

Pathologies liées aux déficits du cycle de Krebs

Paule Bénit^{1,2}, Sylvie Bortoli^{3,4}, Dominique Chrétien^{1,2}, Malgorzata Rak^{1,2} et Pierre Rustin^{1,2,*}

1 INSERM UMR I 141, Hôpital Robert Debré, Bâtiment Bingen, 48, Boulevard Sérurier, 75019, Paris, France.

2 Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, INSERM UMR I 141, 75019, Paris, France.

3 INSERM UMR I 124, 75006, Paris, France.

4 Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, UFR des Sciences Fondamentales et Biomédicales, 75006, Paris, France.

*Auteur correspondant : pierre.rustin@inserm.fr (P. Rustin).

RÉSUMÉ

Chez l'homme, les dysfonctions des enzymes du cycle de Krebs liées à des mutations causent des encéphalopathies sévères du jeune enfant, ou différents types de tumeurs et de cancers touchant différents organes. Ainsi des mutations des gènes de la succinate-déshydrogénase ont été identifiées dans des formes familiales de phéochromocytomes et paragangliomes. Les mutations du gène de la fumarase s'observent dans des léiomyomes utérins en association avec des cancers rénaux, mais des cas d'encéphalopathies de l'enfant ont aussi été observés. Les mutations des gènes de l'isocitrate-déshydrogénase peuvent représenter jusqu'à 20% des leucémies myéloïdes aiguës et jusqu'à 80% dans certains gliomes. On ne sait actuellement expliciter la diversité des conséquences possibles de ces mutations : encéphalopathies *versus* cancers, nature des tissus affectés, cinétique variable d'apparition des symptômes. Il semble en revanche établi que les anomalies dans les équilibres métaboliques qui résultent de ces mutations soient à la base des processus tumoraux en modulant l'activité d'hydroxylases susceptibles d'affecter certains facteurs de transcriptions, mais aussi la méthylation de l'ADN et les histones. Dans ce contexte, il semble étonnant que soient largement utilisés certains fongicides dont l'effet est de bloquer une étape centrale du cycle de Krebs, la succinate-déshydrogénase. Le principe de précaution voudrait sans aucun doute de réévaluer urgemment la nécessité de l'usage de telles substances pour l'homme et l'environnement.

ABSTRACT

Human diseases resulting from Krebs cycle impairments

In humans, dysfunctions of Krebs cycle enzymes caused by genetic mutations result either in severe encephalopathies of the young child, or in the appearance of different types of tumors and cancers affecting diverse organs. Thus mutations of the succinate dehydrogenase genes have been identified in familial forms of pheochromocytomas and paragangliomas. Most of the mutations in the fumarase gene are found in uterine leiomyomas in association with renal cancers, but cases of childhood encephalopathies have also been observed resulting from mutations affecting the same gene. Isocitrate dehydrogenase gene mutations account for up to 20% of acute myeloid leukemias, and up to 80% in some gliomas. So far we cannot explain the diversity of the possible consequences of these mutations : encephalopathies *versus* cancers, the different tissues that are affected and the variable kinetics of appearance of symptoms. On the other hand, it seems now established that the abnormalities in the metabolic equilibria that result from these mutations are at the basis of the tumor processes by modulating the activity of a number of hydroxylases that may affect the fate of certain transcription factors, but also the DNA and histone methylation. In this context, it seems surprising that some fungicides that are now widely used, block a central stage of the Krebs cycle, namely the succinate dehydrogenase. The principle of precaution would impose to urgently re-evaluate the need for the use of these substances in consideration of human health and the environment.

MOTS CLÉS

- acides organiques
- cancers
- mitochondries
- neuropathies
- SDHI

KEY WORDS

- cancers
- mitochondria
- neuropathies
- organic acids
- SDHI

► Introduction

Véritable plaque tournante du métabolisme des acides organiques dans toutes les cellules, le cycle de Krebs localisé dans les mitochondries a depuis longtemps été montré comme fondamental pour la vie cellulaire [1,2]. Pour ne citer que quelques-unes de ses fonctions :

- il fournit à la chaîne respiratoire une partie des équivalents réduits nécessaire à la synthèse d'ATP ;
- une autre partie des équivalents réduits sont exportés hors des mitochondries dans certaines conditions de stress et vont accélérer la synthèse de NADPH et de glutathion ;
- en assurant une intense activité métabolique, il participe à la production mitochondriale de chaleur ;
- il est crucial dans la production d'intermédiaires métaboliques essentiels pour diverses réactions anaboliques extra-mitochondriales ;
- à partir du pyruvate essentiellement produit par la glycolyse, il produit les métabolites nécessaires à la biosynthèse des purines et de divers acides aminés. Il n'est donc pas vraiment étonnant que toute dysfonction majeure du cycle ait longtemps été jugée incompatible avec la vie [3].

De fait, même la mise en évidence d'une accumulation majeure et spécifique d'un acide organique, par exemple celle du fumarate dans certaines neuropathies, ne semblait pas justifier de s'intéresser à une dysfonction primaire d'une enzyme du cycle, comme étant une cause possible d'une maladie humaine [4]. Cette époque est désormais bien révolue ! En effet depuis les années 90, la description d'un nombre, certes limité (moins de 300 cas rapportés), de cas de mutations délétères dans des atteintes neurologiques affectant des gènes codant des enzymes du cycle de Krebs, a démontré que la vie cellulaire reste compatible avec des dysfonctions notables de ce cycle, avec les premières mutations rapportées dans le gène de la fumarase, puis de la succinate-déshydrogénase (SDH) dans deux cas d'encéphalopathies sévères de l'enfant [5,6]. Désormais, l'identification de mutations dans des gènes codant sept des huit protéines du cycle de Krebs comme étant l'origine, outre celle connue d'encéphalopathies de l'enfant, de différents types de processus tumoraux (plusieurs milliers de cas) a changé la donne [7-11], et a permis de réaffirmer l'importance cruciale de ce cycle et des voies métaboliques auxquelles il est associé. Elle a mis en évidence d'une part le rôle primaire de telles mutations dans un type distinct de pathologie humaine, les pro-

cessus tumoraux, et d'autre part, a fait de ces mutations dans différents gènes du cycle une cause reconnue et nettement plus fréquente de maladies humaines.

