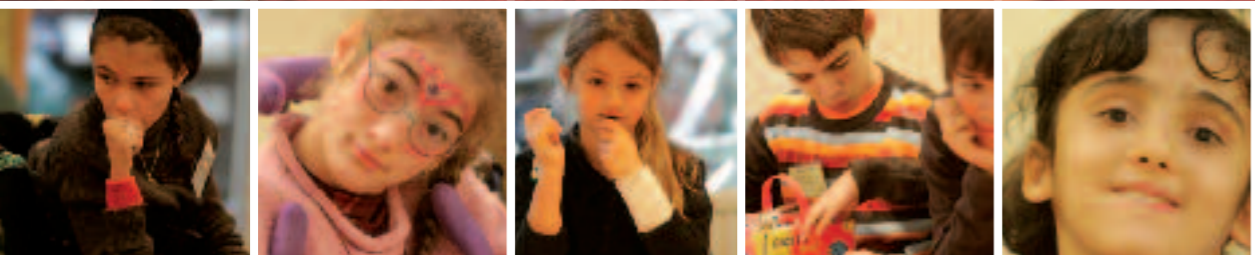


# ela infos

supplément n°66



**Colloque familles ELA / chercheurs**





# Colloque Familles ELA/Chercheurs

28 et 29 mars 2009 à Paris

Pour la troisième année consécutive, les familles de l'association et les spécialistes mondiaux des leucodystrophies se sont retrouvés à Paris. Durant deux jours, les chercheurs ont pu présenter leurs recherches, exposer leurs résultats et répondre aux questions des familles. Retrouvez dans ce supplément, le compte-rendu des ateliers pathologies.



## Sommaire

Supplément N°66 • juin 2009

Atelier ALD/AMN et autres leucodystrophies peroxysomales 3  
 • ALD/AMN 3  
 • Maladie de Refsum 7

Atelier MLD et autres leucodystrophies lysosomales 7  
 • MLD 10  
 • Krabbe 10

Atelier Syndrome CACH - Maladie d'Alexander - MLC 11  
 • Syndrome CACH 11  
 • Maladie d'Alexander 12  
 • MLC 13

Atelier PMD - Leucodystrophies indéterminées 14  
 • PMD 14  
 • Leucodystrophies indéterminées 15

Atelier Syndrome Aicardi-Goutières 18

Glossaire 19

Association ELA  
 2 rue Mi-les-Vignes  
 BP 61024  
 54521 LAXOU CEDEX  
 Tél. : 39 45 0,34€/mn  
 Fax : 03 83 30 00 68  
 Courrier électronique :  
 ela@ela-asso.com  
 • Directeur de la publication :  
 Guy Alba.

• Conception et réalisation :  
 Phonem Communication

• Impression :  
 La Nancéienne d'Impression

• Crédit photos :  
 Christopher Courtois / ELA  
 Jean-Marc Haedrich / ELA

• Commission paritaire :  
 n°0111 H 84204

Reproduction d'articles ou d'extraits d'articles autorisée après accord donné par la rédaction de la revue. Mention obligatoire : "Extrait du bulletin d'information d'ELA, Association Européenne contre les Leucodystrophies".

## Atelier ALD/AMN et autres leucodystrophies peroxysomales

### ALD/AMN

#### Progrès majeurs dans la physiopathogénie de l'ALD

Pr Patrick Aubourg - Hôpital St-Vincent-de-Paul, Paris, France

La constitution, depuis 5 ans, d'un groupe européen de médecins-chercheurs travaillant en étroite collaboration sur l'adrénoleucodystrophie liée à l'X (Aurora Pujol et Stéphane Fourcade, IBIDELL, Barcelone, Espagne ; Ronald Wanders et Stephan Kemp, AMC, Amsterdam, Pays-Bas ; Celia Kasmann et Klaus Nave, Max-Planck, Göttingen, Allemagne ; Johannes Berger et Sonja Forss-Petter, Institute of Brain Research, Vienne, Autriche ; Nathalie Cartier et Patrick Aubourg, UMR 745, Paris, France) a permis de disséquer les mécanismes pathologiques qui conduisent, à partir d'une mutation du gène ALD dans les oligodendrocytes, au développement de l'adrénomyélonéuropathie (AMN), d'une atteinte cérébrale démyélinisante sans inflammation ou d'une atteinte cérébrale démyélinisante avec inflammation. Un nouveau concept important est qu'une atteinte de l'oligodendrocyte, la cellule qui fabrique la myéline dans le cerveau et la moelle épinière, peut conduire :

- 1) à une atteinte des axones (les câbles des nerfs) SANS démyélinisation (comme c'est le cas dans l'AMN),
- 2) OU à une atteinte de la myéline comme c'est le cas dans les formes cérébrales d'ALD de l'enfant ou de l'adulte.

Les résultats conjoints de ce consortium européen ont permis de démontrer que la mutation du gène ALD dans les oligodendrocytes entraînait avant tout et de manière primitive une atteinte des axones, sans démyélinisation et que des facteurs métaboliques et génétiques supplémentaires étaient nécessaires pour qu'une atteinte cérébrale démyélinisante se développe ; puis une atteinte cérébrale démyélinisante avec "inflammation". À chaque étape du développement des différentes formes de la maladie, les différents mécanismes pathogéniques ont été clairement identifiés et font maintenant



Pr Patrick Aubourg

l'objet de recherches thérapeutiques spécifiques. On est très loin du simple concept que l'accumulation des acides gras à très longue chaîne est le seul élément responsable de l'ensemble des pathologies observées dans l'ALD. Les progrès déterminants faits dans l'ALD ont par ailleurs des répercussions importantes pour toutes les autres leucodystrophies.

#### Effets des acides gras à très longues chaînes sur la myéline

Pr Georg Reiser - Institut für Neurobiochemie, Otto von Guericke Universität, Magdeburg, Allemagne

La démyélinisation du système nerveux central est le signe de troubles neurodégénératifs héréditaires graves, comme l'adrénoleucodystrophie liée à l'X (X-ALD). On observe la perte des oligodendrocytes producteurs de myéline et l'activation des astrocytes, un type de cellule importante du cerveau, dans l'X-ALD. L'accumulation des acides gras à très longue chaîne (AGTLC) est une caractéristique biochimique saillante de l'X-ALD. Une altération de la dégradation des AGTLC a été

démontrée comme étant responsable de cette accumulation. En dépit des études sur les problèmes cliniques de l'X-ALD chez les patients et des investigations sur les animaux *knock-out* X-ALD, le rôle cellulaire et neurologique de l'accumulation des AGTLC et ses conséquences dans la maladie ne sont pas encore clairement établis. Nous ne savons pas actuellement si les AGTLC généralement non-toxiques sont liés à la démyélinisation et à l'inflammation. Dans notre modèle expérimental, nous avons étudié des cellules de cerveau isolées, à savoir les oligodendrocytes, astrocytes et neurones, en parallèle. Nous avons déjà utilisé ce modèle *in vitro* comme référence pour l'étude des acides gras associés à la maladie de Refsum. L'accumulation des acides gras saturés à chaînes ramifiées, acides phytanique et pristanique, est caractéristique de la maladie peroxysomale grave de Refsum. On observe des symptômes neurologiques divers dans ces troubles, qui se produisent la plupart du temps à l'adolescence

**Résultats principaux**

Nos études ont démontré une activité toxique élevée des AGTLC conduisant à une dérégulation calcique (Ca<sup>2+</sup>), un dysfonctionnement mitochondrial et la mort de cellules cérébrales. Une augmentation intracellulaire élevée du Ca<sup>2+</sup>, un messager secondaire très important dans la cellule, peut conduire à de nombreux dysfonctionnements des processus cellulaires. Par ailleurs, les mitochondries qui constituent l'un des sites principaux de production en énergie des cellules sont d'un intérêt tout particulier. L'exposition aux AGTLC induit une altération plus importante sur les oligodendrocytes producteurs de myéline que sur les neurones et les cellules gliales. De plus, nous avons des données démontrant clairement que ces AGTLC induisent la production de cytokines pro-inflammatoires par les astrocytes, ce qui provoque une inflammation ou une démyélinisation dans le système nerveux central.

Nos recherches en cours focalisées sur ce type important de cellules que sont les oligodendrocytes montrent que les AGTLC perturbent le développement et la maturation de ces cellules productrices de myéline et entraînent une démyélinisation. Nous avons détecté une modification très importante du niveau des protéines de base de la myéline (MBP). La protéine MBP joue un rôle très important dans la maturation des oligodendrocytes et dans la formation de la gaine de myéline. Les précédentes hypothèses postulaient le rôle fondamental des oligodendrocytes dans

Pr Georg Reiser



les maladies peroxysomales. Ces cellules sont nécessaires pour assurer l'intégrité et la vitalité axonales. Nos résultats établissent la relation entre l'accumulation des AGTLC et la démyélinisation observée dans l'ALD liée à l'X. En outre, les données dont nous disposons permettent de postuler un récepteur de membrane pour les AGTLC. Ce récepteur pourrait être responsable de certains des changements observés et induits par les AGTLC dans la physiologie cellulaire.

*Références :*  
 Aubourg P. 2007. Axons need glial peroxisomes. *Nat Genet* 39(8):936-938.  
 Aubourg P, Dubois-Dalcq M. 2000. X-linked adrenoleukodystrophy enigma: how does the ALD peroxisomal transporter mutation affect CNS glia? *Glia* 29(2):186-190.  
 Hein S, Schönfeld P, Kahlert S, Reiser G. 2008. Toxic effects of X-linked adrenoleukodystrophy-associated, very long chain fatty acids on glial cells and neurons from rat hippocampus in culture. *Hum Mol Genet* 17(12):1750-1761.  
 Moser AB, Kreiter N, Bezman L, Lu S, Raymond GV, Naidu S, Moser HW. 1999. Plasma very long chain fatty acids in 3,000 peroxisome disease patients and 29,000 controls. *Ann Neurol* 45(1):100-110.  
 Rönicke S and Reiser G. 2009 Unpublished data of long-term effects of VLCFA in brain cells and its mechanism.

**🌟 Dépistage prénatal pour l'X-ALD et les autres maladies peroxysomales**

Dr Richard Jones - Peroxysomal Diseases Laboratory, Kennedy Krieger Institute, Baltimore MD, USA

Les maladies peroxysomales constituent un groupe génétiquement hétérogène caractérisées par un dysfonctionnement biochimique des voies métaboliques spécifiques aux organelles. Une des principales voies peroxysomales est la β-oxydation des acides gras à longue chaîne. La maladie la plus commune impliquant cette voie est l'adrénoleucodystrophie (ALD) liée au chromosome X qui résulte des mutations du gène ABCD1. La fréquence de l'ALD est d'environ 1:17 000 dans la population et se caractérise par des manifestations au niveau surrénal et neurologique. Plus de 90% des patients de sexe masculin atteints développeront une insuffisance

surrénale primaire et 35% des garçons développeront une démyélinisation cérébrale inflammatoire entraînant une incapacité grave et le décès avant l'âge de dix ans. Le traitement de cette maladie peut être amélioré par une détection précoce.

