{f \times (1-f)/n}$$

$$i.C_{(99\%)}(p)_{\text{alacrymie}} =] 0,926 ; 0,940 [$$

Les conditions d'approximations *a posteriori* sont satisfaites.

L'incidence de l'alacrymie peut être estimée entre 92,6 et 94% chez les patients Triple A au risque α de 1 % d'après la méta-analyse.

- Achalasie : $f = 0.993$ et $s = \sqrt{f \times (1-f)/n}$ soit $s = 2,81 \times 10^{-3}$

$$i.C_{(1-\alpha)}(p) = f \pm u_\alpha \times \sqrt{f \times (1-f)/n}$$

$$i.C_{(99\%)}(p)_{\text{achalasie}} =] 0,926 ; 0,940 [$$

Les conditions d'approximations *a posteriori* sont satisfaites.

L'incidence de l'achalasie peut être estimée entre 92,6 et 94% chez les patients Triple A au risque α de 1 % d'après la méta-analyse.

- Déficit en Glucocorticoïdes : $f = 0.764$ et $s = \sqrt{f \times (1-f)/n}$ soit $s = 4,50 \times 10^{-2}$

$$i.C_{(1-\alpha)}(p) = f \pm u_\alpha \times \sqrt{f \times (1-f)/n}$$

$$i.C_{(99\%)}(p)_{\text{déficit GC}} =] 0,648 ; 0,880 [$$

Les conditions d'approximations *a posteriori* sont satisfaites.

L'incidence du déficit en glucocorticoïdes peut être estimée entre 64,8 et 88% chez les patients Triple A au risque α de 1 % d'après la méta-analyse.

Pour l'achalasie et l'alacrymie, l'intervalle de confiance est étroit, pour le déficit en glucocorticoïdes, l'intervalle de confiance est bien plus large. Néanmoins le risque α de l'analyse statistique n'est seulement que de 1% ($p\text{-value} = 0,01$).

2.3 Résultats

Ces résultats sont cohérents avec les tendances évoquées dans les publications. L'alacrymie est le symptôme présentant une très grande prévalence et généralement, c'est cette alacrymie qui semble apparaître en premier. Un grand nombre de patients développe cette déficience dès les premiers mois de vie. Parfois, chez certains patients sévèrement atteints et de manière précoce, les signes d'atteintes neuropathiques apparaissent en premier, ou de manière concomitante à l'alacrymie.

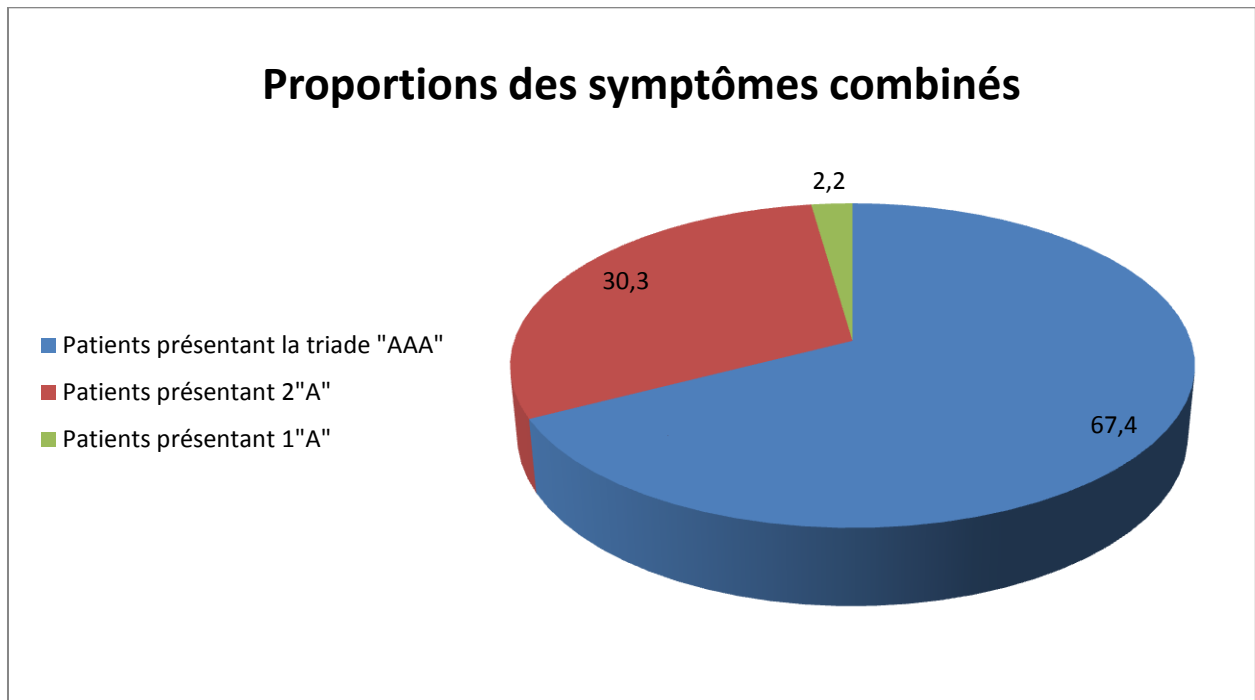
Au niveau de l'achalasia, c'est également un symptôme présentant une très forte prévalence. Néanmoins, le développement de cette atteinte est plus lent, commençant généralement par des troubles mineurs. Par la suite, une vraie symptomatologie dysphagique s'installe conduisant à l'achalasia à proprement parler qui nécessite une intervention chirurgicale le plus souvent.

La prévalence de l'achalasia et de l'alacrymie est en accord avec les atteintes neuropathiques puisque leur processus physiologique fait appel à l'innervation du système nerveux autonome (25) (27).

Le déficit surrénalien représente le symptôme ayant la plus faible prévalence. Le déficit en glucocorticoïde est largement majoritaire par rapport au déficit minéralocorticoïdien et androgénique dans le cadre d'une insuffisance surrénalienne globale chez les patients Triple-A. Ce déficit en cortisol est présent chez plus de 76 % des patients.

Si l'on se réfère aux patients génotypés (cf tableau IX), une grande majorité, soit **68 %** d'entre eux, présentent les trois symptômes de la triade « AAA ».

Tableau IX : Diagramme représentant les différentes proportions de symptômes combinés au sein de la triade « AAA ».



A ce propos, on peut s'interroger sur l'**âge** des patients décrits au sein des publications. Les symptômes apparaissent au cours de l'enfance avec notamment une insuffisance surrénalienne qui se déclare durant la première, la deuxième voire la troisième décennie de vie pour certains patients. Ainsi, l'âge du patient lors de sa description dans la publication apporte un biais sur l'établissement de ces proportions. A l'instant « t » où le patient est décrit, le tableau clinique ne peut pas être considéré comme définitif. Le patient peut ne pas présenter l'ensemble des symptômes car le recueil de données n'est effectué qu'à cet instant « t ».

En revanche, le fait que **68 %** des patients développent la totalité de la triade symptomatologique « AAA » démontre bien que ces trois symptômes ont une très forte prévalence dans la maladie d'Allgrove et en sont indissociables.

30 % des patients présentent deux des trois symptômes et seulement **2 %** des patients ne présentent qu'un seul symptôme.

Le manque de données suffisamment précises sur l'âge d'apparition de chacun des symptômes constituant la triade « AAA » ne permet pas d'atténuer le biais constitué par l'âge des patients. Une étude épidémiologique longitudinale avec un nombre de cas suffisamment grand ($n > 30$) aurait permis de mettre en relief de manière plus précise ces différentes proportions.

Le diagnostic génétique est de plus en plus fréquemment utilisé dans la maladie d'Allgrove, au fur et à mesure que la connaissance de cette pathologie s'étend. Des patients pris en charge de plus en plus précocement et génotypés, permettront à l'avenir d'affiner ces statistiques.

2.4 Corrélation Génotype - Phénotype.

Dans une des études ayant servi de support à la méta-analyse, huit patients, appartenant à six familles différentes, présentent le même génotype (hétérozygotie composite c.787T>C sur un allèle du gène et c.1261_1262insG sur le deuxième allèle) (65).