Le cycle de Krebs, une vue de l'esprit ?

Avec la description des différents phénotypes associés aux mutations dans les gènes du cycle, il est rapidement apparu que les fonctions et caractéristiques du cycle de Krebs, ainsi que le rôle des intermédiaires métaboliques qu'il inter-convertit, étaient loin d'être réductibles au schéma traditionnellement admis [12,13].

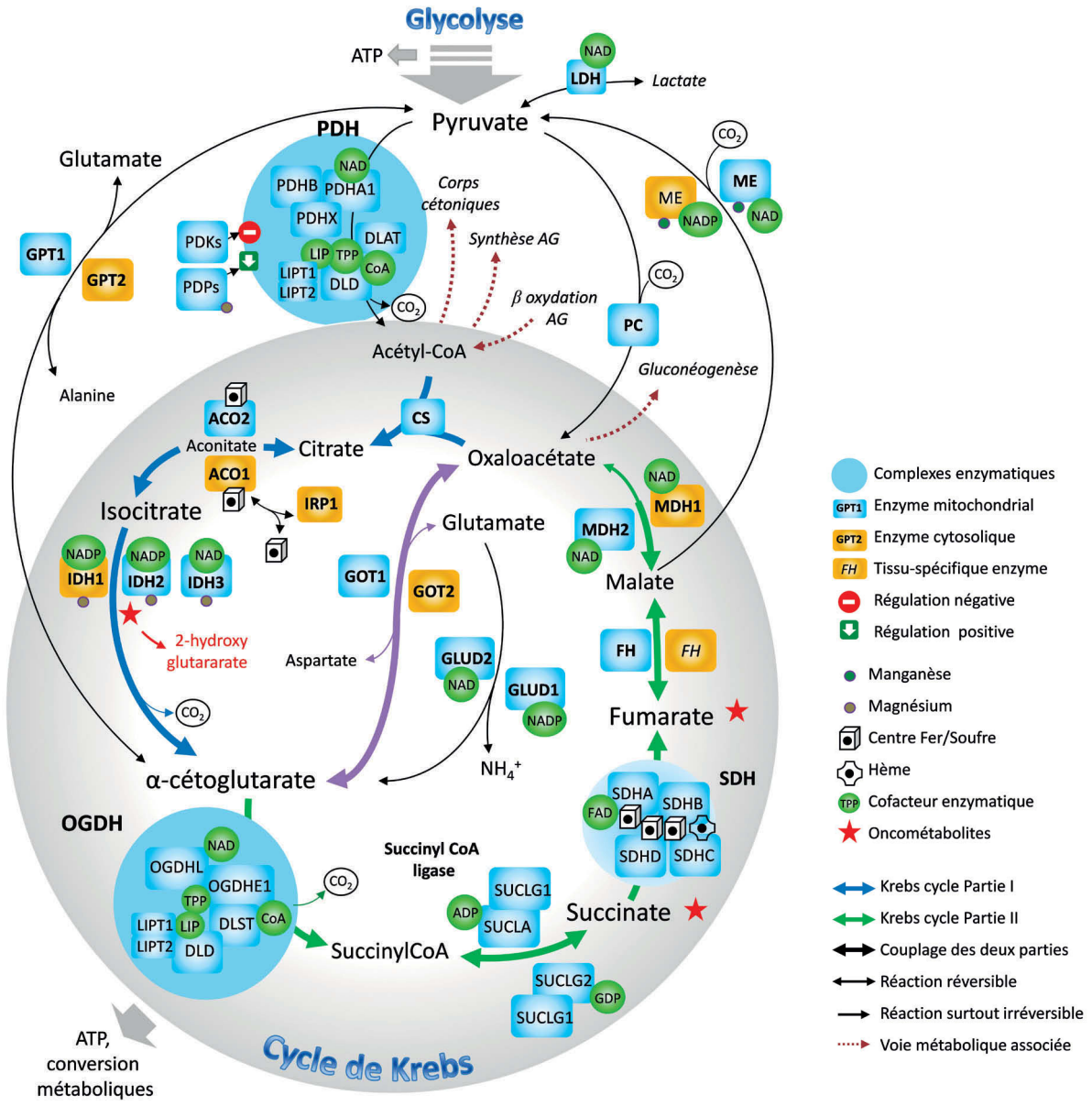
Du regroupement de huit protéines impliquées dans le cycle tel qu'initialement décrit par Hans Adolf Krebs [1,2] et travaillant de concert pour métaboliser l'acétyl-CoA, il convient de noter que les études de flux métaboliques ont montré que le cycle devrait en être en fait considéré comme deux entités distinctes [12,14]. Chacune de ses deux entités, connectées par l'intermédiaire d'une transaminase (*figure 1*), est caractérisée par un flux cinétique propre, une situation incompatible avec un fonctionnement à travers une unique entité. Si l'on y ajoute la redondance d'une partie des protéines du cycle dans les compartiments mitochondriaux et cytosoliques, sa sollicitation changeante en fonction des besoins métaboliques et des situations pathologiques, éventuellement variables dans le temps et dans l'espace d'un organisme vivant, il devient évident que l'unicité du cycle telle qu'elle a été décrite avec une organisation rigide, doit sans doute être reconsidérée. Finalement, le continuum métabolique autour des acides organiques du cycle implique d'intégrer à toute réflexion sur les pathologies associées, des gènes dont les produits constituent des partenaires à part entière du cycle (comme la pyruvate-déshydrogénase, par exemple). Conformément à cette dernière observation, l'étude des pathologies associées aux mutations des gènes des voies métaboliques directement afférentes et efférentes (*figure 1*) montre la similitude avec celles associées aux mutations des gènes codant les protéines du cycle de Krebs proprement dit.