Le diagnostic de l'ALD liée à l'X est basé sur l'augmentation des taux d'acides gras à très longue chaîne (AGTLC) chez les sujets de sexe masculin ou sur des tests ADN pour les sujets de sexe masculin ou féminin. De tels examens sont très précis et sont disponibles en clinique. Mais jusqu'à présent, le diagnostic repose sur la recherche de membres de la famille malades et un dépistage large des familles. Malheureusement, cette méthode a plusieurs limitations :

- la maladie du premier individu de la famille atteint par l'ALD a souvent progressé à un stade déjà trop avancé pour pouvoir le soigner ;
- le diagnostic repose sur l'identification et l'examen de tous les individus à risque de la famille ;
- comme dans de nombreuses maladies liées à l'X, le taux de mutation spontané est de 5 à 7%, ce qui signifie qu'une population importante de patients souffrant d'ALD ne sera pas diagnostiquée par la méthode du dépistage familial large.

Le dépistage chez les nouveau-nés a constitué un progrès majeur pour le diagnostic précoce de nombreux troubles héréditaires du métabolisme. La plupart des programmes de dépistage chez les nouveau-nés utilisent actuellement un échantillon de sang déposé sur une carte qui est envoyé à un laboratoire central et analysé en partie par des techniques de spectrométrie de masse. Malheureusement, une telle méthodologie de mesure des AGTLC ne permet pas de distinguer de façon fiable les patients atteints d'ALD des patients sains. Nous avons récemment démontré que la détection d'une anomalie dans les taux d'une autre classe de lipides avec une longueur de chaîne de 26 carbones (les lyso-PC : lysophosphatidylcholines) peut constituer un diagnostic de l'ALD. L'identification du lyso-PC 26:0 comme marqueur de diagnostic possible de l'ALD offre un énorme potentiel pour le dépistage de cette anomalie génétique à la naissance avant le début des manifestations de l'ALD, et bien avant que la maladie ne progresse sensiblement.

**Spectrométrie de masse en tandem (TMS) pour les lipides Lyso PC 26:0**

Le Lyso-PC est mesuré par la spectrométrie de masse en tandem, une technique standard appliquée à l'analyse d'échantillons de sang séché dans les programmes de dépistage chez le nouveau-né. La quantification du Lyso-PC 26:0 (qui représente moins de 0,2% des lyso-PC contenus dans le sang séché) dépend de l'obtention d'un composé standard pur auquel le composé naturel peut être comparé. Nous utilisons un composé synthétisé spécialement à cet effet (<sup>2</sup>H<sub>4</sub>-26:0-lyso-PC), qui est pur à 99,78 %.

**Détermination de la sensibilité et de la spécificité du test de dépistage**

Nous avons entrepris une analyse des échantillons prélevés sur un nombre connu de nouveau-nés touchés par la maladie. Ceux-ci provenaient de programmes de dépistage réalisés sur les nouveau-nés aux États-Unis (dans les états du Maryland, Californie et Michigan) et au Costa Rica. Un total de 1 194 échantillons de sang séché

ont été analysées par TMS. Sur la base de nos analyses, 1 178 d'entre elles ont pu être classées comme normales et 16 comme provenant de sujets présentant des maladies peroxysomales. Les échantillons de la catégorie des maladies peroxysomales avaient une quantité moyenne de lyso-PC 26:0 10 fois plus élevée que celle mesurée sur le sang des sujets normaux.

Au cours de notre analyse en aveugle, l'échantillon de sang séché d'un nouveau-né censé appartenir au groupe des patients souffrant d'ALD n'a pas donné de résultat anormal. Le niveau de lyso-PC 26:0 mesuré était identique à celui constaté chez les sujets normaux. Pour pouvoir discerner s'il s'agissait d'un faux négatif, une analyse de la mutation ABCD1 a été effectuée sur l'ADN extrait de cet échantillon de sang séché du nouveau-né. L'analyse ADN a montré que la mutation ABCD1 pour ce patient n'était pas présente dans l'ADN isolé provenant de ce sang. L'analyse moléculaire montre donc clairement que l'échantillon de sang analysé ne provenait pas du nouveau-né identifié comme patient ALD et élimine la possibilité d'un résultat faux négatif.

À ce stade, le test de dépistage a été validé et les échantillons de sang de tous les sujets analysés ont été correctement identifiés. Dans cette population limitée en nombre et selon nos données TMS, il n'y a eu aucune identification de type faux négatif ou positif.

**Futures directions de recherche**

Nous sommes conscients que le nombre relativement restreint d'échantillons de sang soumis à l'analyse TMS n'est pas suffisant pour pouvoir valider l'adéquation de cette méthode sur une population beaucoup plus large de sujets. Il est nécessaire d'effectuer une analyse TMS sur un nombre beaucoup plus important d'échantillons de sang provenant de nouveau-nés. Dans l'idéal, ce nombre devrait inclure des échantillons prélevés sur des prématurés à la naissance, présentant des troubles hépatiques et/ou d'autres complications pouvant affecter le métabolisme des lipides.

Des études supplémentaires portant sur un effectif beaucoup plus important de sujets sont en cours afin de déterminer la fiabilité clinique de la méthode en conditions réelles de pratique médicale. 5 000 échantillons prélevés dans l'état du Maryland sont actuellement en cours d'analyse par notre groupe de Baltimore. Tous les échantillons dont les résultats semblent suggérer une anomalie peroxysomale seront signalés à l'état du Maryland et des études de suivi détaillées seront effectuées sur ces échantillons à l'Institut Kennedy Krieger. Ces études détermineront si le résultat anormal observé était dû à une maladie peroxysomale ou seulement à un résultat "faux positif". Nous prévoyons également de réaliser des analyses sur environ 100 000 échantillons anonymes au laboratoire Genetics Laboratory de la Mayo Clinic de Rochester (Minnesota). Tout résultat anormal détecté par la méthode à haut débit du laboratoire de dépistage prénatal de la Mayo Clinic sera confirmé par nous-mêmes à Baltimore. Ces 100 000 analyses et les 5 000 autres du Maryland permettront de déterminer la spécificité de la méthode.



Roberto Mastroeni

### IGF-1 et NT-3 dans la thérapie de l'adrénoleucodystrophie

Roberto Mastroeni - Brain Mind Institute - Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Lausanne, Suisse

L'adrénoleucodystrophie (ALD) est une maladie génétique qui cause une démyélinisation progressive du cerveau ou une atteinte du prolongement des nerfs (axones) dans la moelle épinière. La souris ALD représente un bon modèle de la forme adulte d'ALD appelée adrénomyélineuropathie qui se caractérise avant tout par une atteinte des axones dans la moelle épinière. Nous avons évalué chez cette souris ALD le potentiel thérapeutique de l'administration d'IGF-1 et de NT-3, deux protéines ayant des propriétés trophiques protectrices sur les neurones et les oligodendrocytes qui fabriquent la myéline.

Pour tester l'efficacité de ces 2 substances, nous avons eu recours à l'injection de "vecteurs-médicaments" de thérapie génique pour faire exprimer les gènes de l'IGF-1 et du NT-3 dans le liquide céphalorachidien de souris ALD âgées de 17 mois et qui présentent des symptômes moteurs de la maladie. Cinq mois après l'injection de ces "vecteurs-médicaments", nous avons observé un effet thérapeutique clair sur les capacités motrices des souris ALD traitées. L'analyse des souris a montré également que les câbles des nerfs dans la moelle épinière étaient mieux myélinisés.

Ces résultats prometteurs ouvrent la voie pour envisager cette approche thérapeutique chez des patients atteints d'AMN. De nombreuses études sont cependant encore nécessaires avant de pouvoir envisager un essai thérapeutique chez les patients AMN.

### Thérapie génique de l'adrénoleucodystrophie : premiers résultats de l'essai thérapeutique

Dr Nathalie Cartier-Lacave - INSERM U 745, Paris, France

La greffe de cellules souches hématopoïétiques de donneur est le seul traitement efficace dans les formes cérébrales d'ALD, lorsqu'elle est réalisée à un stade précoce de l'évolution de la maladie et qu'un donneur compatible (de moelle osseuse ou de cordon ombilical) est disponible. Dès que le gène a été cloné, notre objectif a été de corriger les propres cellules souches hématopoïétiques des patients à l'aide d'un vecteur viral pour proposer une autogreffe de cellules corrigées. Le développement des vecteurs lentiviraux dérivés du virus du SIDA, le VIH, a rendu cette stratégie beaucoup plus efficace et nos résultats précliniques nous ont permis de déposer une demande d'essai thérapeutique. En décembre 2005, nous avons obtenu l'autorisation de l'AFSSAPS de traiter 5 enfants atteints d'ALD cérébrale par thérapie génique. Leurs cellules CD34+ sont prélevées et transduites avec un vecteur HIV-ALD puis réinjectées lorsque tous les tests sécuritaires sont normaux. Trois enfants ont été traités. Le traitement a été parfaitement toléré. On retrouve bien dans le sang des enfants un pourcentage stable de leucocytes (globules blancs) exprimant la protéine ALD normale. Tous les tests sécuritaires réalisés à ce jour sont satisfaisants. L'évolution clinique et radiologique avec un recul allant jusqu'à 16 mois est comparable à celle observée après une greffe de cellules normales de donneur. Ces résultats sont très encourageants. Ils démontrent que l'on peut, par thérapie génique, stabiliser l'ALD cérébrale. C'est la première fois que l'on obtient, par thérapie génique, un tel effet thérapeutique pour une grave maladie neurologique.

Notre objectif est de poursuivre cet essai en incluant deux autres patients, et de l'étendre à un plus grand nombre d'enfants et d'adultes atteints d'ALD cérébrale. La production de vecteur de grade clinique en quantité suffisante est aujourd'hui le problème majeur, en terme de disponibilité, qualité et coût. C'est notre priorité. À plus long terme, notre objectif est aussi de démontrer que la thérapie génique pourrait être efficace pour traiter l'AMN de l'adulte. Nous travaillons à la démonstration préclinique dans des modèles animaux.