Au regard des phénotypes de la triade « AAA » (cf encadrés rouges du tableau 7), ceux-ci sont tous différents entre eux quand bien même certains patients appartiennent à une même famille (cas n° 5 et 11, cf encadrés noirs du tableau 7).

Les manifestations cliniques de neuropathie suivent également une distribution anarchique sans rapport avec le génotype (cf encadré bleu du tableau 7).

Il n'y a donc pas de corrélation pour les pathologies même en tenant compte de l'âge des patients.

Cette observation sera également étayée dans l'étude des cas cliniques suivis en endocrinologie à HFME au sein du service du Pr PUGEAT.

Tableau X : Mise en évidence de la mauvaise corrélation génotype/phénotype (65).

Fam. no.	1	5	5	11	11	14	15	16
General characteristics								
Sex	M	M	M	M	F	F	F	M
Age of onset (yrs)	2.1	3.5	2.0	0	0	10.0	–	0.2
Age at data ascertainment (yrs)	7.7	5.6	2.3	21.2	17.3	21.0	18.0	22.1
Endocrine symptoms								
Glucocorticoid deficiency	yes	yes	yes	no	no	no	yes	yes
Age of onset of glucocorticoid deficiency (yrs)	2.1	3.5	2.4	–	–	–	–	8.5
Mineralocorticoid deficiency	no	yes	no	no	no	no	no	no
Age of onset of mineralocorticoid deficiency (yrs)	–	7.0	–	–	–	–	–	–
Achalasia	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes
Age of onset of achalasia (yrs)	12.0	3.5	2.0	18.0	0	–	–	9.5
Alacrima	yes	yes	yes	yes	yes	no	yes	yes
Age of onset of alacrima (yrs)	2.5	3.5	2.0	–	–	–	–	–
Puberty	late	pre	pre	–	–	normal	–	normal
Dermatological symptoms								
Palmoplantar hyperkeratosis	no	yes	yes	no	–	no	–	yes
Cutis anserina	yes	no	no	no	–	no	yes	yes
Fungiform papillae of the tongue	no	no	no	–	–	no	–	no
Poor wound healing	yes	yes	–	–	–	–	–	yes
Neurological symptoms								
Muscle wasting/muscle weakness	yes	yes	no	yes	yes	no	–	yes
Hyperreflexia	yes	yes	no	yes	–	no	yes	yes
Ataxia	yes	yes	no	yes	yes	–	–	yes
Anisocoria	yes	no	no	–	–	–	–	yes
Optic atrophy	no	no	no	–	–	no	–	no
Nasal speech	yes	no	no	no	–	yes	yes	yes
Pes cavus	no	yes	no	yes	yes	yes	–	no
Sensory impairment	no	no	no	yes	yes	–	–	no
Visual problems	yes	no	no	yes	–	yes	–	no
Postural hypotension	no	yes	no	no	–	no	–	no

yrs=years; M=male; F=female; yes=symptom present; no=symptom not present; –=not reported

Nous allons maintenant étudier plus en détails des patients suivis à HFME en consultation d'endocrinologie dans le service du Pr PUGEAT, et notamment avec le Dr Aude BRAC de la PERRIERE, lors de mon année hospitalo-universitaire.

3. Etudes de cas cliniques.

3.1 Description générale des patients.

Nous allons étudier cinq cas de patients qui seront évoqués et résumés sous forme de tableaux pour une analyse plus synthétique et plus didactique. Au sein de ces cinq patients, quatre d'entre eux appartiennent à deux familles différentes (n° 2-3 et 4-5), et sont par ailleurs porteur du même génotype. Le tableau XI consigne les principales informations recueillies.

Tableau XI : Mise en évidence des symptômes « AAA » ainsi que des traitements associés.

Patient	1	2	3	4	5
Génotype	Hétérozygote composite	Homozygote IVS14+1G>A	Homozygote IVS14+1G>A	352delT / 1176delTTCinsA	352delT / 1176delTTCinsA
Sexe	F	M	F	F	F
Année de naissance	1989	1984	1981	1959	1950
IMC	15,9	14	-	25,7	-
Alacrymie	+	+	+	+	+
traitement	-	Larmes artificielles 3x/jour	-	-	-
Achalasie	+	+	+	+	+
traitement	Myotomie à 14 ans + pantoprazole 40/0/40 mg	Myotomie durant l'enfance Tox. botulique en 2010	Myotomie à l'adolescence	Myotomie à 30 ans + lansoprazole 0/0/15mg	6 dilatations + Myotomie à 30 ans
Déficit GC	+	+	+	+	+
traitement	HC 20/10/0 mg	HC 10/10/0 mg	HC 15/10/0 mg	HC 10/5/0 mg	HC 10/5/0 mg
Déficit MC	+	-	-	-	-
traitement	9α-FC : 25/0/25 µg	-	-	9α-FC : 50/25/0 µg	-

Parmi les patients, (n°2 & 3) sont frère et sœur avec des parents consanguins (les parents sont cousins germains), ce qui augmente la probabilité de survenu d'une maladie autosomique récessive. En ce qui concerne la patiente (n°1), la fratrie n'est pas atteinte ce qui est en faveur d'une mutation *de novo* (nous ne disposons pas de l'étude génétique parentale malheureusement).

Au niveau du tableau 8, j'ai volontairement inclus l'indice de masse corporel pour montrer que certains patients présentent une maigreur conséquente liée à cette achalasie. Les difficultés d'alimentation sont courantes surtout lorsque l'achalasie s'est déclarée durant l'enfance. A ce sujet, la patiente n°1 avait été diagnostiquée pour une anorexie mentale durant l'adolescence. Il y a eu internement dans un centre spécialisé durant un mois, avec pose de stomie pour effectuer une nutrition gastrique directe. Les patients n°1 et n°2 bénéficient régulièrement de compléments alimentaires hypercaloriques hyperprotéinés à raison d'une boisson par jour de 200 ml en complément des trois repas conventionnels. Ceci permet de limiter la perte de poids, voire de le stabiliser, et d'éviter un état de carence.

Pour terminer sur l'achalasie, on remarque que les patients sont souvent traités par inhibiteur de la pompe à protons à fortes doses pour contrer les effets indésirables d'un sphincter dilaté ou myotomisé favorisant un reflux gastro-œsophagien.

Il est à noter que les cinq patients présentent une alacrymie mais qu'un seul d'entre eux bénéficie d'un traitement substitutif régulier par larmes artificielles. Cette notion se retrouve dans les données recueillies de la méta-analyse. Bien que les traitements fussent indiqués, un traitement substitutif par larmes artificielles était rarement instauré.

Dernière remarque, la patiente 4 prend un traitement substitutif en minéralocorticoïdes à raison de 75 µg de fludrocortisone alors qu'elle ne présente qu'un déficit isolé en glucocorticoïdes. On peut l'expliquer par la présence d'une hypotension orthostatique importante non correctement contenue malgré la prise de 4 comprimés de midodrine (Gutron® : α_1 sympathomimétique direct) par jour. La prise de minéralocorticoïde permet d'avoir une action synergique avec le Gutron® sur la pression artérielle de la patiente.

3.2 Profil neuropathique des 5 patients.

On s'intéresse ici au profil neuropathique exprimé par ces cinq patients, dont certains ont quasiment deux générations d'écart. Ceci permet d'aborder l'effet « âge » sur le développement de ces neuropathies (cf tableau XII).

Tableau XII : Résumé des atteintes neuropathiques développées par les patients de HFME.

Patients	1	2	3	4	5
Symptômes					
Rhinolalie	+	+	+	+	+
Langue fasciculée				+	+
Hyperéflexie	+			+	
Hypotension orthostatique				+	
Ataxie cérébelleuse				+	
Syndrome pyramidal		+		+	+
Douleurs neuropathiques Membre inf.	+				+
Pes cavus		+			+
Amyotrophie	+	+	+	+	
Autres	Atrophie éminences thénar, hypothénar & Tremblements	Marche illimité mais lente	Vessie neurologique	Périmètre de marche : 30 m avec cannes Transpiration abondante globale	Atteintes noyaux moteurs du VII & XII Périmètre de marche : 200 m avec cannes

D'après le tableau IX, on remarque que la **voie nasonnée** (rhinolalie ; consécutive à une insuffisance vélaire) est un symptôme récurrent chez les patients Triple-A. D'ailleurs, cela s'entend et se remarque très facilement lorsque l'on est confronté à ces patients en consultation clinique.