Deux univers de maladies humaines

Des mutations dans plus d'une quinzaine de gènes de ces chaînons métaboliques sont ainsi connues comme étant à l'origine de pathologies humaines, incluant les gènes codant les protéines du cycle *sensu stricto* (*tableau 1*). Ces mutations correspondent

Le cycle de Krebs localisé dans les mitochondries a depuis longtemps été montré comme fondamental pour la vie cellulaire

Figure 1. Table tournante du métabolisme cellulaire, l'organisation complexe du cycle de Krebs.



Le cycle de Krebs (figurant sur le disque gris) est ici complété par les principales voies métaboliques afférentes et efférentes qui pour partie peuvent donner lieu à une tissu-spécificité plus ou moins marquée. De façon identique, l'organisation même du cycle, en particulier dans ses aspects quantitatifs, pourrait varier selon les tissus considérés. Ainsi, la cinétique de conversion depuis l'oxaloacétate jusqu'à l'α-cétoglutarate (en bleu) s'est avérée différente de la conversion de l'α-cétoglutarate jusqu'à l'oxaloacétate (en vert), un déséquilibre permis par la réaction de transamination (GOT, en violet) [14]. Notez l'accumulation anormale d'un oncométabolite particulier, le 2-hydroxy-glutarate, en cas de mutation affectant l'isocitrate-déshydrogénase [29].

Abréviations : ACO, aconitase ; ADP, adénosine-diphosphate ; AG, acides gras ; CoA, coenzyme A ; CS, citrate-synthase ; DLAT, dihydrolipoamide-S-acétyl-transférase (E2) ; DLD, dihydrolipoamide-déshydrogénase (E3) ; DLST, dihydrolipoamide-S-succinyl-transférase (E2) ; FH, fumarate-hydratase ; GDP, guanosine-diphosphate ; GPT, glutamate-pyruvate-transaminase ; GOT, glutamate-oxaloacétate-transaminase ; GLUD, glutamate-déshydrogénase ; IDH, isocitrate-déshydrogénase ; IRP, iron-responsive protein ; LDH, lactate-déshydrogénase ; LIP, acide lipoiq ; LIPT1, 2-lipoyl-transférase ; MDH, malate-déshydrogénase ; ME, enzyme malique ; NAD, nicotinamide-adenine-dinucléotide ; NADP, nicotinamide-adenine-nucléotide-phosphate ; OGDH, oxoglutarate-déshydrogénase (α-cétoglutarate-déshydrogénase ; OGDHE1 : E1 ; OGDHL, E1-like) ; PC, pyruvate-carboxylase ; PDH, pyruvate-déshydrogénase (PDHA1 et PDHB, respectivement sous-unités α et β d'E1) ; PDHX, pyruvate-déshydrogénase composé X ; PDKs, pyruvate-déshydrogénase-kinases ; PDP, pyruvate-déshydrogénase-phosphatase ; TPP, thiamine-pyrophosphate ; SDH, succinate-déshydrogénase ; SUCL, succinylCoA-ligase.

© Pierre Rustin

Tableau I. Les maladies associées aux mutations touchant les enzymes du cycle de Krebs ou fonctionnant de concert.

| Enzyme déficitaire | Gene | Phénotype tumoral | Maladies autres | |
|---|--------------|--|---|---|
| Pyruvate-déshydrogénase | PDHA1 | | Depuis l'acidose lactique précoce fatale jusqu'à une maladie neurologique chronique | |
| | DLAT (PDHA2) | | Microcéphalie et retard mental | |
| | PDHB | | Acidose lactique, hypotonie | |
| | PDHX | | Acidose lactique congénitale | |
| | PDK1 | | | |
| | PDK2 | | | |
| | PDK3 | | | |
| | PDK4 | Résistance aux antiestrogènes dans le cancer du sein | | Maladie de Charcot-Marie-Tooth dominante, liée à l'X |
| | PDPI | | | |
| | PDP2 | | | Acidose lactique, Hypotonie |
| | PDPR | | | |
| | LIPT1 | | | Syndrome de Joubert Acidose lactique précoce fatale, Maladie de Leigh |
| | LIPT2 | | | Encéphalopathie néonatale |
| Phosphoénol-pyruvate-carboxykinase | PCK1 | | Défaillance hépatique sévère | |
| | PCK2 | | Hypoglycémie précoce Acidose lactique | |
| Pyruvate-carboxylase | PC | | Acidose lactique avec retard développemental ou mortalité | |
| Citrate-synthase | CS | Possible dérégulation dans différents cancers : surexpression rapportée dans des adénocarcinomes ovariens, perte de fonction dans des carcinomes cervicaux | | |
| Aconitase Synthèse Centre Fer-Soufre (déficit multiple) | ACO1 | | | |
| | ACO2 | Association possible dans certains cancers gastriques et dans des cancers de la prostate | Dégénérescence cérébelleuse-rétinale de l'enfant Neuropathie optique isolée ou syndromique | |
| | FXN | | Ataxie de Friedreich | |
| | ISCU NFUI | | Myopathie Encéphalopathie fatale de l'enfant et/ou hypertension pulmonaire | |
| Isocitrate-déshydrogénase | IDH1 | Glioblastome Leucémie myéloïde sévère Chondrosarcome, Cholangiocarcinome | Convulsions ajoutées au gliome | |
| | IDH2 | Glioblastome Chondrosarcome Cholangiocarcinome | Acidurie D-2-hydroxyglutarique | |
| | IDH3A | | Encéphalopathie sévère de l'enfant. | |
| | IDH3B | | Rétinite pigmentaire | |
| | IDH3G | | | |
| α-cétoglutarate-déshydrogénase | OGDHE1 | Cancer colorectal | | |
| | OGDHL | | | |
| | DLST | | | |
| | DLD | | Encéphalopathie sévère | |
| | LIPT1 | | Acidose lactique précoce fatale Maladie de Leigh | |
| | LIPT2 | | Encéphalopathie néonatale | |