Dr Nathalie Cartier-Lacave

## Maladie de Refsum

### La maladie de Refsum adulte : nouveau point de vue pour une vieille maladie

Dr Morten Horn - Department of Neurology, Oslo University Hospital Ullevål, Oslo, Norvège

La maladie de Refsum adulte (ARD) a été décrite pour la première fois en 1945 par le neurologue norvégien Sigvald Refsum (1907-1991). Les patients étudiés par le professeur Refsum étaient très malades et à un stade avancé de la maladie. En fait, trois des cinq premiers patients qu'il a décrit sont morts peu de temps après que le diagnostic ait été posé. Sur la base de la description initiale du professeur Refsum, les médecins du monde entier s'attendent à ce que l'ARD soit une combinaison des symptômes suivants : rétinite pigmentaire (entraînant une vision télescopique et une cécité nocturne progressives), polyneuropathie chronique (entraînant faiblesse et engourdissement des bras et jambes) et ataxie (se manifestant par un trouble de l'équilibre et des problèmes de coordination des bras et jambes).

Cependant, au cours des années 60, une nouvelle description des manifestations de cette maladie chez les patients a été faite qui modifie la conception que nous avons de l'ARD. En particulier, le travail important du Dr Brian Gibberd (1931-2006) a permis de montrer comment l'ARD se développe au cours de la vie des patients. Le Dr Gibberd a identifié et décrit environ 40 patients en Grande-Bretagne et a publié ses résultats dans de nombreux articles. Un des résultats les plus importants mis en évidence a été que chez presque tous les patients, le premier symptôme à apparaître concernait la cécité nocturne et la vision télescopique ; les symptômes de la rétinite pigmentaire. La perte du sens olfactif (appelée anosmie) était également un phénomène précoce. Les autres symptômes comme la polyneuropathie et l'ataxie apparaissaient plus tard au cours de la maladie, souvent de nombreuses années après que les problèmes de vision soient apparus.

Ces observations sont importantes car l'ARD est une maladie qui peut être traitée. Si les patients maintiennent un régime alimentaire avec une quantité réduite en acide phytanique (c'est-à-dire un régime sans produits laitiers riches en graisses, ni viande grasse de ruminants ou de poissons gras), les niveaux d'acide phytanique contenus dans le corps chuteront et plusieurs des symptômes de l'ARD s'amélioreront. Ceci est surtout vrai pour la polyneuropathie et l'ataxie (trouble de l'équilibre et de la coordination des bras et jambes), les troubles cardiaques (perturbations du rythme cardiaque) et des problèmes de peau (peau sèche qui s'écaille). Les problèmes de vision et d'audition, par contre, s'amélioreront rarement avec le régime, mais il permettra souvent de stopper la détérioration progressive observée chez les patients non traités.

Nous comprenons maintenant à quel point un diagnostic précoce d'ARD est important. Grâce à un diagnostic précoce, par exemple lorsque la rétinite pigmentaire est diagnostiquée (les troubles oculaires), un régime

alimentaire peut être prescrit. Ainsi le patient peut espérer stopper la détérioration de sa vision et éviter le développement ultérieur des autres symptômes de la maladie.

L'un de mes propres projets de recherche consiste à étudier des patients norvégiens avec rétinite pigmentaire et à évaluer les niveaux d'acide phytanique du sang pour confirmer si ces patients ont une forme débutante d'ARD. En Norvège, aucun nouveau patient atteint d'ARD n'a été officiellement déclaré au cours des 50 dernières années, par rapport aux 11 patients signalés au cours de la deuxième guerre mondiale. C'est pourquoi nous avons décidé de conduire une recherche de nouveaux patients et nous pensons les trouver parmi les malades atteints de rétinite pigmentaire.

En tant que médecin, j'estime que le corps médical doit modifier sa façon de penser sur l'ARD. Actuellement, cette maladie est surtout le domaine des neurologues. Mais comme nous l'avons expliqué ci-dessus, souvent le neurologue est amené à voir le patient d'ARD seulement plusieurs années après que la maladie ne se soit manifestée pour la première fois chez ce patient. Il serait peut-être plus judicieux de traiter cette maladie comme une maladie oculaire où les problèmes neurologiques peuvent survenir comme des complications si le patient n'est pas traité suffisamment tôt. De cette façon nous pourrions espérer identifier les patients de façon plus précoce pour pouvoir les traiter, avant que des complications irréversibles ne se produisent.

## Atelier MLD et autres leucodystrophies lysosomales

### MLD

#### Vers un essai de thérapie génique par transfert intracérébral de gène

Dr Caroline Sevin - INSERM U 745, Paris, France

La leucodystrophie métachromatique (MLD) est une maladie démyélinisante mortelle liée à une surcharge lysosomale causée par un déficit en arylsulfatase-A (ARSA). Nous avons précédemment montré que le transfert intracérébral du gène ARSA en utilisant un vecteur adéno-associé (AAV/ARSA), corrige la maladie dans le modèle de souris MLD. Avant de lancer une application clinique, une étape indispensable consistait à évaluer la faisabilité, l'efficacité et la sécurité du transfert intracérébral du gène AAV/ARSA dans un cerveau de plus grande taille et plus proche de la taille du cerveau d'un enfant. En raison du manque d'un grand modèle animal pour la MLD, nous avons utilisé un primate non humain pour



Dr Caroline Sevin

cette étude. Le vecteur AAV5-ARSA a été injecté dans 3 zones sélectionnées de la substance blanche ou des noyaux gris sous-corticaux de l'hémisphère droit des singes. Les animaux ont été étudiés pendant 3 mois après injection. L'intervention a été bien tolérée et les examens neurologiques et cliniques sont demeurés normaux sur toute la durée de l'expérimentation. Les injections intracérébrales ont entraîné une large diffusion du vecteur recombinant (35 à 45% de l'hémisphère injecté). L'enzyme ARSA a été largement exprimée, principalement dans les neurones du cortex cérébral et les noyaux sous-corticaux, avec des différences minimales observées entre les animaux. L'activité de l'ARSA a été significativement augmentée dans 50 à 65% de l'hémisphère injecté. Un processus inflammatoire très modéré limité à la zone de l'injection a été signalé. Dans leur ensemble, les résultats de cette étude chez les primates sont très encourageants et suggèrent fortement que l'injection intracérébrale du vecteur AAV/ARSA pourrait être bénéfique pour les enfants atteints des formes infantiles les plus graves et des formes juvéniles précoces de la MLD.

Nous avons utilisé un nouveau sérotype d'AAV pour la dernière phase de notre étude pré-clinique qui a démontré une plus grande efficacité que le vecteur AAV5 en ce qui concerne la diffusion au cerveau (grâce à une meilleure diffusion du vecteur et une meilleure expression de la protéine thérapeutique). Nous avons récemment démontré que l'injection intracérébrale de ce nouveau vecteur conduit à de meilleurs résultats chez les souris MLD que le vecteur précédent AAV5/ARSA (en termes de diffusion et d'expression de l'ARSA recombinante, de correction de la surcharge en sulfatides et des lésions neuropathologiques du SNC). Une étude clinique à long terme chez les souris MLD est en cours.

Un lot de type "clinique" du vecteur AAV/ARSA est actuellement en cours de production et sera bientôt utilisé pour effectuer les dernières études demandées par l'AFSSAPS, avant d'envisager l'utilisation clinique de notre approche de thérapie génique :

- étude (efficacité et sûreté) chez les primates ;
- études toxicologiques et de biodistribution chez les rats et les primates.

Notre objectif final est de soumettre fin 2010 à l'agence de régulation française AFSSAPS une demande d'autorisation de thérapie génique (IND) destinée au traitement des patients atteints de la forme infantile tardive de la MLD, à un stade précoce de la maladie.

### Thérapie génique par cellules souches hématopoïétiques pour le traitement des leucodystrophies métachromatiques

Dr Alessandra Biffi - Telethon Institute for Gene Therapy, Milan, Italie

La leucodystrophie métachromatique (MLD) est une maladie démyélinisante liée à une surcharge lysosomale causée par un déficit héréditaire en arylsulfatase-A (ARSA). Vu qu'il n'existe à l'heure actuelle aucune thérapie efficace, le besoin médical pour la MLD est très urgent. Nous avons montré récemment que chez la souris, la greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH, cellules à l'origine des composants sanguins) corrigées par des vecteurs de thérapie génique de dernière génération (dits lentiviraux, LV) permet de délivrer les enzymes lysosomales au système nerveux des souris malades. Le traitement permet de prévenir et de corriger les manifestations fonctionnelles et pathologiques et les déficits neurologiques déjà établis de la MLD, lorsqu'il est appliqué aux stades pré-symptomatique et symptomatique respectivement. Le degré d'efficacité de la thérapie génique dépend des taux d'activité enzymatique dans les cellules CSH et dans les organes cibles, renforçant donc le concept que l'unique avantage de la thérapie génique serait dû à l'expression de l'enzyme ARSA fonctionnelle dans les cellules CSH en quantité supérieure à celle des donneurs sains. Nous avons également optimisé la correction des gènes de CSH humaines grâce à des LV à grande échelle dans le but d'obtenir un transfert du gène et une sur-expression de l'enzyme efficaces dans les cellules. La reproductibilité et la sécurité du protocole de transduction a pu être démontrée sur des modèles adaptés. La production de vecteurs LV de grade clinique a été optimisée pour



Dr Alessandra Biffi

permettre une production de LV à grande échelle, avec un titre élevé et de grande qualité. A partir de ces données nous sommes en train de mettre en place un essai de thérapie génique utilisant des CSH chez des patients atteints de MLD qui débutera en 2009.

Aucune norme n'étant disponible pour définir les critères auquel un patient doit répondre pour devenir candidat au premier essai clinique de thérapie génique dans la MLD, nous avons pris en compte à la fois les informations obtenues par notre étude de l'histoire naturelle de la maladie et certaines considérations éthiques sur la maladie. Au cours des six dernières années, nous avons étudié l'histoire naturelle de la MLD sur une large cohorte de patients. Notre observation clinique et instrumentale ont confirmé que les patients présentant une forme précoce de la maladie (infantile tardive et juvénile précoce) présentent une progression clinique homogène et très rapide, alors que les patients atteints de variantes plus tardives (juvénile tardive et adulte) se présentent plus hétérogènes, bien que caractérisés par une stabilité relative de la maladie. Selon ces données, les patients souffrant des formes précoces pourraient avoir un meilleur rapport bénéfice/risque, vu la sévérité de la maladie. Au contraire, chez les patients dont la maladie débute à un stade tardif, il serait plus difficile de distinguer entre le bénéfice clinique potentiel et l'évolution naturelle et bénigne de la maladie. Sur le plan des considérations éthiques en rapport avec la MLD, nous avons privilégié les principes d'autonomie, de bienfaisance et de non-malfaisance. Ces principes précisent que, dans le cas d'une maladie comme la MLD où le tuteur doit donner son consentement, et où le traitement est irréversible avec des risques potentiels graves, l'essai clinique doit viser à apporter un bénéfice clinique significatif aux patients. C'est pourquoi, compte tenu des considérations éthiques,

nous introduirons des paramètres d'efficacité clinique dans le design de l'essai.