Pour les deux sœurs (n° 4 & 5), on remarque une grande hétérogénéité symptomatologique entre elles ; néanmoins elles se rapprochent sur leur grande difficulté à la marche. L'une d'elle, la plus jeune de surcroit, ne peut se déplacer que dans un rayon de 30 m à l'aide de canne. Ceci, permet d'évoquer l'aspect **invalidant** de cette pathologie et évidemment, le confort de vie de ces patients se trouve fortement impacté.

4. Le suivi pluridisciplinaire

Les patients atteints du syndrome Triple-A ne sont pas, le plus souvent, pris en charge par un **service d'endocrinologie pédiatrique**. Néanmoins, si le diagnostic est posé précocement ou que les premiers symptômes sont intenses, ces patients arrivent directement dans un service d'endocrinologie pédiatrique.

Le diagnostic se pose généralement dans trois conditions :

- soit le patient présente des épisodes d'insuffisance surrénalienne, il est alors pris en charge par le **service d'endocrinologie** qui le dépiste, et un traitement substitutif à vie est alors instauré en fonction des résultats des tests dynamiques. Un fois en place, le traitement permet d'éviter les décompensations.
- soit les troubles dysphagiques apparaissent en premier et là, l'aiguillage vers le service d'endocrinologie est plus difficile via le **service de gastro-entérologie**, car il faut faire le lien avec la pathologie. C'est une source importante d'errance diagnostique.
- Dernier cas de figure, le patient présente des troubles neuropathiques, qui après investigations amène vers un syndrome Triple-A ; à condition que le **service de neurologie** connaisse la pathologie et que le patient présente un deuxième symptôme de la triade « AAA ».

Quoi qu'il en soit, chaque patient est suivi par chaque spécialiste afin d'adapter au mieux la prise en charge.

En service d'endocrinologie, on réalise des tests dynamiques et des dosages pour surveiller la fonction endocrine générale des glandes surrénales.

Un bilan régulier en **neuro-ophtalmologie** est effectué afin de surveiller l'apparition de kératites punctiformes superficielles et d'atrophie du nerf optique.

Les troubles dysphagiques très invalidants sont pris en charge par un gastro-entérologue qui réalise régulièrement des manométries, des pH-métries pour surveiller l'évolution de l'achalasie et éventuellement d'un reflux gastro-œsophagien surajouté.

Enfin, le neurologue réalise régulièrement des bilans et son rôle devient prépondérant au fur et à mesure que la pathologie progresse. Le fait d'effectuer ces bilans neurologiques complets et réguliers permet d'avoir une bonne idée de l'atteinte et de la vitesse de progression de ces neuropathies.

5. Discussion

Les articles scientifiques sont différents que l'on soit avant ou après le génotypage, mais a-t-on besoin du diagnostic génétique ?

Ce diagnostic génétique apporte un biais au niveau de l'âge de survenue des symptômes. On ne peut pas décrire précisément un patient quand bien même le génotypage est établi. Les symptômes apparaissent au cours de la vie du patient en s'aggravant. Un tableau clinique caractéristique marqué peut suffire à l'établissement du diagnostic de maladie d'Allgrove.

La corrélation entre l'âge et la gravité de la symptomatologie n'est pas toujours claire. Certains patients présentent un tableau clinique pauci-symptomatique qui ne permet pas d'établir des perspectives d'évolution. C'est ce que l'on voit chez nos patients.

Le diagnostic génétique permet par contre, par l'étude des parents et de la fratrie du probant, d'estimer si l'atteinte est dû à de la consanguinité ou s'il s'agit d'une mutation *de novo*.

Enfin, la difficulté diagnostique se pose lorsqu'un seul signe est présent et cela engendre une errance diagnostique prolongée.

Il en ressort également que l'alacrymie est le symptôme de la triade « AAA » entraînant le moins de plainte de la part des patients. De plus cette absence de production de larmes est palliée facilement par l'administration de collyres.

La maladie d'Allgrove est une pathologie rare dont la fréquence reste non établie. Cette affection multiviscérale présente une grande variabilité d'expression dans le temps et dans la sévérité des atteintes d'expression, qui restent imprévisibles.

Le diagnostic génétique peut aider les cas pauci-symptomatiques pour mieux suivre ces patients et dépister d'éventuelles atteintes menaçantes comme le déficit surrénalien.

L'importance de la prise en charge multidisciplinaire est certaine, tout comme la divulgation des connaissances sur cette pathologie dont le pronostic est grévé par l'atteinte neuropathique.

Conclusion

Le syndrome Triple A est une maladie neuro-endocrinienne présentant une errance diagnostique importante. Une grande hétérogénéité de tableaux cliniques interviennent, rendant l'approche difficile au sein de cette maladie.

Désormais, le diagnostic génétique apporte un confort pour les praticiens, même si celui-ci n'est pas encore largement répandu. En revanche, l'absence de corrélation entre le génotype et le phénotype exprimé par les patients apporte une difficulté supplémentaire dans la prise en charge, aucun tableau clinique précis ne pourra être envisagé.

La maladie d'Allgrove trouve son origine au niveau de la macrostructure du complexe du pore nucléaire, suite à la mutation de la nucléoporine ALADIN. Pour l'heure, plusieurs hypothèses pathogénétiques sont émises afin d'expliquer ce syndrome. Les mutations génétiques impactent cette nucléoporine et empêchent son incorporation au sein du NPC via la nucléoporine NDC-1. ALADIN joue un rôle actif dans l'importation de protéines antioxydantes au sein du nucléoplasme via le NPC. Ce défaut d'importation engendre l'augmentation du stress oxydatif cellulaire. Les cellules et notamment les neurones, entrent dans un état de sénescence prématurée induit par un stress oxydatif sub-toxique continu.

Le syndrome Triple A touche majoritairement les glandes lacrymales, l'œsophage et les glandes surrénales. Cette préférence histologique demeure incomprise même si l'hypothèse de la dégénérescence neuronale semble expliquer les deux premiers symptômes (alacrymie et achalasie). En outre, il a été démontré que la composition en nucléoporine du NPC n'est pas ubiquitaire au sein de l'organisme. Cette approche pourrait expliquer en partie la grande disparité d'atteinte tissulaire que l'on retrouve chez les patients atteints de la maladie d'Allgrove.

Les neuropathies quant à elles, restent très disparates en nombre et en intensité, rendant la prise en charge complexe. Les options thérapeutiques s'y référant restent extrêmement pauvres, ainsi, la vie quotidienne des patients est fortement impactée par ces symptômes neuropathiques d'évolution constante.

- **Annexes**

Annexe 1 : Tableau de correspondance entre nucléoporines et masse moléculaire.