Tableau I (suite). Les maladies associées aux mutations touchant les enzymes du cycle de Krebs ou fonctionnant de concert.

| Enzyme déficitaire | Gene | Phénotype tumoral | Maladies autres |
|--|----------------------------|--|--|
| Succinyl-CoA -ligase | SUCLG1 | | Encéphalomyopathie |
| | SUCLG2 | | . |
| | SUCLA2 | | Encéphalomyopathie Dystonie et surdité |
| Succinate-déshydrogénase | SDHA | Adénome hypophysaire et paragangliome/ phéochromocytome Carcinome rénal | Syndrome de Leigh Atrophie optique et ataxie |
| | SDHB | Paragangliome, Phéochromocytome Carcinome du rein Tumeur gastro-intestinale Syndrome de Carney-Stratakis Syndrome de Cowden | Leukodystrophie |
| | SDHC | Cancer du rein à cellules claires Paragangliome, Phéochromocytome Syndrome de Carney-Stratakis | |
| | SDHD | Paragangliome, Phéochromocytome Syndrome de Carney-Stratakis Cancer du rein Syndrome de Cowden Paragangliome, Phéochromocytome | Encéphalomyopathie |
| | SDHAF1 | | Leukoenc phalopathie infantile |
| | SDHAF2 SDHAF3 SDHAF4 | | |
| Fumarase | FH | Syndrome HLRCC (fibrome utérin héréditaire et cancer à cellule rénales papillaires) Tumeurs rénales Paragangliome, Phéochromocytome | Encéphalopathie, convulsions, faiblesse musculaire |
| Malate -déshydrogénase | MDH1 | | |
| | MDH2 | Paragangliome | Encéphalopathie infantile |
| Enzyme malique | ME1 NADP | Cancer colorectal | |
| | ME2 NAD | Cancer du pancréas | |
| | ME3 NADP | Mélanome cutané | |
| Glutamate-oxaloacétate-transaminase | GOT1 | | Macro-aspartate transaminase familiale |
| | GOT2 | Favorise l'apparition de phéochromocytome | |
| Glutamate-pyruvate-transaminase | GPT 1 | | |
| | GPT2 | Cancer du sein | Diabète insulino-dépendant, microcéphalie, paraplégie spastique |
| Glutamate-déshydrogénase | GLUD1 | | Syndrome spinoc r belleux |
| | GLUD2 | | Hyperinsulin mie, hypoglycémie |

à différentes entités pathologiques qui peuvent intervenir à tous les âges de la vie et toucher différents organes [15]. Pour une part des présentations cliniques, en particulier celles historiquement décrites les premières dans les années 90, on observe de façon fréquente des atteintes neurologiques de l'enfant (**tableau 1, colonne 4**) [13]. Celles-ci sont très similaires à celles observées pour les atteintes des transporteurs d'électrons de la chaîne respiratoire mitochondriale [16] qui sont supposées avoir pour conséquence un déficit énergétique lié à une synthèse défectueuse d'ATP, et/ou des anomalies dans l'utilisation de l'oxygène résultant en la génération excessive d'espèces réactives de l'oxygène (superoxydes) [12]. Le manque d'ATP et l'excès de superoxydes sont connus pour favoriser nécrose et apoptose et à ce titre ils constituent une trame pour expliciter une partie des atteintes, nécrose tissulaire et dysfonctions sévères observées dans ces atteintes essentiellement neurologiques [17].

Mais depuis les années 2000, une succession d'études a montré que des atteintes précisément dans ces mêmes gènes étaient à l'origine d'un tout autre type de maladies humaines résultant cette fois du développement de tumeurs et cancers [18]. Selon les gènes mutés, certains organes semblent plus particulièrement atteints (**tableau 1, colonne 3**).

Ainsi, les mutations des gènes codant pour la SDH conduisent le plus souvent à des paragangliomes (des tumeurs bénignes affectant essentiellement soit le système nerveux parasympathique: tumeurs des glomus au niveau de la tête et du cou; soit le système nerveux sympathique extra-surrénalien) ou des phéochromocytomes (tumeurs dans la médullosurrénale), alors que les mutations touchant la fumarase conduisent le plus fréquemment à des fibromes utérins (tableau 1). Il existe cependant un certain degré de chevauchement. Ainsi des cancers rénaux, ou des paragangliomes, peuvent être observés en liaison avec des atteintes génétiques impliquant les gènes codant la fumarase ou la SDH (**tableau 1**).