### Essai clinique de thérapie par substitution enzymatique dans le traitement des leucodystrophies métachromatiques

Dr Christine Dali - Dept. of Clinical genetic, Copenhagen University Hospital, Copenhagen, Danemark

Treize enfants (5 garçons et 8 filles) atteints de la forme infantile tardive de la MLD (âge moyen de 34 mois ; intervalle de 24 à 59) ont participé à la phase I/II d'un essai clinique ouvert d'enzymothérapie substitutive à doses croissantes. L'arylsulfatase-A humaine recombinante (rhASA) leur a été administrée par intraveineuse une fois toutes les 2 semaines pendant 52 semaines. Quatre enfants ont reçu une dose faible (0,625 mg/kg), cinq une dose moyenne (1,25 mg/kg) et quatre autres une dose élevée (2,50 mg/kg) ; il n'existait pas de groupe placebo. 10 des 13 enfants participant à l'étude présentaient une forme avancée de la maladie au départ. Onze enfants ont terminé l'essai ; deux l'ont arrêté en raison de la progression de la maladie et de leur incapacité à voyager respectivement les semaines 18 et 30. Les perfusions d'enzymes ont été bien tolérées en général et ont pu être poursuivies sans interruption sur toute la durée de l'essai. 7 enfants ont développé des réactions liées aux perfusions d'intensité légère à modérée et de nature transitoire. Ces réactions étaient caractérisées par une faible fièvre, des nausées et des vomissements, une pâleur, des malaises et des éruptions d'urticaire, isolément ou combinés. Les symptômes ont été traités par des médicaments ou un traitement préventif, selon les cas. Une analyse a montré la présence d'anticorps à la rhASA chez ces 7 enfants. L'analyse des biomarqueurs potentiels dans le liquide céphalorachidien

Dr Christine Dali



(LCR) a révélé une réduction des niveaux de galactocérobroside-3-sulfate (sulfatide) dans le groupe des patients ayant reçu des doses élevées, qui est apparue au cours de la semaine 10 et a atteint une valeur minimale en semaine 26, en se maintenant durablement jusqu'à la semaine 52. Aucun effet facilement perceptible de l'enzymothérapie substitutive sur les fonctions motrices ou cognitives n'a pu être observé au cours de l'essai. Un groupe placebo serait nécessaire en parallèle pour pouvoir détecter les effets bénéfiques éventuels de l'enzymothérapie substitutive sur le degré de progression clinique dans le cas d'une maladie avancée.

Nous en concluons que la rhASA peut être administrée sans risque par intraveineuse aux enfants atteints de MLD infantile tardive pour des périodes pouvant aller jusqu'à 52 semaines. Une réponse pharmacologique consistant en une réduction des niveaux de sulfatide du LCR s'est produite à la dose de 2,50 mg/kg de rhASA administrée une semaine sur deux. Pour démontrer les bénéfices cliniques de cette thérapie, un nouvel essai clinique, actuellement en cours de préparation, étudiera probablement des administrations hebdomadaires d'enzyme par intraveineuse et une exposition à des taux plus élevés à destination des patients présentant une forme précoce de la maladie ; un groupe contrôle placebo sera probablement exigé en parallèle.

## Krabbe

### ☀ Test d'efficacité d'une greffe de cellules souches neuronales couplée à une thérapie génique et pharmacologique pour traiter la maladie de Krabbe

Dr Angela Gritti - HSR-TIGET, Fondazione San Raffaele del Monte Tabor, Milan, Italie

La leucodystrophie à cellules globosides (GLD) est un trouble neurodégénératif génétique grave affectant le système nerveux central et périphérique et les organes viscéraux, causé par une déficience de l'enzyme lysosomale GALC. La GLD étant une affection globale, de nouvelles stratégies combinées sont nécessaires pour cibler les différents sites de la maladie au moment opportun durant son évolution. Plus encore, étant donné la démyélinisation étendue et le dommage tissulaire qui caractérisent la GLD (résultant également d'une forte neuro-inflammation), le recours à des thérapies visant à une réparation cérébrale semblent essentielles pour pouvoir soigner totalement la maladie. Les cellules souches neurales (NSC) apparaissent comme le standard de référence à utiliser dans la thérapie cellulaire visant à la réparation cérébrale de plusieurs maladies neurodégénératives.

Nous proposons d'exploiter la biologie particulière des NSC (auto-renouvellement et expansion *in vitro*, multipotence, capacité à exprimer des molécules thérapeutiques après correction du gène à la fois *in vitro* et après transplantation dans le cerveau hôte, intégration dans le SNC et réparation des tissus, activité immunomodulatrice) couplée à une thérapie génique (afin d'obtenir une surexpression stable de GALC dans les

cellules du donneur et/ou pour apporter directement le GALC dans le SNC) et une thérapie pharmacologique (afin de réduire l'inflammation dans le SNC du receveur). Le but final est de corriger l'anomalie métabolique, de restaurer l'activité enzymatique, la démyélinisation étendue et les dommages du SNC dans les modèles murins de GLD reproduisant la gravité et la progression rapide de la maladie humaine.

Ce projet ouvre de nouvelles perspectives pour le développement de protocoles de thérapies cellulaires/géniques combinées dans le traitement des maladies de surcharge lysosomale avec une implication neurologique. Si une telle recherche s'avère efficace, la disponibilité de NSC humaines dans la communauté scientifique garantirait un avancement rapide de cette étude vers des expérimentations pré-cliniques et cliniques.

## Atelier Syndrome CACH - Maladie d'Alexander - MLC

### Syndrome CACH

#### ☀ Le nouveau modèle de souris créé pour l'étude du syndrome CACH montre des anomalies spécifiques

Pr Orna Elroy-Stein - Dept. of Cell Research & Immunology, George S. Wise Faculty of Life Sciences, Tel Aviv, Israël

Les éléments de base de la production de myéline, l'isolant des fibres nerveuses, sont codés par des gènes. La mutation génétique dans un code critique de l'information génétique associée conduit à une production moindre ou anormale de myéline qui se détériore progressivement sans que puisse s'opérer son remplacement. L'ataxie infantile avec hypomyélinisation du SNC (CACH : Childhood Ataxia with CNS Hypomyelination), également connue sous le nom de syndrome de la substance blanche disparaissante (VWM : Vanishing White Matter), désigne les "leucodystrophies liées à des mutations eIF2B" d'après le nom du gène muté. Il est intéressant de noter que le gène eIF2B n'est pas directement impliqué dans la formation de la myéline, mais il est indispensable pour la synthèse générale des protéines, un processus fondamental commun à toutes les cellules vivantes. Il est donc surprenant qu'une mutation de ce gène ne soit pas dangereuse pour les autres types de cellules du corps, comme c'est le cas pour les cellules gliales myélinisantes du cerveau. Dans le but de comprendre le dysfonctionnement des cellules avec mutation eIF2B, nous avons commencé notre recherche en utilisant des cellules provenant de biopsies de peau prélevées sur des enfants malades ou sains. Nous avons

découvert que les cellules provenant de patients sont hypersensibles au stress physiologique. Pour comprendre comment cette réponse anormale au stress cellulaire pourrait affecter la formation et la maintenance de la myéline, il nous fallait étudier les cellules cérébrales qui bien entendu ne peuvent provenir de patients humains. Nous avons donc généré un modèle de souris pour la maladie en utilisant des techniques avancées de génétique pour introduire dans son génome une mutation spécifique (nommée "knock-in") dans le gène codant pour la sous-unité catalytique d'eIF2B (eIF2B5). Cette souris "knock-in" (KI) eIF2B5 homozygote génétiquement modifiée constitue le premier modèle animal disponible pour l'étude des leucodystrophies liées à des mutations eIF2B. Ces souris expérimentales offrent pour la première fois une possibilité unique d'étudier l'effet de la mutation sur la biochimie du cerveau. Les souris présentent des défauts des fonctions motrices à un âge précoce, mais leurs symptômes neurologiques sont modérés, à l'instar de la forme tardive de la maladie chez l'homme, soulignant l'importance du stress environnemental dans la progression de la maladie. Plusieurs séries séquentielles d'IRM permettant de suivre le développement du cerveau et d'analyser les différences quantitatives des différentes régions sur le cerveau entier ont montré le développement retardé et anormal de régions spécifiques du cerveau. En outre, il a été mis en évidence chez ces souris un dysfonctionnement cellulaire des astrocytes, qui représentent un type spécifique de cellules cérébrales gliales soutenant les neurones. Les souris eIF2B5-KI vont permettre d'aborder les questions liées à la régulation de la synthèse protéique au cours des processus clés de formation et de maintenance de la myéline. L'étude approfondie des aspects fondamentaux de la myélinisation et de son contrôle constitue une étape importante dans la mise au point d'une thérapie pour les leucodystrophies liées à des mutations eIF2B et les autres maladies associées à la myéline. Les souris sont également un outil expérimental puissant pour étudier le rôle du stress environnemental sur la progression de la maladie et un modèle animal d'importance pour le criblage de médicaments dans le futur.

Pr Orna Elroy-Stein



## Maladie d'Alexander

### ☀ Approches thérapeutiques, pharmacologiques et shARN, dans des modèles cellulaires et animaux de la maladie d'Alexander

Dr Danielle Pham-Dinh - INSERM U975, Paris, France

La maladie d'Alexander est due à des mutations dans le gène codant pour la GFAP, protéine du cytosquelette de l'astrocyte. Les mutations entraînent la formation d'agrégats ou inclusions (les fibres de Rosenthal) contenant de la GFAP, de l'ubiquitine et les petites protéines du stress (Hsp27 et  $\alpha$ B-crystalline). Les systèmes visant à replier (chaperones, particulièrement HSP40 et HSP70) ou dégrader (système ubiquitine-protéasome et autophagie) les protéines défectueuses sont mis en jeu dans de nombreuses maladies neurodégénératives liées à des agrégats protéiques. Il était probable que ces systèmes soient impliqués dans la maladie d'Alexander, comme le suggère le marquage des fibres de Rosenthal par des anticorps anti-ubiquitine, Hsp27,  $\alpha$ B-crystalline, et comme cela a été récemment démontré par d'autres équipes.

Nous avons construit un modèle cellulaire de la maladie d'Alexander en exprimant la GFAP mutée fusionnée à la GFP dans divers types cellulaires (astrocytes murins, cellules U373, SW13). La protéine mutée forme des agrégats immunoréactifs pour des anticorps anti-Hsp27,  $\alpha$ B-crystalline et ubiquitine, comme dans les autres modèles publiés. Par ailleurs, des expériences de vidéo-microscopie nous montrent que les agrégats de GFP-GFAP mutée sont labiles dans 10% des cellules transfectées, nous incitant à rechercher l'implication des voies de repliement/dégradation des protéines anormales. Les immuno-marquages de ces cellules montrent que :

- les marqueurs de l'autophagie mTOR et ATG5 colocalisent avec les agrégats,
- HSP40 et HSP70 colocalisent avec les agrégats,
- Métachromatique70, médiateur de l'autophagie chaperone-dépendante, colocalise avec les agrégats en présence de lactacystine.