1	Nup358/RanBP2	NP_006258	358
2	Tpr	NP_003283	266
3	Tpr	NP_003283	266
	Nup358 ^c	NP_006258	358
4	Tpr	NP_003283	266
	Nup358 ^c	NP_006258	358
5	Nup214/CAN	NP_005076	214
	Nup358 ^c	NP_006258	358
6	gp210	P11654 (rat)	204
	Nup205	BAA13214	228
7	Nup188	BAA11486	196 ^d
	Nup153	NP_005115	154
8	POM121	A40670 (rat)	121
	SMC1	NP_006297	143
9	Nup155	CAA07553	155
	Nup160/Nup120	BAA12110	159 ^d
10	Nup133	NP_060700	129
11	Matrin3	NP_061322	95
12	Nup96	NP_005378	96
13	Nup107	NP_065134	106
14	Nup98	NP_005378	90
	PSF	NP_005057	76
15	Nup98	NP_005378	90
16	Importin-β	NP_002256	97
17	Nup93	NP_055484	93
18	Nup88/Nup84	NP_002523	84
	RanGAP1	NP_002874	64
	SUMO-1	NP_003343	11
19	LAP1C (long isoform)	AAA69914 (rat)	57
	LAP1C (short isoform)	AAA69915 (rat)	52
	hnRNP M	NP_005959	78
	Lamin A	CAA27173	77
20	Hsc70	NP_006588	71
	hnRNP M	NP_005959	78
	TAP	NP_006353	70
21	Nup62	NP_057637	53
	RanGAP1	NP_002874	64
	FLJ12549	AAM76706	75
22	Nup58 (rat)	AAC52789	59
	Lamin C	CAA27174	65
	ALADIN/AAAS/Adracalin	NP_056480	60
23	Nup54	NP_059122	55
24	Nup50/NPAP60	NP_009103	50
	LAP2	NP_037019 (rat)	50
25	UDP Glucosyl Transferase (UGT) ^e	-	-
26	Nup45 (rat)	AAC82318	52
	UGT ^e	-	-
27	UGT ^e	-	-
28	NLP1/hCG-1	NP_031368	45
	p42	AAM76708	42
	Actin ^e	-	-
29	RAE1/Gle2	NP_003601	41
	HSD3B1	NP_000853	42
	HSD3B2	NP_000189	42
30	Histone macroH2A ^e	-	-
31	Sec13-like (Sec13L)	AAM76707	40
32	p37	AAM76705	37
	Sec13-related (Sec13R)	NP_109598	36
33	MP-44	AAM76704	35

^aUnless otherwise stated, accession numbers are for human proteins.

^bPredicted from amino acid sequence.

^cProteolysis product or alternative isoform.

^dEstimated molecular weight. Exact 5' end of sequence unknown.

^eExact isoform not determined although, in most cases, it appears that several distinct isoforms may be present in a single band.

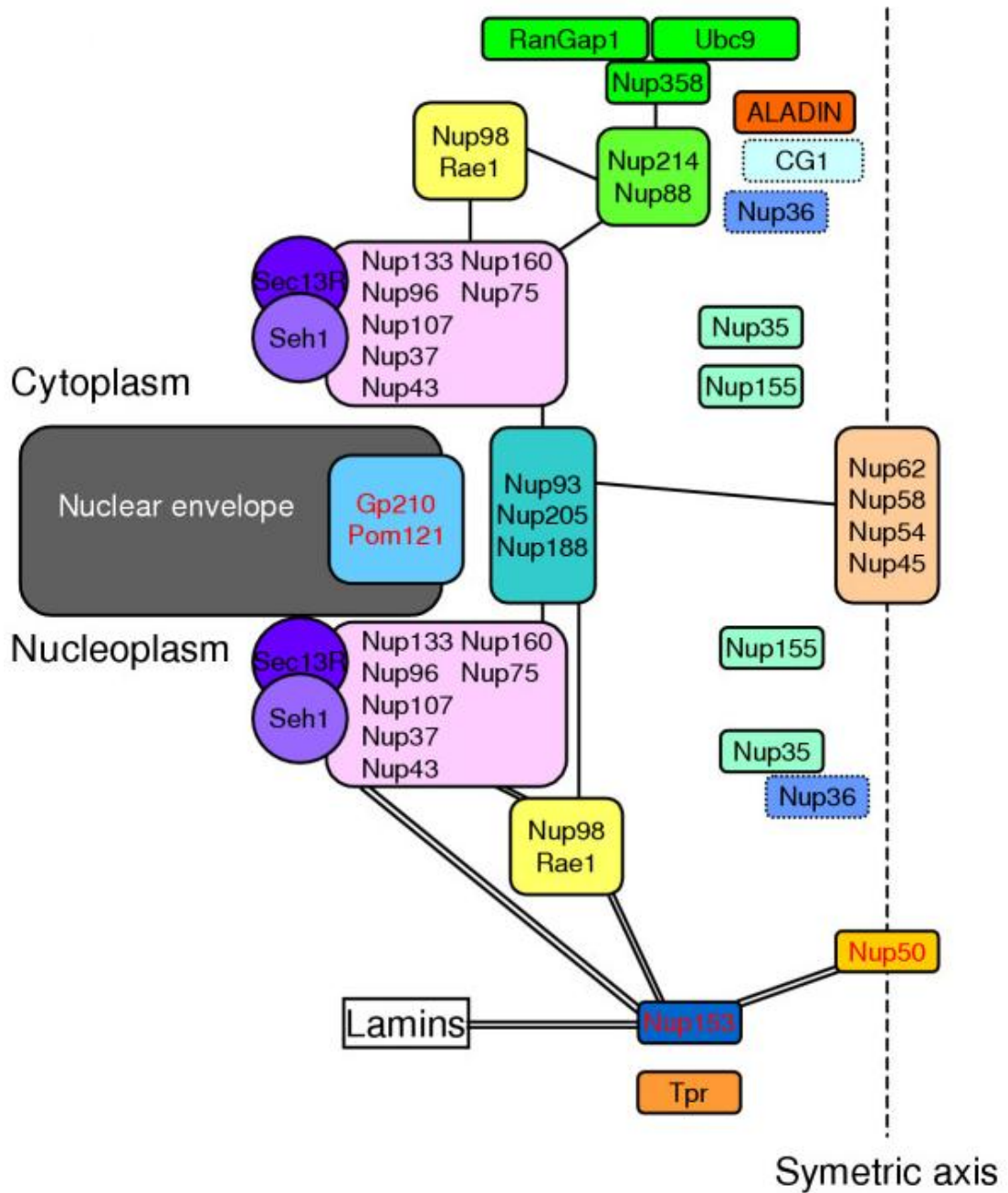
Annexe 2 : Tableau indiquant l'abondance variable des différentes nucléoporines par NPC.

Relative abundance of mammalian nucleoporins

Nucleoporin	Relative abundance^a
Nup358	8
Tpr	16
Nup214	8
gp210	16
Nup205	16
Nup153	8
Nup188	8
POM121	8
Nup155	32
Nup160	8
Nup133	16
Nup96	16
Nup107	32
Nup98	8
Nup93	32–48
Nup88	32
Nup62	16
Nup75 (FLJ12549)	16
Nup58	48
ALADIN	8
Nup54	32–48
Nup50	32
Nup45	32
NLP1	16
Nup43 (p42)	16
RAE1	48
Seh1 (Sec13L)	16–32
Nup37 (p37)	16–32
Sec13R	16–32
Nup35 (MP-44)	16–32

^aCopies per NPC.

Annexe 3 : Représentation axiale des différents constituants d'un complexe du pore nucléaire.



Annexe 4 : Tableau consignant les différents motifs présent dans les nucléoporines.

Nup	Nup subcomplexes	Localization ^a	Motifs ^b									Disease	
			FG	WD	Gly	RBD	ZF	CC	LZ	AH	EF		
Nup358	?	C	Y			Y	Y			Y			
Tpr	Nup98	N							Y	Y			Oncogenic fusions
Nup214	Nup88	C	Y		Y				Y	Y	Y		Oncogenic fusions
gp210	Nup62												
gp210	POM121	PM			Y							Y	PBC autoantibodies
Nup205	Nup188/Nup93	?								Y			
Nup153	Nup107 complex ^c	N	Y		Y			Y					
Nup188	Nup205/Nup93	?											
POM121	gp210	PM	Y		Y								
Nup155	?	C,N											
Nup160	Nup107 complex ^c	N											
	Nup98												
	Nup153												
Nup133	Nup107 complex ^c	C,N											
	Nup98												
	Nup153												
Nup96	Nup107 complex ^c	N											
	Nup98												
	Nup153												
Nup107	Nup107 complex ^c	C,N								Y			
	Nup98												
	Nup153												
Nup98	RAE1	N	Y		Y								Oncogenic fusions
	Nup107 complex ^c												
	Tpr												
Nup93	Nup62	N							Y				
	Nup205/Nup188												
Nup88	Nup214	C							Y				Upregulated in some tumors
Nup62	Nup62 complex ^d	C,N	Y		Y				Y				PBC autoantibodies
	Nup214												
Nup75	?	?											
Nup58	Nup62 complex ^d	C,N	Y		Y				Y				PBC autoantibodies
ALADIN	?	?		Y									AAAS
Nup54	Nup62 complex ^d	C,N	Y		Y				Y				PBC autoantibodies
Nup50	Nup153	N	Y				Y						
Nup45	Nup62 complex ^d	C,N	Y		Y				Y				PBC autoantibodies
NLPI	?	C	Y					Y					
Nup43	?	?		Y					Y				
RAE1	Nup98	N		Y									
Seh1	?	?		Y									
Nup37	Nup107 complex ^c	?		Y									
	Nup98												
	Nup153												
Nup35	?	?								Y			