Il est à noter que dans ces processus tumoraux, les dysfonctions des enzymes sont la cause d'une prolifération cellulaire anarchique, s'éloignant, sans que l'on ne connaisse véritablement le mécanisme, des phénomènes de mort cellulaire mis en avant dans les encéphalopathies initialement décrites [13]. En effet s'il est possible pour les déficits en SDH d'opposer les déficits partiels mesurés dans les cas d'encéphalopathies [6] au déficit total mesuré dans les tumeurs [19], l'activité de la fumarase est réduite à quelques pourcents aussi bien pour les cas d'encéphalopathies que

pour les cancers associés [5,20]. Fréquemment et indépendamment de telles mutations génétiques, des dérégulations métaboliques favorisant la glycolyse aux dépens de l'activité du cycle de Krebs interviennent pour fournir les métabolites nécessaires à une prolifération rapide des cellules cancéreuses, ainsi que les cofacteurs nécessaires à leur lutte contre le stress oxydant (effet Warburg).

Quoique puisse être l'explication du devenir des cellules, mort ou prolifération, les atteintes des protéines du cycle de Krebs initialement considérées comme tout à fait exceptionnelles dans des pathologies non cancéreuses, se révèlent être plus fréquentes dans un contexte tumoral.

Retour sur le fondamental...

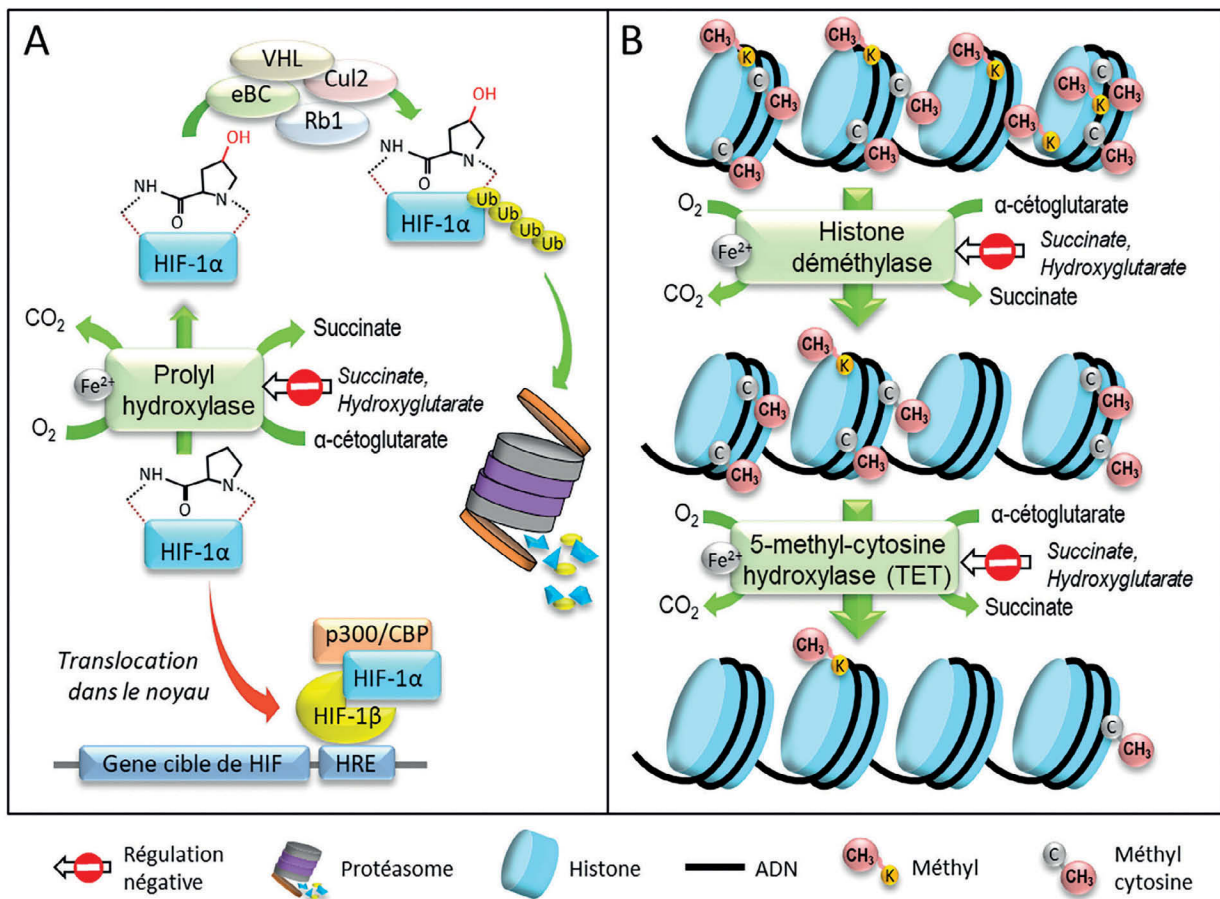
Une grande partie des avancées réalisées dans l'investigation de ces maladies a suivi le développement des techniques de biochimie puis surtout celui spectaculaire de la génétique. Mis au service de la médecine, les outils se révèlent tous les jours, plus efficaces pour permettre d'identifier plus facilement les mutations responsables de maladie dans les familles. Outre d'autoriser les diagnostics prénataux d'affections souvent graves, ces avancées permettent de toujours mieux comprendre ces maladies en attendant le jour espéré proche où il

deviendra possible de développer les thérapies efficaces qui manquent encore totalement.