L'implication des voies de repliement/dégradation dans les processus de désagrégation des protéines anormales a également été abordée dans notre modèle grâce à l'utilisation de drogues inductrices ou inhibitrices. Les drogues inhibant le système ubiquitine-protéasome (lactacystine, MG132) et l'autophagie (3-méthyladénine, bafilomycine A) augmentent l'agrégation de GFAP, tandis que les drogues qui induisent l'expression des chaperones HSP70 et HSP40 (geldanamycine, 17DMAG, celastrol) et celles qui induisent l'autophagie (rapamycine, tréhalose) la diminuent. Ces voies sont donc des cibles pharmacologiques potentielles.

La stratégie de l'extinction de l'ARN de GFAP par une construction lentivirale sh-anti-GFAP (collaboration avec J. Mallet) a également été testée *in vitro* avec succès. Les approches pharmacologiques et celle de l'interférence de l'ARN seront appliquées à deux souris KI exprimant des mutations différentes de la GFAP.

**Recherche en cours concernant les approches thérapeutiques pour la maladie d'Alexander**

Dr Albee Messing - Waisman Center, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI, USA

La maladie d'Alexander est une maladie généralement mortelle qui résulte dans presque tous les cas de mutations d'un seul gène, la GFAP (protéine acide fibrillaire gliale). Pour les deux tiers des patients environ, la maladie se déclare au cours des deux premières années de la vie, et la moitié de ces patients atteints décèdent avant l'âge de 6 ans. La GFAP fait partie de la famille large de gènes connu sous le nom de "filaments intermédiaires", parmi lesquels on trouve les kératines des cheveux, de la peau et d'autres protéines. Bien que la GFAP soit présente dans plusieurs types cellulaires de l'organisme, elle est plus abondante dans les astrocytes, un des principaux types cellulaires du cerveau et de la moelle épinière. Quel rôle la GFAP joue-t-elle normalement dans les astrocytes, et comment les mutations changent-elles les fonctions protéiques et cellulaires pour déclencher la maladie, sont les principales questions qui demeurent actuellement sans réponse.

Dr Danielle Pham-Dinh



Un certain nombre d'observations indiquent qu'un au moins des effets de la GFAP mutée est d'induire une augmentation de la quantité totale de GFAP dans les astrocytes. Nous avons proposé que si cette augmentation atteint des niveaux suffisamment élevés, elle devient toxique pour les astrocytes, en occasionnant des effets secondaires nocifs à la fois pour les neurones et les oligodendrocytes (les cellules qui fabriquent la myéline).

Pour faciliter la recherche sur les changements cellulaires et moléculaires à l'origine de la maladie d'Alexander, nous avons développé plusieurs lignées de souris d'exception qui simplifient les études sur les fonctions des astrocytes et les réponses liées aux lésions. L'une d'entre elles est conçue pour permettre une mesure rapide de la première phase dans l'activité génique - la production d'ARNm à partir de l'ADN. D'autres types de lignées comportent les mutations communes associées à la maladie d'Alexander dans leurs propres copies du gène GFAP, et développent des fibres de Rosenthal dans les astrocytes, comme dans celles se formant chez les patients humains. Dans un modèle expérimental, pratiquement toutes les souris meurent à un âge précoce, c'est-à-dire 4 à 5 semaines après leur naissance.

Notre laboratoire développe deux directions de recherche pour la mise au point de traitements contre la maladie d'Alexander. La première vise à trouver des composés ou des médicaments qui stoppent la production de GFAP, selon l'hypothèse qu'une baisse de la production de la protéine mutante, entraînant une baisse des niveaux totaux en dessous du seuil toxique, réduirait la pathologie et les symptômes. Nous avons conçu un système de culture des astrocytes permettant le criblage d'un grand nombre de composés sur une courte période. Initialement, nos efforts se sont concentrés sur les collections riches en médicaments à usage humain déjà approuvées par la FDA (organisme officiel américain chargé de contrôler la qualité des aliments et de délivrer les autorisations de mise sur le marché des produits pharmaceutiques), ou sur des produits naturels pour lesquels l'autorisation de la FDA n'est pas obligatoire (soit un total de 2 880 médicaments ou composés). De cette manière, les médicaments considérés comme prometteurs pourraient être utilisés dans de futurs essais cliniques sans avoir à supporter les coûts prohibitifs souvent associés au développement de composés totalement nouveaux. De tels coûts sont actuellement l'un des obstacles principaux à la mise au point de nouveaux traitements pour les maladies rares comme la maladie d'Alexander.

Une deuxième stratégie potentielle pour le traitement implique une manipulation de la "réponse au stress" des astrocytes, qui représente une altération de l'activité de centaines de gènes se produisant naturellement dans les cellules exposées à une variété d'agressions ou de lésions. Nous avons constaté que la production de GFAP mutante et l'accumulation de GFAP à des niveaux anormalement élevés, appellent cette réponse des astrocytes. On peut estimer que certains aspects de cette réponse représentent un moyen pour les astrocytes de se protéger de lésions futures. En utilisant les modèles de souris de la maladie d'Alexander, nous avons découvert qu'augmenter la production d'une protéine de stress, connue sous le nom d'αB-crystalline, assure une protection spectaculaire contre les effets par ailleurs mortels de la mutation et de l'excès de GFAP.

**MLC**

**La leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes subcorticaux : d'une maladie nouvelle vers le gène et la protéine**

Pr Marjo van der Knaap - Department of Child Neurology, VU University Medical Center, Amsterdam, Pays-Bas

La leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes subcorticaux (MLC) a été décrite pour la première fois en tant que maladie à part entière en 1995. Les patients présentent un état normal au départ, puis développent une macrocéphalie durant la première année de la vie. À ce stade, l'IRM du cerveau indique déjà des anomalies impressionnantes de la substance blanche cérébrale, bien que l'état des patients reste toujours normal ou présente seulement un retard modéré. Au bout de quelques années, la détérioration neurologique graduelle débute par une ataxie et une spasticité lente et progressive, conduisant généralement à une dépendance en fauteuil roulant à un âge situé entre 10 et 20 ans. Les paramètres de l'IRM indiquent que la teneur en eau de la substance blanche est fortement augmentée. La pathologie cérébrale présente des vacuoles innombrables à l'intérieur de la substance blanche cérébrale, associée à une division de la myéline et à la formation de vacuoles intramyéliniques.

Sur la base des critères d'IRM, nous avons sélectionné des patients et collecté des échantillons d'ADN de ces patients et de leurs familles. Nous avons effectué une étude génétique et avons identifié en 2001 un gène pour la MLC : le MLC1. Tous les types de mutations existent ; de nombreux patients présentent des mutations nulles. Jusqu'ici, aucune relation génotype-phénotype n'a pu être trouvée. Le gène code pour une protéine membranaire, exprimée dans le cerveau et dans les globules blancs. Le groupe de recherche du Dr. Estevez et le nôtre ont découvert que la protéine MLC1 se situe dans le cerveau aux extrémités astrocytaires, au niveau de la barrière hématoencéphalique et du liquide céphalorachidien-cerveau. La fonction de cette protéine reste à ce jour inconnue.

Chez 25% des patients atteints de MLC, aucune mutation de MLC1 n'a été observée. Ces résultats indiquent qu'il doit y avoir au moins un autre gène responsable de la MLC. Les études génétiques effectuées par nous-mêmes ou par d'autres et l'analyse de gènes candidats n'ont pas permis l'identification d'un deuxième gène pour la MLC.

**La leucoencéphalopathie mégalencéphalique : début de réflexion vers des tests thérapeutiques**

Dr Raul Estevez - Departamento de Ciències Fisiològiques II, University of Barcelona, L'Hospitalet de Llobregat, Espagne

La leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux (MLC) est un type rare de leucodystrophie, le plus souvent causé par des mutations dans le gène MLC1. La fonction de la protéine MLC1 est complètement inconnue, bien qu'un lien avec les flux des canaux



Pr Marjo van der Knaap

ioniques ait été évoqué à son sujet. Notre groupe a contribué à comprendre la localisation exacte de la protéine MLC1 chez les vertébrés et à expliquer l'altération biochimique provoquée par les mutations MLC. Ces derniers travaux indiquent que la MLC est une maladie conformationnelle et suggèrent que des stratégies pharmacologiques visant à améliorer l'expression de MLC1 pourraient être utiles pour traiter certains patients atteints de MLC. Nous commenterons brièvement nos travaux précédents, et également les trois directions vers lesquelles nous comptons poursuivre nos recherches sur la MLC : les gènes/protéines importants pour la fonction de MLC1, et les modèles cellulaires et animaux de la maladie MLC basés sur un défaut de protéine MLC1. Nous conduirons une discussion sur la façon dont l'étude de ces modèles pourrait apporter des indications sur la physiopathologie de la maladie et le développement de futurs essais ayant pour but de trouver une thérapie pour les patients atteints de MLC.

**Atelier PMD - Leucodystrophies indéterminées**

**PMD**

**Étude des mécanismes d'épissage dans la PMD**

Pr Franca Cambi - Department of Neurology, Univ. of Kentucky College of Medicine, Lexington, KY, USA

La protéolipoprotéine (PLP) et la DM20 sont les principales protéines de la myéline, produites à partir du même gène (PLP1) par épissage alternatif, un processus permettant aux diverses protéines d'être produites à partir d'un gène unique. La PLP devient la protéine principale de la myéline dans le système nerveux central en développement ou adulte. Bien que le PLP et la DM20 diffèrent de 34 acides



Dr Raul Estevez

aminés seulement, qui sont absents dans la DM20, la PLP remplit des fonctions importantes dans les interactions entre les axones (câbles des nerfs) et la myéline (isolant autour des axones) contrairement à la DM20. Un certain nombre de mutations dans le gène PLP1 sont à l'origine de la maladie de Pelizaeus-Merzbacher et de la paraplégie spastique de type 2 (PMD/SPG2). Il a été démontré que les mutations affectant l'épissage alternatif du PLP/DM20 étaient responsables de la PMD/SPG2. Spécifiquement, toutes ces mutations réduisent l'abondance de PLP et sont associées à la maladie humaine. Nos travaux se sont focalisés sur la régulation de l'épissage alternatif du PLP par la caractérisation des séquences régulatrices dans l'ARN du PLP et les facteurs protéiques interagissant avec ces séquences. Nous avons adopté les deux approches suivantes : 1) examiner comment les mutations survenant chez les patients atteints de PMD affectent l'épissage du PLP et 2) introduire des mutations dans la région spécifique du PLP et analyser leur rôle dans l'épissage du PLP/DM20. Par l'analyse des mutations PMD, nous avons pu identifier des séquences importantes qui améliorent l'épissage alternatif du PLP. Nous présenterons nos résultats obtenus chez une souris que nous avons génétiquement modifiée pour qu'elle porte une délétion de la séquence d'ARN régulant l'épissage et montreront que la perte de cette séquence altère la quantité de PLP fabriquée dans le cerveau, entraînant une fonction motrice et une stabilité de la myéline insuffisantes. L'analyse systématique des mutations dans l'ARN spécifique du PLP nous a permis d'identifier un groupe de séquences et de facteurs d'épissage qui améliorent fortement la DM20. Nous présenterons des données sur le rôle de ces facteurs et des séquences de régulation de l'épissage du

PLP/DM20 dans les oligodendrocytes, les cellules qui fabriquent le PLP/DM20 et qui produisent la myéline. En résumé, nous avons créé un modèle de souris PMD dont la maladie est causée par l'altération de l'épissage du PLP/DM20, qui pourra être exploité dans de futurs essais thérapeutiques, et nous avons identifié les protéines régulant l'épissage du PLP/DM20 qui pourront être la cible d'interventions destinées à reconstituer la quantité normale de PLP.