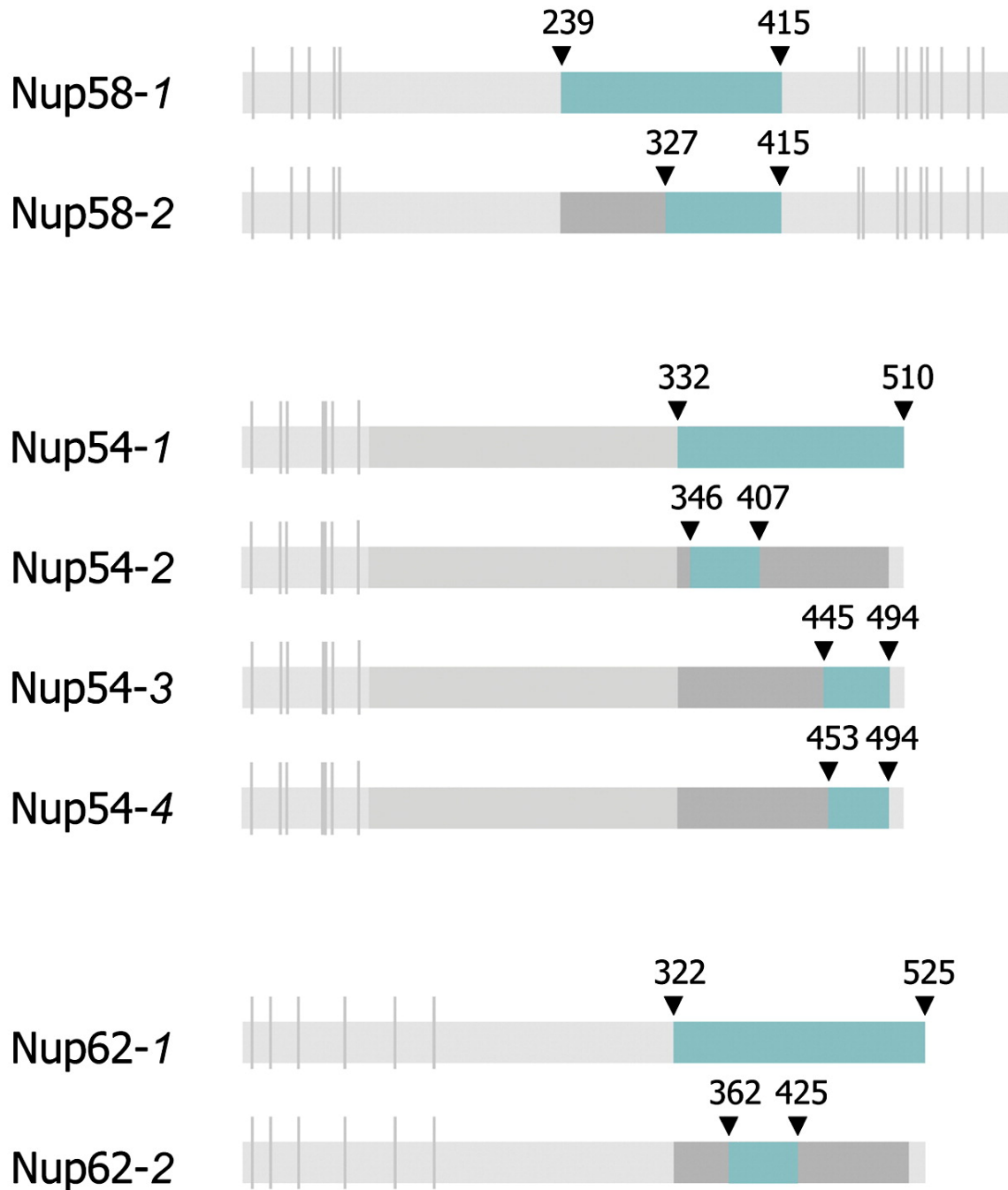
Unless specifically discussed in the text, data are summarized from previously published reports (Allen et al., 2000; Ryan and Wentte, 2000; Vasu and Forbes, 2001).
^aC, cytoplasmic face; N, nucleoplasmic face; PM, pore membrane.

^bFG, FG repeats; WD, WD repeats; Gly, glycosylated; RBD, Ran-binding domain; ZF, zinc fingers; CC, coiled coil; LZ, leucine zipper; AH, amphipathic helix; EF, EF hand.

^cNup107 complex: Nup160, Nup133, Nup107, Nup96, Nup37, Sec13.

^dNup62 complex: Nup62, Nup58, Nup54, Nup45.

Annexe 5 : Représentation des isoformes des nucléoporines du canal central.



Annexe 6 : Tableau de données réalisé lors de la méta-analyse (p=protéine ; c=ADN codant).

Cas n°	Mutation	Sexe	Alacramia	Achalasia	Adrenal failure
1	c.429delT/c.1142T > G	M	1	1	1
2	c.577C>T/p.Gln193X	M	1	1	1
3	c.43C > A/c.43C > A	F	1	1	1
4	S296Y/S263P	F	1	0	1
5	S296Y/S263P	M	1	0	1
6	G14fs/S263P	M	1	1	1
7	G14fs/S263P	M	1	1	1
8	G14fs/Q387X	M	1	1	1
9	G14fs/Q387X	F	1	1	1
10	Q387X/Q387X	M	1	1	1
11	S263P/S263P	F	1	1	1
12	IVS 14 + 1G>A/C.56A>G	M	1	1	0
13	R194X/R194X	M	1	1	1
14	c.433C>T/c.1031T>A	M	1	1	1
15	mutation HZ exon 4	/	1	1	1
16	p.R342X/p.R342X	/	1	1	1
17	p.R342X/p.R342X	/	1	1	1
18	IVS 4-2A->G/IVS 4-2A->G	/	1	1	1
19	c.500C > T/c.500C > T	F	1	1	0
20	c.500C > T/c.500C > T	F	1	1	0
21	c.500C > T/c.500C > T	M	1	1	0
22	869 T->C/869 T->C	M	1	1	1
23	IVS14+1G>A/IVS14+1G>A	M	1	1	1
24	1148-1149 del CT/1148-1149 del CT	M	1	1	0
25	1016 C->T/945 C->T	F	1	1	0
26	125 C->A/125 C->A	F	1	1	0
27	c.561 G > A/c.561 G > A	F	1	1	1
28	c.887C>A/c.787T>C	F	1	1	1
29	c.887C>A/c.787T>C	M	1	0	1
30	c.787T>C/c.787T>C	M	1	1	1
31	p.Q387X/p.Q387X	M	1	1	1
32	p.R342X/p.R342X	M	1	1	1
33	p.H160R/p.H160R	F	1	1	1
34	IVS14G>A/IVS14G>A	M	1	1	1
35	p.W84X/p.W84X	F	1	0	1
36	p.W295X/p.W295X	M	1	1	1
37	p.W295X/p.W295X	M	1	1	0
38	IVS14G>C/IVS14G>C	F	1	0	1
39	p.W295X/p.W295X	M	1	1	1
40	p.R119X/K301N	M	1	1	0