Mais depuis quelques années, nous observons en outre un retour inattendu des travaux réalisés à l'occasion de l'investigation de ces pathologies vers des aspects très fondamentaux de la biologie cellulaire et de la biochimie. En effet, l'analyse des tumeurs résultant des mutations des enzymes du cycle de Krebs, où de cellules en culture porteuses de mutations touchant ces mêmes enzymes, a montré des anomalies spectaculaires dans les balances métaboliques contrôlées par l'activité des enzymes mutées [8,21], ou la production d'un métabolite particulier, l'hydroxyglutarate dans le cas des mutations affectant les gènes codant l'isocitrate-déshydrogénase (IDH) [9]. Tous ces métabolites accumulés anormalement dans les tumeurs sont désormais regroupés sous le terme d'oncométabolites. De fil en aiguille, les travaux ont montré que ces balances étaient des facteurs cruciaux dans les régulations épigénétiques, en particulier par la régulation de différentes hydroxylases cellulaires. Ainsi la prolyl-hydroxylase contrôlant la dégradation du facteur HIF1 α , et ainsi l'ensemble des voies de signalisation qui dépendent de ce facteur, se trouve inhibée par l'accumulation de succinate dans le cytosol des cellules (**figure 2A**). Un mécanisme similaire amène l'inhibition

Les mutations des gènes codant pour la SDH conduisent le plus souvent à des paragangliomes ou des phéochromocytomes

Figure 2. Une partie des mécanismes intervenant dans la régulation épigénétique contrôlée par les acides organiques.



© Pierre Rustin

A- La dégradation continue de la protéine HIF-1 α , facteur de transcription dont l'activation est liée à l'hypoxie, par le protéasome (à droite) est dépendante de son ubiquitination par un complexe protéique (VHL, eBC, Cul2, Rbx1, en haut). Cette réaction qui requiert de l'oxygène dépend de l'hydroxylation initiale de HIF-1 α par la prolyl-hydroxylase. En condition d'anaérobiose, HIF-1 α se localise dans le noyau des cellules où il participe à la régulation transcriptionnelle d'une série de gènes cibles (la voie HIF), incluant des gènes codant des enzymes de la glycolyse. L' α -cétoglutarate et le succinate étant respectivement le substrat et le produit de la réaction, l'activité de la prolyl-hydroxylase sera contrôlée par la base entre ces deux acides organiques.

B- De façon identique, la balance de concentrations entre ces deux acides organiques va affecter les activités de l'histone-déméthylase (en haut) et de l'ADN-hydroxylase de la famille TET (en bas). La première activité module la méthylation des résidus lysine des histones, alors que la seconde va moduler la méthylation des résidus cytosine de l'ADN. La balance α -cétoglutarate/succinate, ainsi que l'accumulation de 2-hydroxy-glutarate en cas de mutation des gènes codant pour l'isocitrate-déshydrogénase, a été montrée instrumentale dans la formation des tumeurs chez l'Homme en modifiant les réactions de méthylation des histones et de l'ADN [22,29].

Abréviations : HIF, hypoxia-inducible factor; eBC, ElonginB/C; VHL, Von Hippel-Lindau; Cul2, Culline

des oxygénases impliquées dans la méthylation tant des histones (histone-déméthylase) que de l'ADN (5-méthyl-cytosine-hydroxylase) (figure 2B) [22]. Bien que chacun des différents oncométabolites apparaisse pouvoir agir de façon différentielle selon les tissus et avoir éventuellement différentes cibles [11], leur rôle dans les régulations épigénétiques cellulaires est désormais admis. Par sa capacité à utiliser l'acétyl-CoA, le succinate et le fumarate, le cycle de Krebs intervient en outre très directement dans les modifications post-traductionnelles des protéines (succination, succinylation et acétylation) intervenant dans

le marquage épigénétique, dont celui des histones [13]. L'ensemble de ces balances entre métabolites, auxquels on ajoutera les métabolites du glutamate dont la glutamine, une source privilégiée d' α -cétoglutarate, apparaissent désormais comme des facteurs centraux dans les régulations épigénétiques. Depuis, ces dernières ont été montrées comme affectant non seulement la prolifération cellulaire mais aussi les processus de différenciation tels qu'étudiés désormais fréquemment à travers les iPSC (induced Pluripotent Stem Cells). Cette régulation de l'épigénétique par les acides organiques

du cycle de Krebs, citrate, succinate et fumarate en particulier, semble également jouer un rôle central dans la réponse aux stimuli pro-inflammatoires, les intermédiaires du cycle de Krebs intervenant alors comme molécules de signalisation et comme immuno-modulateurs [23]. Les mutations dans les gènes codant des enzymes du cycle de Krebs ne sont évidemment pas les seuls acteurs dans la promotion du phénotype tumoral, et si les avancées en génétique des 30 dernières années ont permis la mise en évidence de mutations causales permettant d'expliquer la transformation cellulaire (comme par exemple la SDH dans certains cas de gliomes), elles ne peuvent à elles seules rendre compte des dérégulations métaboliques qui se mettent en place au cours de tous les processus tumoraux. En effet, des interactions complexes dans les multiples voies de signalisation contrôlant le métabolisme peuvent conduire à une reprogrammation métabolique propice à l'expansion de cellules tumorales, avec en retour un retentissement sur l'activité du cycle de Krebs.