### 🌱 Perspectives pour la thérapie de la maladie de Pelizaeus-Merzbacher (PMD)

Dr James Garbern - Wayne State University, School of Medicine, Detroit, MI, USA

Bien qu'il n'existe actuellement aucun traitement spécifique pour la PMD, nous prévoyons que les thérapies futures devront être conçues en fonction du type spécifique de mutation dont la personne est atteinte. Les patients souffrant de la forme la plus sévère de PMD présentent généralement des mutations du gène PLP1 qui entraînent la production d'une protéolipoprotéine anormale 1 (PLP1). Le Dr Alex Gow, un de mes collègues de l'université Wayne State aux Etats-Unis, a découvert que les cellules produisant la myéline (les oligodendrocytes) s'affaiblissent et dégèrent en raison de l'activation d'une réponse biochimique appelée "Réponse UPR" (Unfolded Protein Response). Le Dr Gow utilise actuellement des modèles animaux de PMD pour tester des médicaments qui réduisent l'activation de la réponse UPR dans l'espoir que ceci pourra réduire la quantité d'oligodendrocytes dégénérés et permettre de synthétiser une plus grande quantité de myéline.

L'approche la plus prometteuse pour une thérapie efficace des formes les plus sévères de PMD chez l'enfant est probablement la transplantation de cellules. L'obstacle principal à cette thérapie par transplantation cellulaire est probablement la difficulté d'implanter suffisamment de cellules dans un nombre suffisant de régions du système nerveux sans créer davantage de lésions. Plusieurs groupes, y compris celui du Dr. Steven Goldman à l'université de Rochester (USA), ont pu obtenir des résultats impressionnants en utilisant des progéniteurs de cellules gliales humaines (un type de cellule souche) pour traiter des souris porteuses d'une maladie génétique de la myéline, avec une bonne amélioration neurologique et une plus longue durée de vie. Les garçons atteints de formes graves de PMD, qui ont généralement très peu d'oligodendrocytes sains, pourraient être les meilleurs candidats pour la transplantation de cellules souches (ou idéalement de progéniteurs oligodendrocytaires). Des progrès notables ont été obtenus aux Etats-Unis dans ce domaine et une société leader dans le domaine des thérapies par les cellules souches a récemment reçu l'autorisation de la FDA américaine de procéder au premier essai clinique utilisant des cellules souches sur des patients atteints de PMD.

On trouvera cette annonce à l'adresse <http://www.stemcellsinc.com/news/081218.html>

En collaboration avec le Dr Skoff (l'un des intervenants au colloque d'ELA en 2008), nous avons poursuivi nos travaux sur certains des excellents modèles animaux de PMD, particulièrement sur la forme de PMD avec duplication du gène PLP1. Le Dr Skoff a pu montrer que



Dr James Garbern

l'inflammation joue un rôle important dans la progression de la maladie. Plus important encore, il a constaté que certains médicaments absorbés par voie orale étaient efficaces pour ralentir la progression de la maladie. Le Dr. Skoff a également constaté que les souris produisant une trop grande quantité de PLP1 développaient une inflammation cérébrale, ce qui n'avait pas encore été observé précédemment pour la PMD. Puisque les souris génétiquement dépourvues de défenses immunitaires et ayant une trop grande quantité de PLP1 présentent un syndrome neurologique plus atténué (comme l'a démontré le groupe du Dr Rudolf Martini en Allemagne), il est possible que les médicaments anti-inflammatoires puissent être utiles chez les patients présentant une duplication du gène PLP1.

Dans le cas de patients avec duplication du PLP1, pour lesquels une trop grande quantité de PLP1 est sans doute produite, le traitement idéal serait de développer des thérapies réduisant la quantité de protéine PLP1 fabriquée par les oligodendrocytes. Une thérapie potentiellement efficace consisterait à utiliser de petites molécules inhibitrices d'ARN (ARNi), qui ont été découvertes par les Drs. Fire et Mello, et qui leur valu le Prix Nobel de médecine en 2006. Les ARNi devraient spécifiquement réduire la quantité de gène PLP1 exprimé, idéalement à son niveau normal, ce qui devrait normaliser la myéline. La difficulté consiste à apporter ces ARNi aux cellules sans risque et sans provoquer d'effets secondaires toxiques. Le Dr Duncan de l'université du Wisconsin, et d'autres scientifiques, travaillent à tester ce type de thérapie chez les modèles animaux de PMD. Le traitement à base d'ARNi devrait également aider les patients souffrant de formes graves de PMD, puisque nous savons qu'un déficit total en PLP1 provoque des atteintes moins sévères que lorsque la production de PLP1 est excessive ou qu'il existe des déficiences graves de la protéine PLP1.

Les Drs Saher et Nave en Allemagne testent des médicaments destinés à faire baisser le cholestérol pour voir si ceux-ci peuvent aussi faire baisser la quantité de PLP1 chez les modèles animaux de PMD. Le Dr Robert Skoff de l'université Wayne State a fait quelques découvertes importantes : il existe également des effets métaboliques indirects induits par une quantité excessive de PLP1. Il a constaté que l'excès de PLP1 détériore les mitochondries, les structures subcellulaires fabriquant

l'adénosine triphosphate (ATP), un composé essentiel fournissant l'énergie pour les nombreuses réactions biochimiques des cellules. Le Dr. Skoff teste des traitements permettant d'améliorer la fonction mitochondriale, et de maintenir un bon état alimentaire chez les souris.

De façon étonnante, la myéline est produite chez des personnes ne pouvant produire aucun PLP1 (on parle de mutation PLP1 nulle), et leurs symptômes neurologiques ne sont pas aussi graves que ceux de la plupart des patients atteints de PMD. Etant donné que les oligodendrocytes ne dégèrent pas chez les personnes présentant des mutations nulles, la thérapie par greffe cellulaire n'est pas susceptible d'être efficace.

Par contre, la thérapie génique par le transfert d'un gène PLP1 normal peut être efficace. Les personnes présentant un syndrome nul tendent à connaître une détérioration plus rapide, commençant typiquement à l'adolescence. Nous pensons que la raison principale de cette détérioration est la dégénérescence des axones ou des fibres nerveuses. Des thérapies permettant de ralentir ou d'empêcher la dégénérescence axonale devraient être très utiles. Ces stratégies neuroprotectrices pourraient être également utiles dans d'autres maladies neurologiques. Les thérapies potentielles incluent les facteurs neurotrophiques et les protéines assimilables à des hormones qui sont importantes pour la santé neuronale. Chez les personnes présentant un syndrome nul dû aux mutations non-sens (un type spécifique de mutation par laquelle la cellule produit un PLP1 plus court), il existe des médicaments en cours d'évaluation dans d'autres maladies génétiques, pouvant aider la cellule à surmonter l'erreur génétique pour lui permettre de produire au moins une protéine PLP1 partiellement fonctionnelle. Il existe d'excellents modèles animaux pour chacun des différents types de PMD. Si certaines des études animales sont couronnées de succès, nous devrions être en mesure de démarrer l'évaluation de ces différents traitements chez les personnes atteintes de PMD.



# Leucodystrophies indéterminées

## Vers l'identification d'un nouveau gène impliqué dans la leucodystrophie dominante autosomique à début adulte

Dr Alfredo Brusco - University of Turin, Dept. of Genetics, Biology and Biochemistry, Turin, Italie

Les leucodystrophies sont pour la plupart des maladies infantiles ou juvéniles. Une maladie pourtant fait exception à cette règle, c'est une forme très rare de leucodystrophie appelée leucodystrophie dominante autosomique (ADLD) qui se déclare à 40/50 ans. Les premiers symptômes se manifestent par un dysfonctionnement des fonctions intestinales et urinaires, par de l'impuissance et par des chutes soudaines de tension artérielle lorsque le patient passe de la position couchée à la station debout (symptômes autonomiques). Ces symptômes sont suivis par l'atteinte d'autres réseaux neuraux (notamment un dysfonctionnement du faisceau pyramidal constaté par la dorsiflexion du grand orteil lorsque l'on stimule le côté latéral-plantaire du pied, de l'hyperréflexie et de la spasticité), une incoordination du mouvement des membres et des difficultés d'articulation dans le langage (dysfonctionnement cérébelleux). L'IRM indique une perte de myéline de forme caractéristique permettant de différencier cette maladie des autres leucodystrophies et d'autres maladies démyélinisantes comme la sclérose en plaques. Les signes et les symptômes de l'ADLD progressent lentement sur une période de 20 ans.

Le gène muté dans l'ADLD est la lamine B1 (LMNB1) sur le chromosome 5q23. Six familles d'origine géographique différente et présentant des caractéristiques identiques de la maladie ont été signalées jusqu'à présent. Chez tous les sujets atteints, une duplication du gène LMNB1, soit deux copies du gène sur le même chromosome, est présente. La lamine B1 est une protéine exprimée dans le noyau de toutes les cellules, et impliquée dans la maintenance de la structure nucléaire et dans la régulation de l'expression de nombreux gènes. Nous savons que la duplication entraîne une expression de la lamine B1 plus abondante que chez les sujets normaux, ce qui altère probablement la maintenance des oligodendrocytes, un type de cellule spécialisé dans la formation de la myéline du système nerveux central, comme il a été récemment démontré. Le mécanisme conduisant à la destruction de la myéline dans le cerveau des patients atteints d'ADLD est actuellement inconnu : pourquoi une protéine exprimée dans toutes les cellules aurait-elle une action privilégiée au niveau du cerveau, pourquoi les patients présentent les signes et les symptômes de la maladie seulement à partir de 40 ans ? telles sont deux des nombreuses questions encore sans réponse.