41	p.W84X/L430F	F	1	1	0
42	c.787T>C/c.479A<G	F	1	1	1
43	c.1159C>/c.1432C>T	F	0	1	1
44	c.787T>C/c.1261_1262insG	F	1	1	1
45	c.787T>C/c.1261_1262insG	M	1	1	1
46	c.787T>C/c.1261_1262insG	M	1	0	0
47	c.251G>A/c.251G>A	M	0	1	1
48	c.123+2T>C/c.479A>G	M	0	1	0
49	V313A/V313A	M	1	1	1
50	R155H/W324X	M	1	1	0
51	I482S/I482S	M	1	1	1
52	I482S/I482S	F	1	1	1
53	A167V/A167V	M	1	1	1
54	G14fs/L464P	F	1	1	1
55	R155H/R155H	M	1	1	0
56	c.1538T > C/ c.1538T > C	F	1	1	1
57	c.1538T > C/c.43C >A	M	1	1	1
58	c.618delC/c.618delC	M	1	1	1
59	c.618delC/c.618delC	M	1	1	1
60	G15K/c.1186insC	M	1	1	0
61	G15K/c.1186insC	F	1	1	1
62	c.122A>G/122A>G	/	1	1	0
63	c.1304delA/c.1292-1294delTTCinsA	M	1	1	1
64	A167V/A167V	M	1	1	1
65	c.251G>A/ c.1288C>T	F	1	1	0
66	p.W84X/ p.W84X	M	1	1	1
67	c.1191insA/ c.IVS 14+1, G>A	M	1	1	1
68	c.1191insA/ c.IVS 14+1, G>A	F	1	1	1
69	c.787T>C/c.1261_1262insG	M	1	1	1
70	c.787T>C/c.1261_1262insG	M	1	1	1
71	c.787T>C/c.1261_1262insG	M	1	1	1
72	c.787T>C/c.1261_1262insG	M	1	1	0
73	c.787T>C/c.1261_1262insG	F	1	1	0
74	c.787T>C/c.1261_1262insG	F	0	1	0
75	c.787T>C/c.1261_1262insG	F	1	1	1
76	c.787T>C/c.1261_1262insG	M	1	1	1
77	c.57_58delTG/57_58delTG	M	1	1	1
78	c.771delG/c.771delG	F	0	1	1
79	p.R342X/p.R342X	F	1	1	1
80	IVS5+1G →A/IVS5+1G →A	M	0	1	1
81	IVS5+1G →A/IVS5+1G →A	F	1	1	0
82	G14fs → STOP	F	1	1	1
83	G14fs → STOP	F	1	1	1
84	c.580C --> T/c.771delG	/	1	1	1
85	p.R194X/Gln387X	M	1	1	1
86	IVS14+1G>A/IVS14+1G>A	M	1	1	1
87	IVS14+1G>A/IVS14+1G>A	F	1	1	1
88	p352delT/F431X	F	1	1	1
89	p352delT/F431X	F	1	1	1
	Total = 89 patients		83	83	68

Annexe 7 : Bibliographie de la méta-analyse.

- 1 - Clinical and genetic characterization of a Chinese patient with triple A syndrome and novel compound heterozygous mutations in the AAAS gene. Yang H, Zhang H, Lu L, Wang O, Xing X, Zhang M, Lu Z. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2013;26(3-4):389-91.
- 2 - The genetic basis of triple A (Allgrove) syndrome in a Greek family. Papageorgiou L, Mimidis K, Katsani KR, Fakis G. *Gene.* 2013 Jan 10;512(2):505-9.
- 3 - Allgrove syndrome (triple A). Finding of a mutation not described in the AAAS gene]. Capataz Ledesma M, Méndez Pérez P, Rodríguez López R, Galán Gómez E. *An Pediatr (Barc).* 2013 Feb;78(2):109-12.
- 4 - Long-term clinical follow-up and molecular genetic findings in eight patients with triple A syndrome. Dumić M, Barišić N, Kusec V, Stingl K, Skegro M, Stanimirović A, Koehler K, Huebner A. *Eur J Pediatr.* 2012 Oct;171(10):1453-9.
- 5 - Triple A syndrome in a patient with genetic growth hormone insensitivity: phenotypic effects of two genetic disorders. Marín S, Casano-Sancho P, Villarreal-Peña N, Sebastiani G, Pinillos S, Pérez-Dueñas B, Hwa V, Rosenfeld RG, Ibáñez L. *Horm Res Paediatr.* 2012;77(1):63-8.
- 6 - Neurologic presentation of triple A syndrome. Dixit A, Chow G, Sarkar A. *Pediatr Neurol.* 2011 Nov;45(5):347-9. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2011.07.003.
- 7 - Clinical and manometric characteristics of Allgrove syndrome. Alhussaini B, Gottrand F, Goutet JM, Scaillon M, Michaud L, Spyckerelle C, Viola S, Lamblin MD. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2011 Sep;53(3):271-4.
- 8 - Neurological features in adult Triple-A (Allgrove) syndrome. Vallet AE, Verschueren A, Petiot P, Vandenberghe N, Nicolino M, Roman S, Pouget J, Vial C. *J Neurol.* 2012 Jan;259(1):39-46.
- 9 - New ophthalmic features in a family with triple A syndrome. Moschos MM, Margetis I, Koehler K, Gatziofias Z, Huebner A. *Int Ophthalmol.* 2011 Jun;31(3):239-43.
- 10 - Mutation spectra of the AAAS gene in Iranian families with Allgrove Syndrome. Yassaee VR, Soltani Z, Ardakani BM. *Arch Med Res.* 2011 Feb;42(2):163-8.
- 11 - Two siblings with triple A syndrome and novel mutation presenting as hereditary polyneuropathy. Dumić M, Barišić N, Rojnić-Putarek N, Kušec V, Stanimirović A, Koehler K, Huebner A. *Eur J Pediatr.* 2011 Mar;170(3):393-6.

- 12 - Intracellular ROS level is increased in fibroblasts of triple A syndrome patients.
Kind B, Koehler K, Krumbholz M, Landgraf D, Huebner A. *J Mol Med (Berl)*. 2010 Dec;88(12):1233-42.
- 13 - Adult or late-onset triple A syndrome: case report and literature review.
Nakamura K, Yoshida K, Yoshinaga T, Kodaira M, Shimojima Y, Takei Y, Morita H, Kayanuma K, Ikeda S. *J Neurol Sci*. 2010 Oct 15;297(1-2):85-8.
- 14 - Triple A syndrome: 32 years experience of a single centre (1977-2008). Milenkovic T, Zdravkovic D, Savic N, Todorovic S, Mitrovic K, Koehler K, Huebner A. *Eur J Pediatr*. 2010 Nov;169(11):1323-8.
- 15 - Two Italian patients with novel AAAS gene mutation expand allelic and phenotypic spectrum of triple A (Allgrove) syndrome. Palka C, Giuliani R, Brancati F, Mohn A, Di Muzio A, Calabrese O, Huebner A, De Grandis D, Chiarelli F, Ferlini A, Stuppia L. *Clin Genet*. 2010 Mar;77(3):298-301.
- 16 - Two patients with an identical novel mutation in the AAAS gene and similar phenotype of triple A (Allgrove) syndrome. Krull I, M-Woelfle M, Bärlocher K, Koehler K, Huebner A, Brändle M. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2010 Aug;118(8):530-6.
- 17 - Triple A syndrome: a novel compound heterozygous mutation in the AAAS gene in an Italian patient without adrenal insufficiency. Luigetti M, Pizzuti A, Bartoletti S, Houlden H, Pirro C, Bottillo I, Madia F, Conte A, Tonali PA, Sabatelli M. *J Neurol Sci*. 2010 Mar 15;290(1-2):150-2.
- 18 - The small, spastic, and furrowed tongue of Allgrove syndrome. Houlden H. *Neurology*. 2009 Apr 14;72(15):1366.
- 19 - Triple A syndrome: two novel mutations in the AAAS gene. Thümmeler S, Huebner A, Baechler-Sadoul E. *BMJ Case Rep*. 2009;2009.
- 20 - Late-onset triple A syndrome: a risk of overlooked or delayed diagnosis and management. Salmaggi A, Zirilli L, Pantaleoni C, De Joanna G, Del Sorbo F, Koehler K, Krumbholz M, Huebner A, Rochira V. *Horm Res*. 2008;70(6):364-72.
- 21 - Triple A syndrome mimicking ALS. Strauss M, Koehler K, Krumbholz M, Huebner A, Zierz S, Deschauer M. *Amyotroph Lateral Scler*. 2008 Oct;9(5):315-7.
- 22 - Clinical and molecular genetic findings in a 6-year-old Bosnian boy with triple A syndrome. Toromanovic A, Tahirovic H, Milenkovic T, Koehler K, Kind B, Zdravkovic D, Hasanhodzic M, Huebner A. *Eur J Pediatr*. 2009 Mar;168(3):317-20.