Conclusion

Plusieurs raisons justifient le renouveau d'intérêt que connaît le métabolisme des acides organiques du cycle de Krebs. D'une part les maladies trouvant leur source

dans des anomalies de ce métabolisme sont passées du statut d'extrêmement rares, à titre d'encéphalopathies de l'enfant pour l'essentiel, à celui de maladies dont l'extension va sans cesse croissante avec un nombre grandissant de tumeurs dont l'origine réside dans des mutations de gènes codant des enzymes du cycle de Krebs [13]. Ce sont les investigations menées dans ce cadre qui ont en particulier contribué à montrer le rôle central que les métabolites du cycle jouaient dans les régulations épigénétiques. Ce sont ces mêmes régulations dont on sait désormais qu'elles jouent un rôle tout aussi décisif dans la différenciation et la prolifération cellulaire [24]. Clairement, le rôle de plaque tournante pour la vie cellulaire attribuée au cycle de Krebs reste plus que jamais d'actualité. En outre, il semble désormais raisonnable de penser que toute altération anormale et continue des balances entre métabolites du cycle de Krebs, favorisée bien sûr à l'extrême par des mutations génétiques, mais aussi par des conditions externes défavorables, en particulier par l'exposition à certains polluants environnementaux, puisse avoir sur le long terme des conséquences (neuropathies, cancers) que nous ne faisons que juste entrevoir.

Dans ce contexte, on peut s'étonner que parmi les fongicides de dernière génération actuellement recommandés dans le monde pour améliorer les rendements de la culture des graminées (blés et autres céréales), la conservation des fruits, ou... faciliter l'entretien des pelouses de golf (**figure 3**), figurent des agents (SDHIs, inhibiteurs de la SDH) qui visent directement une enzyme du cycle de Krebs [25]. Initialement, les premiers SDHIs ont été introduits dans les années 60, mais à l'époque ils n'ont pas eu une diffusion extensive du fait de leur efficacité limitée [26]. Une seconde génération de fongicides SDHI destinés à la protection des récoltes a été mise sur le marché après les années 2000 visant à traiter un grand spectre de maladies des plantes, le Boscalid étant le premier et réputé le plus efficace de ces antifongiques. Les SDHIs sont désormais utilisés à grande échelle (70% des surfaces traitées de blé tendre et 80% en orge d'hiver en 2014 (JY Maufra); 90% des surfaces prévues en 2021 (AS Le Gall); interviews sur le site <https://www.terre-net.fr>). Bien sûr, l'affinité pour, et le positionnement dans, leur cible (la SDH) de ces inhibiteurs SDHIs, ainsi que leur captation par les cellules, facteurs dont dépendra l'inhibition, varient selon les espèces vivantes étudiées. En particulier, les sous-unités C et D diffèrent notablement de leurs équivalents dans diverses espèces [27]. Cette différence a été invoquée pour rendre compte de l'apparente innocuité chez l'homme. Malheureusement, les connaissances d'affinité ne concernent en réalité qu'un nombre infime d'espèces, restant testées sur des périodes courtes dans des conditions données. Ainsi, il apparaît déjà que les nématodes sont également sensibles à certains de ces SDHI

Figure 3. Entretien des pelouses de golf.



© Pierre Rustin

Les inhibiteurs de la succinate-déshydrogénase (regroupés sous le terme SDHI) sont parmi les plus fréquents des nouveaux fongicides utilisés contre les champignons des graminées (agriculture et loisirs). Reproduction d'une publicité sur le Web vantant en image l'usage des SDHI pour le gazon des golfs. Incrustés à l'image, les noms de plusieurs produits commerciaux contenant des SDHI.



Dossier scientifique

Cytopathies mitochondriales

(*Indemnify/fluopyram*). Dès lors, sans même parler d'une éventuelle toxicité directe chez l'homme, ces traitements pourraient intervenir dans la diminution spectaculaire de la biomasse d'insectes rapportée récemment en Europe (plus de 75 % en 27 ans dans 63 zones protégées en Allemagne) [28], une disparition aux conséquences encore totalement imprévisibles. Chez l'homme une éventuelle toxicité pourrait être variable selon le fond génétique de chaque personne (les seuils de tolérance aux résidus des SDHI admis sont de 3 mg kg⁻¹ pour la tomate, pour s'élever à 10 mg kg⁻¹ pour la pomme ou les framboises, et jusqu'à 60 mg kg⁻¹ pour les épinards) [26]. Le principe de précaution devrait sans doute conduire à réduire au strict minimum, ou mieux à proscrire, l'usage de tels agents qui visent des voies cruciales du métabolisme et présentes chez tous les organismes vivants, comme le cycle de Krebs. ■■

Liens d'intérêts: les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Points à retenir

- ▶ À l'instar de nombre de dysfonctions mitochondriales, les anomalies du cycle de Krebs résultant de rares mutations génétiques sont susceptibles de causer des atteintes neurologiques majeures chez l'enfant.
- ▶ Plus fréquemment, elles sont à l'origine de différentes tumeurs et cancers affectant différents organes du corps humain.
- ▶ Les anomalies du cycle de Krebs par le fait qu'elles perturbent les balances métaboliques dans les cellules sont susceptibles de moduler l'épigénétique cellulaire et ainsi d'entraîner la cellule vers des processus tumoraux.
- ▶ Le contrôle de l'épigénétique par les acides organiques en fait désormais un vaste sujet d'étude pour les processus de prolifération et de différenciation.
- ▶ Dans ce contexte, le principe de précaution devrait conduire à revoir urgemment l'idée de bloquer une étape clef du cycle de Krebs, celle catalysée par la succinate-déshydrogénase, pour obtenir une action antifongique en agriculture

Références

[1] Krebs H, Johnson WA. The Role of Citric Acid in Intermediate Metabolism in Animal Tissues. *Enzymologia* 1937;4:148-56.