L'objectif de notre projet est d'étudier les bases génétiques d'une autre leucodystrophie autosomique dominante à début adulte présente dans une grande famille italienne sur sept générations, et décrite initialement il y a plus de 10 ans. Les sujets atteints

présentent des signes et des symptômes identiques à ceux de l'ADLD, bien que légèrement différents : début de la maladie à 40/50 ans, avec incoordination de la démarche (ataxie), spasticité, et difficultés d'élocution et pour avaler. Cependant, aucun des patients ne présente les dysfonctionnements autonomiques décrits au début d'une ADLD. D'un point de vue neuroradiologique, ces patients présentent une démyélinisation symétrique du cerveau, et se démarquent des patients atteints d'ADLD en ce qui concerne le cervelet, qui est relativement préservé.

Nous avons montré que le gène de la lamine B1 n'était pas dupliqué, contrairement à la présence du gène LMNB1 dupliqué constatée dans tous les cas d'ADLD identifiés jusqu'à présent. Nous avons également montré qu'aucune autre mutation n'était présente dans le gène LMNB1 de nos patients. Afin d'identifier la cause génétique de cette nouvelle leucodystrophie, nous avons procédé à une analyse nommée "scan du génome entier" qui nous a permis de localiser le gène responsable de la maladie sur le chromosome 5. Plus particulièrement, cette technique a défini un segment d'ADN héréditaire chez tous les sujets atteints de cette famille : celui-ci comporte 11 gènes, et il est intéressant de noter que la lamine B1, précédemment exclue, est présente dans cette liste. Ce résultat signifie que le gène muté présent dans notre famille se trouve parmi les onze gènes identifiés. Nous avons ensuite travaillé dans deux directions principales :

- 1) nous avons étudié l'expression de LMNB1, et démontré par PCR en temps réel que le gène LMNB1 était surexprimé dans les globules blancs des patients, comme c'est le cas également chez les patients présentant une duplication du gène.
- 2) nous avons étudié les dix autres gènes restants dans la région candidate, mais n'avons pu détecter aucune autre mutation.

En conclusion, ces résultats préliminaires montrent que nous avons identifié une variante de leucodystrophie identique à l'ADLD. Il existe des différences à la fois sur le plan clinique/neuroradiologique et génétique entre la forme que nous étudions et celle déjà décrite dans la littérature. Nous savons maintenant également que la cause génétique est liée au chromosome 5, et localisée sur un petit segment génétique. Aucun gène dans cet intervalle n'est apparemment muté, bien qu'il soit établi que la lamine B1 soit surexprimée, ce qui suggère que ce gène soit impliqué, d'une façon ou d'une autre.

Certaines indications préliminaires suggèrent la présence d'une délétion (c'est-à-dire la perte de matériel génétique) dans la région candidate sur le chromosome 5. Au cours des prochains mois, nous étudierons davantage ce point en utilisant une approche par hybridation génomique comparative sur puce à ADN (aCGH). Nous chercherons également à étudier l'effet de la délétion sur l'expression de la lamine B1, en essayant de démontrer son implication dans la pathogénie.

L'identification du gène causal de cette forme variante de la leucodystrophie dominante autosomique fournira la base pour une meilleure compréhension de la pathogénie des leucodystrophies, enrichira les tests génétiques disponibles pour les patients et leurs familles, et espérons-le, contribuera à faire progresser la connaissance de ce processus complexe de la myélinisation dans le système nerveux central. C'est une phase essentielle pour pouvoir

mettre au point de futurs traitements pour ces troubles rares et pour une meilleure connaissance des autres maladies démyélinisantes plus communes.

### REFERENCES

Brussino A, Vaula G, Cagnoli C, Mauro A, Pradotto L, Daniele D, Di Gregorio E, Barberis M, Arduino C, Squadrone S, Abete MC, Migone N, Calabrese O, Brusco A (2009) A novel family with Lamin B1 duplication associated with adult-onset leucoencephalopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 80:237-240  
 Lin ST, Fu YH (2009) miR-23 regulation of lamin B1 is crucial for oligodendrocyte development and myelination. *Dis Model Mech* 2:178-188  
 Meijer IA, Simoes-Lopes AA, Laurent S, Katz T, St-Onge J, Verlaan DJ, Dupre N, Thibault M, Mathurin J, Bouchard JP, Rouleau GA (2008) A novel duplication confirms the involvement of 5q23.2 in autosomal dominant leukodystrophy. *Arch Neurol* 65:1496-1501  
 Padiath QS, Saigoh K, Schiffmann R, Asahara H, Yamada T, Koeppe A, Hogan K, Ptacek LJ, Fu YH (2006) Lamin B1 duplications cause autosomal dominant leukodystrophy. *Nat Genet* 38:1114-1123  
 Quattrocchio G, Leombruni S, Vaula G, Bergui M, Riva A, Bradac GB, Bergamini L (1997) Autosomal dominant late-onset leucoencephalopathy. *Clinical report of a new Italian family. Eur Neurol* 37:53-61

## Identification du gène responsable d'une nouvelle forme de leucodystrophie : l'odonto-leucodystrophie

Pr André Mégarbané - Unité de Génétique Médicale, Faculté de médecine, Université Saint Joseph, Beyrouth, Liban

Les leucodystrophies représentent un groupe de maladies héréditaires très hétérogène, qui affecte la substance blanche, composée principalement de la myéline. Notre projet vise à identifier le gène responsable d'un nouveau syndrome autosomique récessif chez une grande famille syrienne associant une leucodystrophie et une oligodontie. Les études effectuées sur le génome entier nous ont permis d'identifier une nouvelle région située sur le chromosome 10, liée à la maladie et donc susceptible de contenir le gène morbide. Quinze gènes ont été testés et exclus en tant que responsables de la maladie.

Notre objectif est maintenant de poursuivre la recherche dans le but d'identifier le gène impliqué dans ce nouveau syndrome en utilisant une nouvelle technologie : le séquençage à haut débit de la région candidate entière. Si le gène en question est identifié, une approche

Pr André Mégarbané



fonctionnelle sera appliquée dans le but de mieux comprendre la physiopathologie de la maladie et d'élaborer des stratégies thérapeutiques. L'identification du gène fournira également une base pour le conseil génétique.

# Atelier Syndrome Aicardi-Goutières

Pr Yanick Crow - Academic Unit of Medical Genetics, St Mary's Hospital, Manchester, Royaume-Uni

En 1984, Jean Aicardi et Françoise Goutières, deux neuropédiatres français, ont décrit une maladie cérébrale génétique débutant pendant l'enfance reproduisant les caractéristiques des infections virales dont souffrent les bébés dans l'utérus. Les indicateurs cliniques de cette maladie maintenant connue sous le nom de syndrome d'Aicardi-Goutières (AGS) incluent :

- une accumulation de calcium (calcification) dans le cerveau, mieux observée sur un scanner
- des modifications dans la substance blanche du cerveau et de la moelle épinière, mieux observées par IRM
- des taux élevés de globules blancs, interféron-alpha et ptérides (protéines produites par l'organisme pour combattre une infection virale) dans le liquide céphalorachidien (testés par ponction lombaire)
- des lésions distinctives des orteils et des doigts ressemblant à des engelures qui empirent généralement dans le froid.

Quatre gènes différents (voir le tableau) ont été décrits jusqu'à présent qui, lorsqu'ils sont endommagés par modification/mutation génétique, peuvent causer l'AGS. Dans l'état actuel des connaissances, un seul gène est impliqué dans une même famille.

On distingue deux types principaux de présentation du syndrome AGS. Certains bébés, particulièrement ceux avec mutations AGS1, rencontrent des problèmes très peu de temps après la naissance. Les symptômes caractéristiques incluent des difficultés d'alimentation, des signes neurologiques anormaux, un faible taux de plaquettes (cellules sanguines impliquées dans la coagulation) et des anomalies hépatiques.

Gène	Chromosome	Autres noms	Pourcentage des familles avec des mutations
• AGS1	3	TREX1	35 %
• AGS2	13	RNASEH2B	45 %
• AGS3	11	RNASEH2C	15 %
• AGS4	19	RNASEH2A	< 5 %

En revanche, d'autres enfants, souvent ceux présentant des mutations AGS2, se développent normalement au cours des premières semaines ou des premiers mois de la vie. Mais survient ensuite brusquement une période d'irritabilité intense, l'enfant pleurant beaucoup pendant plusieurs heures de suite, dormant très mal et développant des accès de fièvre sans infection. Cette période s'accompagne d'une perte des acquisitions psychomotrices. Au bout de quelques mois, la progression de la maladie semble s'arrêter. De nombreux patients atteints d'AGS restent stables à l'adolescence et au début de leur vingtaine. Les caractéristiques neurologiques typiques de l'AGS concernent les difficultés d'apprentissage, la rigidité des membres avec une limitation des mouvements du tronc et du contrôle de la tête et une altération de la tonicité musculaire (dystonie) des membres. Bien que les problèmes neurologiques observés dans le syndrome d'AGS soient souvent graves, un petit nombre d'enfants, généralement ceux présentant des mutations AGS2, conservent de bonnes aptitudes de communication et de bonnes fonctions neurologiques.

### Mode de transmission

Le syndrome d'Aicardi-Goutières est une affection génétique héréditaire de type autosomique récessive. Ceci signifie que pour un couple ayant un enfant atteint, il existe 1 chance sur 4 d'avoir un autre enfant malade. Nous avons connaissance de 3 cas seulement où le syndrome AGS a été transmis en tant que "dominant nouveau". Dans ces rares cas, le risque de réapparition est très faible.

### Diagnostic prénatal

La disponibilité de tests génétiques nous permet de confirmer le diagnostic d'AGS chez la plupart des familles, mais pas toutes. Ce point est important, compte tenu du risque de réapparition de 1 sur 4 mentionné précédemment. Pour certains couples, si les deux

mutations peuvent être identifiées chez leur enfant, il est maintenant possible de proposer des tests lorsqu'une nouvelle grossesse survient.

### Comment les modifications des gènes TREX1 et RNASEH2A/B/C entraînent-ils la maladie ?

Ces gènes produisent des substances chimiques appelées nucléases qui dégradent l'ADN et l'ARN. Au cours du cycle de vie normal de nos cellules, les nucléases éliminent les déchets d'ADN et d'ARN produits naturellement. Une défaillance de ce processus peut entraîner une réponse immunitaire de la part de l'organisme contre son propre ADN et ARN. Une réaction immunitaire similaire est observée en réponse à de l'ADN et l'ARN viral en cas d'infection. Ceci expliquerait pourquoi les caractéristiques cliniques de l'AGS et des infections virales se recoupent et pourquoi l'on constate des niveaux élevés de l'agent antiviral interféron-alpha chez les enfants atteints d'AGS. Encore plus important, l'interféron-alpha et l'élimination de nos propres acides nucléiques semblent également être cruciaux pour empêcher l'organisme de développer des réactions auto-immunes contre ses propres tissus dans les maladies dites auto-immunes, comme dans le cas du lupus érythémateux systémique (SLE/lupus).