- 23 - Allgrove syndrome in a Mexican American family is caused by an ancestral mutation derived from North Africa. Chang AJ, Kline MM, Currie Y, Perez MO, Hartiala J, Wijesuriya H, Buchanan TA, Watanabe RM, Allayee H. *Clin Genet*. 2008 Apr;73(4):385-7.
- 24 - Three siblings with triple A syndrome with a novel frameshift mutation in the AAAS gene and a review of 17 independent patients with the frequent p.Ser263Pro mutation. Milenković T, Koehler K, Krumbholz M, Zivanović S, Zdravković D, Huebner A. *Eur J Pediatr*. 2008 Sep;167(9):1049-55.
- 25 - An Alu-mediated rearrangement causing a 3.2kb deletion and a novel two base pair deletion in AAAS gene as the cause of triple A syndrome. Qin K, Du X, Rich BH. *Mol Genet Metab*. 2007 Dec;92(4):359-63.
- 26 - [Allgrove syndrome in the mainland of China: clinical report and mutation analysis]. Gong CX, Wen YR, Zhao XL, Su C, Cao BY, Zhang X. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2007 Jun;45(6):422-5. Chinese.
- 27 - Allgrove syndrome with features of familial dysautonomia: a novel mutation in the AAAS gene. Ismail EA, Tulliot-Pelet A, Mohsen AM, Al-Saleh Q. *Acta Paediatr*. 2006 Sep;95(9):1140-3.
- 28 - Mutations of the AAAS gene in an Indian family with Allgrove's syndrome. Mukhopadhyaya A, Danda S, Huebner A, Chacko A. *World J Gastroenterol*. 2006 Aug 7;12(29):4764-6.
- 29 - Triple-A syndrome--the first Chinese patient with novel mutations in the AAAS gene. Lam YY, Lo IF, Shek CC, Tong TM, Ng DK, Tong TF, Choi MS, Lam ST, Ho CS. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2006 May;19(5):765-70.
- 30 - A novel AAAS gene mutation (p.R194X) in a patient with triple A syndrome. Dusek T, Korsic M, Koehler K, Perkovic Z, Huebner A, Korsic M. *Horm Res*. 2006;65(4):171-6. Epub 2006 Mar 15.

Bibliographie

1. Allgrove J, Clayden G. S, Grant D. B, Macaulay J. C. Familial glucocorticoid deficiency with achalasia of the cardia and deficient tear production. *The Lancet*. June 17, 1978 and 1284-86.
2. 5, A. Weber et al. Linkage of the gene for the triple A syndrome to chromosome 12q13 near the type II keratin gene cluster. *Hum. Mol. Genet.* 1996 : and 2061–66.
3. <http://www.uniprot.org/docs/humchr12>. [Online]
4. Stirnimann CU, Petsalaki E, Russell RB, Müller CW. WD40 proteins propel cellular networks. *Biochem Sci*. 2010 and :565-74, 35(10).
5. A., Alberts B. Johnson. *Biologie moléculaire de la cellule*. s.l. : Lavoisier, 5ième édition.
6. Santo RO, Golbert MB, Akaishi PM, Cruz AA, Cintra MB. Giant dacryocystocele and congenital alacrimia in lacrimo-auriculo-dento-digital syndrome. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2013 and 67-8, 29(3):.
7. 1903, Schirmer O: Studien zur Physiologie und Pathologie der Tranenabsonderung und Tranenabfuhr. *Arch Klin Exp Ophthalmol*. and 56:197.
8. report.2004, Brian P Brooks et al. Triple-A syndrome with prominent ophthalmic features and a novel mutation in the AAAS gene: a case and :4-7, 24.
9. 2001, Mayberry J F. Epidemiology and demographics of achalasia. *Gastrointest Endosc Clin N Am* and 235–48., 11:.
10. R. P. Petersen, A. V. Martin. Synopsis of investigations into proposed theories on the etiology of achalasia. *Dis Esophagus*. 2012 and 305-10, 25(4):.
11. Khelif K, De Laet MH, et al. Achalasia of the cardia in Allgrove's (triple A) syndrome: histopathologic study of 10 cases. *Am J Surg Pathol*. 2003 Mai and 667-72., 27(5) :.
12. Hallal C, Kieling C. Diagnosis, misdiagnosis, and associated diseases of achalasia in children and adolescents : a twelve-year single center experience. *Pediatr Surg Int*. 2012 and 1211-17, 28 :.
13. Eckardt, A. J. & Eckardt, V. F. Treatment and surveillance strategies in achalasia: an update. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol*. 2011 :10 and 1038.

14. Hépto-Gastro. Volume 20, Number 1, 32-45, Janvier 2013, Dossier thématique : Troubles moteurs de l'oesophage.
15. Robert M, Poncet G, Mion F, Boulez J. Results of laparoscopic Heller myotomy without anti-reflux procedure in achalasia. Monocentric prospective study of 106 cases. Surg Endosc. 2008 and :866-74., 22 (4).
16. Roman S, Nicolino M, Mion F. Triple-a syndrome: a rare etiology of adult achalasia. Dig Dis Sci. 2005 Mar and 50(3):440-2.
17. Miia Lindström and Hannu Korkeala. Laboratory Diagnostics of Botulism. Clinical microbiology reviews. 2006. 19, 298-314.
18. Boeckxstaens GE, Annese V, et al. Pneumatic dilation versus laparoscopic Heller's myotomy for idiopathic achalasia. N Engl J Med, 2011 and 1807-1816., 364 :.
19. Vaubourdolle Michel. Le Moniteur de l'internat de Pharmacie, Hématologie et Biochimie. 3ième éd. Groupe Liaisons.
20. <http://ansm.sante.fr/S-informer/Informations-de-securite-Ruptures-de-stock-et-arrets-de-commercialisation-des-medicaments/FLUCORTAC-50-microgrammes-comprime-secable-ex.-ADIXONE-50-g-comprime-secable-fludrocortisone-Remise-a-disposition>. [Online]
21. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=allgrove+j>. [Online]
22. Kimber J, McLean BM et al. Allgrove or 4"A" syndrome : an autosomal recessive syndrome causing multisystem neurological disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2003 : 74 and 654-57.
23. Houlden H, Smith S et al. Clinical and genetic characterization of families with triple A (Allgrove) syndrome. Brain. 2002 : 125 and 2681-90.
24. Miroslav Dumic, Nina Barisic et al. Long-term clinical follow-up and molecular genetic findings in eight patients with triple A syndrome. Eur J Pediatr. 2012 : 171 and 1453-59.
25. Mazzone L, Postorino V et al. Longitudinal neuropsychological profile in a patient with triple A syndrome. Case Rep Pediatr. 2013:604921.
26. Léger J. M, Mas J. L. Neuropathies périphériques : polyneuropathies et mononeuropathies multiples. Vol 1. Wolters Kluwer France and 2003.
27. Vallet A.E, Verschueren A et al. Neurological features in adult Triple-A (Allgrove) syndrome. J Neurol. 2012 :259 and 39-46.
28. Abhijit Dixit, Gabriel Chow et al. Neurologic presentation of triple A syndrome. Pediatr neurol. 2011 and 45:347-49.
29. Oliver, F.W. [éd.] Cambridge University Press. 1913, Makers of British Botany.