[2] Krebs HA, Salvin E, Johnson WA. The formation of citric and alpha-ketoglutaric acids in the mammalian body. *Biochem J* 1938;32:113-7.

[3] Tyler D (1992) *The Mitochondrion in Health and Diseases*. New York: VCH Publishers, Inc. 1-557 p.?

[4] Whelan DT, Hill RE, McClorry S. Fumaric aciduria: a new organic aciduria, associated with mental retardation and speech impairment. *Clin Chim Acta* 1983;132:301-8.

[5] Bourgeron T, Chrétien D, Poggi-Bach J, et al. Mutation of the fumarase gene in two siblings with progressive encephalopathy and fumarase deficiency. *J Clin Invest* 1994;93:2514-8.

[6] Bourgeron T, Rustin P, Chrétien D, et al. Mutation of a nuclear succinate dehydrogenase gene results in mitochondrial respiratory chain deficiency. *Nat Genet* 1995;11:144-9.

[7] Favier J, Brière JJ, Stropf L, et al. Hereditary Paraganglioma/Pheochromocytoma and Inherited Succinate Dehydrogenase Deficiency. *Horm Res* 2005;63:171-79.

[8] Selak MA, Armour SM, MacKenzie ED, et al. Succinate links TCA cycle dysfunction to oncogenesis by inhibiting HIF-alpha prolyl hydroxylase. *Cancer Cell* 2005;7:77-85.

[9] Dang L, White DW, Gross S, et al. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature* 2009;462:739-44.

[10] Tomlinson IP, Alam NA, Rowan AJ, et al. Germline mutations in FH predispose to dominantly inherited uterine fibroids, skin leiomyomata and papillary renal cell cancer. *Nat Genet* 2002;30:406-10.

[11] Morin A, Letouze E, Gimenez-Roqueplo AP, et al. Oncometabolite-driven tumorigenesis: From genetics to targeted therapy. *Int J Cancer* 2014;135:2237-48.

[12] Rustin P, Bourgeron T, Parfait B, et al. Inborn errors of the Krebs cycle: a group of unusual mitochondrial diseases in human. *Biochim Biophys Acta* 1997;1361:185-97.

[13] Bénit P, Letouze E, Rak M, et al. Unsuspected task for an old team: succinate, fumarate and other Krebs cycle acids in metabolic remodeling. *Biochim Biophys Acta* 2014;1837:1330-7.

[14] Yudkoff M, Nelson D, Daikhin Y, et al. Tricarboxylic acid cycle in rat brain synaptosomes. Fluxes and interactions with aspartate aminotransferase and malate/aspartate shuttle. *J Biol Chem* 1994;269:27414-20.

[15] Brière JJ, Favier J, Gimenez-Roqueplo AP, et al. Tricarboxylic acid cycle dysfunction as a cause of human diseases and tumor formation. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006;291:C1114-20.

[16] Turnbull DM, Rustin P. Genetic and biochemical intricacy shapes mitochondrial cytopathies. *Neurobiol Dis* 2015;92:55-63.

[17] Rustin P, Kroemer G. Mitochondria and cancer. *Ernst Schering Found Symp Proc* 2007:1-21.

[18] Sajani K, Islam F, Smith RA, et al. Genetic alterations in Krebs cycle and its impact on cancer pathogenesis. *Biochimie* 2017;135:164-72.

[19] Gimenez-Roqueplo AP, Favier J, Rustin P, et al. The R22X mutation of the SDHD gene in hereditary paraganglioma abolishes the enzymatic activity of complex II in the mitochondrial respiratory chain and activates the hypoxia pathway. *Am J Hum Genet* 2001;69:1186-97.

[20] Pollard PJ, Brière JJ, Alam NA, et al. Accumulation of Krebs cycle intermediates and over-expression of HIF1alpha in tumours which result from germline FH and SDH mutations. *Hum Mol Genet* 2005;14:2231-9.

[21] Brière JJ, Favier J, Bénit P, et al. Mitochondrial succinate is instrumental for HIF1alpha nuclear translocation in SDHA-mutant fibroblasts under normoxic conditions. *Hum Mol Genet* 2005;14:3263-9.

[22] Letouze E, Martinelli C, Liorot C, et al. SDH mutations establish a hypermethylator phenotype in paraganglioma. *Cancer Cell* 2013;23:739-52.

[23] Ryan DG, O'Neill LAJ. Krebs cycle rewired for macrophage and dendritic cell effector functions. *FEBS Lett* 2017;591:2992-3006.

[24] Carey BW, Finley LW, Cross JR, et al. Intracellular alpha-ketoglutarate maintains the pluripotency of embryonic stem cells. *Nature* 2015;518:413-6.

[25] Yamashita M, Fraaije B. Non-target site SDHI resistance is present as standing genetic variation in field populations of *Zymoseptoria tritici*. *Pest Manag Sci* 2017.

[26] Abad-Fuentes A, Ceballos-Alcantarilla E, Mercader JV, et al. Determination of succinate-dehydrogenase-inhibitor fungicide residues in fruits and vegetables by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 2015;407:4207-11.

[27] Huang S, Millar AH. Succinate dehydrogenase: the complex roles of a simple enzyme. *Curr Opin Plant Biol* 2013;16:344-9.

[28] Hallmann CA, Sorg M, Jongejans E, et al. More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas. *PLoS One* 2017;12:e0185809.

[29] Xu W, Yang H, Liu Y, et al. Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of alpha-ketoglutarate-dependent dioxygenases. *Cancer Cell* 2011;19:17-30.