30. Lodish, Berk. *Biologie moléculaire de la cellule*. s.l. : de Boeck, 3ième édition.
31. Spess, S. D. et al. Nuclear envelope budding enables large ribonucleoprotein particle export during synaptic Wnt signaling. *Cell* 149, 832-846 (2012).
32. Callan, H.G et Tomlin, S.G. Experimental studies on amphibian oocyte nuclei. Investigation of the structure of the nuclear membrane by means of the electron microscope. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 137, 367-378 (1950).
33. Cronshaw J.M, Krutchinsky A.N et al. Proteomic analysis of the mammalian nuclear pore complex. *J Cell Biol.* 2002 and :915-27, 158(5).
34. Jeffrey A DeGrasset, Kelly N Dubois. Evidence for a Shared Nuclear Pore Complex Architecture That Is Conserved from the Last Common Eukaryotic Ancestor *Mol. Cell. Proteomics.* 2009 and :2119-2130, 8 (9).
35. Frenkiel-Krispin D et al. Structural analysis of a Metazoan nuclear pore complex reveals a fused concentric ring architecture. *J. Mol. Biol.* 2010 395, 578-586.
36. Makito Hirano, Yoshiko Furiya. *ALADIN I482S causes selective failure of nuclear protein import and hypersensitivity to oxydative stress in triple A syndrome. PNAS.* 2006; 103 (7) : 2298-2303.
37. Guan T, Muller S. Structural analysis of the p62 complex, an assembly of O-linked glycoproteins that localizes near the central gated channel of the nuclear pore complex. *Mol. Bio. Cell.*1995 and 6:1591-1603.
38. Solmaz S R, Chauhan R. *Molecular architecture of the transport channel of the nuclear pore complex. Cell.* 2011; 147, 590-602.
39. Hirano M, Furiya Y. ALADIN I482S causes selective failure of nuclear protein import and hypersensitivity to oxidative stress in Triple A syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006 ; 103 : 2298-2303.
40. Kind B, Huebner A. intracellular ROS level is increased in fibroblasts of triple A syndrome patients. *J Mol Med.* 2010 ; 88 : 1233-1242.
41. 2009, Osamu Shimomura. Discovery of green Fluorescent Protein (GFP). Nobel lecture. *Angew Chem Int. Ed* and 48, 5590-5602.
42. <https://store.crpinc.com/pdfdatasheet.aspx?catalogno=MMS-120P>. [Online]
43. <http://www.biocompare.com/9776-Antibodies/157248-Nuclear-Pore-Complex-Proteins-antibody-Mab414-ChIP-Grade/>. [Online]

44. Kind B, Koehler K et al. The nuclear pore complex protein ALADIN is anchored via NDC-1 but not via POM121 and GP210 in the nuclear envelope. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009 and 205-10., 390 :.
45. Aon MA, Cortassa S, Maack C, O'Rourke B. Sequential opening of mitochondrial ion channels as a function of glutathione redox thiol status. *J Biol Chem.* 2007; 282: 21889-900.
46. Rev.2007, Orrenius S. Reactive oxygen species in mitochondria-mediated cell death. *Drug Metab and 443-55, 39(2-3) :*.
47. Feisner RF, Skalska J. Crosstalk signaling between mitochondrial Ca²⁺ and ROS. *Front Biosci.* 2009 ; 14 : 1197-1218.
48. Qutub AA, Popel AS. Reactive oxygen species regulate hypoxia-inducible factor 1 α differentially in cancer and ischemia. *Mol Cell Biol.* 2008; 28(16): 5106-19.
49. Hawkins BJ, Madesh M, Kirkpatrick CJ, Fisher AB. Superoxide flux in endothelial cells via the chloride channel-3 mediates intracellular signaling. *Molec Biol Cell.* 2007; 18: 2002-12.
50. Rhee S, Chae H, Kim K. Peroxiredoxins: a historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling. *Free Radic Biol Med.* 2005; 38(12): 1543-52.
51. Nordberg J, Arner ESJ. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med.* 2001; 31: 1287-312.
52. Lin MT, Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature.* 2006 ; 443 : 787-795.
53. Sas K, Robotka H. Mitochondria, metabolic disturbances, oxidative stress and the kynurenine system, with focus on neurodegenerative disorders. *J Neurol Sci.* 257 : 221-239.
54. Koehler K, Brockmann K. Axonal neuropathy with unusual pattern of amyotrophy and alacrima associated with a novel AAAS mutation p.Leu430Phe. *Eur J Hum Genet.* 2008 ; 16 : 1499-1506.
55. Khelif K, De Laet MH. Achalasia of the cardia in Allgrove's syndrome : histopathologic study of 10 cases. *Am J Surg Pathol.* 2003 ; 27 : 667-672.
56. Silver I, Erecinska M. Oxygen and ion concentrations in normoxic and hypoxic brain cells. *Adv Exp Med Biol.* 1998 ; 454 : 7-16 .
57. Kann O, Kovacs R. Mitochondria and neuronal activity. *Am J Physiol Cell.* 2007 ; 292 : C641-657 .

58. Baron M, Kudin AP. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative disorders. *biochem Soc Trans.* 2007 ; 35 : 1228-1231.
59. Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res.* 1961 ; 25 : 585-621.
60. Toussaint O, Remacle J. Role of stress-induced premature senescence in human ageing. *Int J Biochem Cell Biol.* 2002 ; 34 : 1415-1429.
61. Lee HC, Wei YH. Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and apoptosis in aging. *Exp Biol Med.* 2007 ; 232 : 592-606.
62. Storr HL, Kind B et al. Deficiency of ferritin heavy-chain nuclear import failure caused by triple A syndrome implies nuclear oxidative damage as the primary disease mechanism. *Mol Endocrinol.* 2009 and 2086-94., 23 :.
63. Storr HL, Kind B et al. Deficiency of ferritin heavy-chain nuclear import in triple a syndrome implies nuclear oxidative damage as the primary disease mechanism.2009.*Mol Endocrinol.*(12):2086-94.
64. Lee HC, Wei YH. Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and apoptosis in aging. *Exp Biol Med.* 2007 and 232:592–606.
65. Milenković T, Koehler K et al. Three siblings with triple A syndrome with a novel frameshift mutation in the AAAS gene and a review of 17 independent patients with the frequent p.Ser263Pro mutation. *Eur J Pediatr.* 2008 and :1049–55., 167.

L'ISPB - Faculté de Pharmacie de Lyon et l'Université Claude Bernard Lyon 1 n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

ENDERLIN Thibaut Samuel

Le syndrome Triple-A : Maladie d'Allgrove ; de l'anomalie fonctionnelle nucléaire aux neuropathies périphériques. Méta-analyse et étude de cas cliniques.

Th. D. Pharm., Lyon 1, 2013, 122p.

RESUME

La maladie d'Allgrove (syndrome Triple-A) se caractérise par une triade symptomatologique composée d'une alacrymie, une achalasia du cardia et d'une insuffisance surrénalienne. A ce tableau clinique se surajoutent des atteintes neuropathiques périphériques. Celles-ci sont très diverses entre les patients mais induisent toutes une atteinte invalidante à long terme. Le diagnostic est alors essentiellement clinique.

Les mutations touchant le gène *AAAS* codant pour la protéine *ALADIN*, nucléoporine appartenant à la macrostructure du complexe du pore nucléaire, engendrent un défaut d'importation de molécules antioxydantes au niveau du nucléoplasme. Ce déficit entraîne une détoxification moins importante des espèces réactives de l'oxygène au sein du noyau, ne permettant plus aux cellules et notamment aux neurones de lutter efficacement contre le stress oxydatif physiologique. Les cellules développent ainsi une sénescence prématurée induite par un niveau de stress oxydatif sub-toxique continu.

La méta-analyse réalisée sur 89 patients permet d'affiner la prévalence des trois symptômes de la triade « AAA » au sein de la maladie. De plus, l'étude a permis de mettre en lumière l'absence de corrélation entre le génotype et le phénotype exprimé par les patients. Ceci engendre une complexité évidente lors de l'établissement du diagnostic. La maladie d'Allgrove est une pathologie neuro-endocrine complexe et invalidante.

MOTS CLES

Triple A
Complexe du pore nucléaire
Neuropathies
Méta-analyse

JURY

M. BENZONI Daniel, Professeur des Universités
Mme BRAC DE LA PERRIERE Aude, Praticien hospitalier
Mme AUJAS Ludivine, Docteur en Pharmacie

DATE DE SOUTENANCE

Vendredi 5 juillet 2013

ADRESSE DE L'AUTEUR

7, Rue Auguste PINTON – 69008 LYON