### Traitements

Lorsque l'enfant atteint a subi des dommages cérébraux significatifs, il est peu probable que de telles lésions puissent être réversibles. Mais si des traitements pouvaient être donnés à un stade précoce de la maladie, on peut penser que les thérapies pourraient être extrêmement utiles. Par ailleurs, les lésions de la peau dont souffrent de nombreux enfants sont un réel problème et leur traitement apporterait un confort amélioré aux malades.

### Recherche

Nous avons travaillé sur le syndrome d'AGS au cours des 10 dernières années et notre laboratoire se consacre actuellement au développement de traitements pour cette maladie.

**Très important :** comprendre les bases génétiques et de la pathologie cellulaire de l'AGS fournira de nouvelles idées concernant les voies clés de la réponse immunitaire innée. C'est pourquoi de nombreux laboratoires prestigieux s'intéressent aux maladies auto-immunes sont attentifs à ce que peut leur apprendre le syndrome AGS sur les maladies qu'ils étudient (comme le lupus). La participation de ces groupes à une recherche collaborative signifie que des progrès significatifs dans la compréhension du syndrome d'AGS peuvent être réellement attendus au cours des prochaines années. Nous sommes confiants que de telles connaissances nous permettront de proposer des traitements efficaces contre cette maladie dévastatrice.

Pr Yanick Crow



# Glossaire

- **Acide nucléique :** Les acides nucléiques sont des molécules complexes et de très grande taille présentes dans les cellules. Il existe deux types d'acide nucléique dans nos cellules : l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'acide ribonucléique (ARN).
- **Acide gras :** Substance chimique formée d'une chaîne d'atomes de carbone, la plupart des acides gras du corps ont une longueur de 16 à 20 atomes. On parle d'acide gras à longue chaîne pour une longueur de 14 à 22 carbones et à très longue chaîne ou AGTLC s'il y a plus de 22 carbones.
- **ADN :** Acide désoxyribonucléique ; correspond à l'information génétique d'une cellule.
- **AFSSAPS :** Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments et des Produits de Santé.
- **Anticorps :** Molécules de défense de l'organisme ; utilisés comme outil de marquage en recherche.
- **ARN :** Acide ribonucléique. Est produit à partir de l'ADN. L'ARNm est le support de l'information génétique. Les ARNi sont des ARN interférents. Comme leur nom l'indique, ils interfèrent avec un ARNm spécifique conduisant à sa dégradation et à la diminution de la protéine correspondante.
- **Astrocyte / Astrocytaire :** Cellule de forme étoilée du système nerveux central assurant le soutien de la structure du système nerveux et participant à la réparation des tissus nerveux.
- **Ataxie :** Troubles de la coordination, maladrotes affectant l'équilibre et la marche, les mouvements des membres, des yeux et/ou l'élocution.
- **Autonomique :** Se dit d'une composante du système nerveux central qui contrôle les fonctions viscérales et involontaires du corps.
- **Autophagie :** Dégradation d'une cellule par elle-même.
- **Autosomique :** Qui touche tout chromosome autre que les chromosomes sexuels X et Y. Il y a 22 paires d'autosomes dans les cellules humaines, soit 44 chromosomes non sexuels.
- **Axone / Axonal :** Prolongement long, mince et cylindrique d'un neurone qui conduit les impulsions électriques. Les nerfs sont constitués de faisceau d'axones.
- **Barrière hématoencéphalique :** Barrière qui isole partiellement le système nerveux central de la circulation sanguine pour protéger les cellules nerveuses d'influences externes.
- **Biochimie / Biochimique :** Chimie du vivant.
- **Biodistribution :** Distribution biologique dans l'organisme.
- **Biomarqueur :** Marqueur biologique.
- **Canaux ioniques :** Protéines situées dans la membrane cellulaire, formant des canaux que des ions spécifiques empruntent pour entrer et sortir de la cellule.
- **Cellules CD34+ :** Cellules souches de la moelle osseuse.
- **Cellule souche :** Cellule pouvant donner des cellules spécialisées (différenciation) et pouvant se renouveler indéfiniment.
- **Cérébelleux :** Qui a rapport au cervelet.
- **Cervelet :** Structure située à la base du cerveau contrôlant l'équilibre et de la coordination des mouvements.
- **Clinique :** A usage humain.
- **Cohorte :** Groupe d'individus.
- **Conformationnelle :** Qui a rapport avec la conformation dans l'espace.
- **Cortex cérébral :** Partie périphérique des hémisphères cérébraux. Le cortex cérébral est le siège des fonctions neurologiques élaborées. Il s'agit de l'intelligence, du mouvement volontaire, de la conscience, de la sensibilité, etc.
- **Criblage :** Action de passer au crible, de trier.
- **Cytokine :** Molécules protéiques du système immunitaire produites en réponse à différents stimulus. Elles sont impliquées en particulier dans la régulation des fonctions immunitaires.
- **Cytosquelette :** Ensemble de filaments, regroupés en faisceaux ou dispersés dans la cellule, constituant l'armature de celle-ci et lui permettant d'avoir une forme, une élasticité et une mobilité.
- **Délétion :** Perte de matériel génétique.
- **Démyélinisation / Démyélinisant :** Se dit de ce qui détruit la gaine de myéline.
- **Dorsiflexion :** Flexion du pied et des orteils vers l'avant de la jambe.
- **Enzyme :** Molécule permettant des réactions chimiques biologiques, donnant un ou des produits à partir d'un ou de plusieurs éléments appelés substrats.
- **Epissage alternatif :** Processus cellulaire permettant à diverses protéines d'être produites à partir d'un gène unique.
- **Faux négatif :** Nombre d'individus malades avec un test négatif.
- **Faux positif :** Nombre d'individus non-malades avec un test positif.
- **FDA :** Food and Drug Administration ; Agence Américaine des Aliments et Produits de Santé
- **Génotype :** ensemble de l'information génétique d'un individu.
- **Gliale :** Cellule assurant l'isolement des tissus nerveux, les fonctions métaboliques, le soutien et la protection vis-à-vis des corps étrangers en cas de lésions.
- **Hématopoïétique :** Relatif à la formation de cellules sanguines, processus qui survient essentiellement dans la moelle osseuse.
- **Hémisphère cérébral :** Moitiés symétriques, droite et gauche, du cerveau
- **Hépatique :** Qui appartient au foie.
- **Homozygote :** Un individu est homozygote pour un gène quand il possède deux allèles (= variants du gène) identiques de ce gène.
- **Hybridation génomique comparative sur puce à ADN (aCGH) :** Technique permettant la mise en évidence d'anomalies chromosomiques.
- **Hyperreflexie :** Exacerbation des réflexes ostéo-tendineux (relatif aux os et aux tendons).
- **Hypomyélinisation :** Absence de myéline.
- **Immunomarquage :** Marquage par des anticorps.
- **Immunomodulatrice :** Modulation du système immunitaire.
- **Immunoréactif :** Répond positivement à un marquage par anticorps.
- **In vitro :** Qualifie un processus biologique observé dans un tube à essai, en dehors de la cellule ou de l'organisme.
- **Knock-in :** Variante du knock-out. En plus de l'inactivation d'un gène, il y a introduction d'un nouveau gène en lieu et place du gène inactivé. Permet d'étudier les fonctions du gène inactivé.
- **Knock-out :** Technique permettant l'inactivation d'un gène consistant à remplacer une version fonctionnelle d'un gène par une version altérée et non fonctionnelle. Le but est de comprendre le rôle de ce gène.
- **Lentiviral :** Types de virus avec une grande efficacité pour délivrer des gènes aux cellules.
- **Leucocytes :** Globules blancs.
- **Liquide céphalorachidien (LCR) :** Liquide clair de couleur jaune, présent dans les ventricules cérébraux et la moelle épinière. Son examen est possible grâce à un prélèvement par ponction lombaire.
- **Lysophosphatidylcholine :** Lipide complexe de la famille des lécithines.
- **Lysosome / Lysosomal :** Structure spécialisée de la cellule contenant de nombreuses enzymes et ayant pour fonction la dégradation des nutriments.
- **Macrocéphalie :** Augmentation anormale du volume de la tête en comparaison au volume de la tête chez les individus ayant le même âge et le même sexe.
- **Membrane / Membranaire :** Se dit de l'enveloppe limitant une cellule et la séparant du milieu extérieur. Elle est composée de lipides, protéines et sucres et joue un rôle important dans les échanges entre le milieu intérieur et extérieur de la cellule.
- **Métabolisme / Métabolique :** Ensemble des transformations moléculaires et des transferts d'énergie se déroulant dans la cellule ou l'organisme vivant.
- **Mitochondrie/ Mitochondrial :** Structure spécialisée de la cellule permettant de récupérer l'énergie fournie par les molécules organiques et de la stocker sous forme d'ATP, la source principale d'énergie pour la cellule.
- **Moelle épinière :** Portion centrale du système nerveux chez les vertébrés, qui descend du cerveau à travers les arcs des vertèbres et distribue presque tous les nerfs aux divers organes du corps.
- **Multipotence :** Caractéristique d'une cellule

souche pouvant donner naissance à plusieurs types prédéfinis de cellules de l'organisme mais conservant leur capacité à s'autorenouveler. À opposer à totipotente où les cellules peuvent donner naissance à tout type cellulaire de l'organisme.

- **Murin :** concerne les murinés (rats, souris...).
- **Myéline :** enveloppe protectrice qui entoure la partie d'une cellule nerveuse (appelée axone) et permet la conduction des signaux électriques tout le long du nerf. La myéline agit comme un isolant électrique qui augmente l'efficacité de la conduction de l'influx nerveux.
- **Myélinisant :** Produisant de la myéline.
- **Neural :** Qui a rapport au système nerveux.
- **Neurotrophique :** relatif à la nutrition et au développement des tissus neuronaux.
- **Nucléaire :** (biol.) en rapport avec le noyau d'une cellule
- **Oligodendrocyte / Oligodendrocytaire :** Cellule non nerveuse du système nerveux central fabriquant de la myéline (biol.).
- **Oligodontie :** Dents anormalement petites ou absentes.
- **Organelle :** Structure spécialisée contenues à l'intérieur d'une cellule et délimitée par une membrane.
- **Pathogénie / Pathogénique :** Étude du ou des mécanismes responsables du déclenchement et du développement d'une maladie.
- **Peroxisome / Peroxisomal :** Structure spécialisée de la cellule dépourvue de génome et chargée de la détoxification de la cellule.
- **Phénotype :** Ensemble des traits observables caractérisant un être vivant donné
- **Physiologie / Physiologique :** Étudie le rôle, le fonctionnement et l'organisation des organismes vivants et de leurs composants.
- **Physiopathologie :** Discipline traitant des dérèglements de la physiologie.
- **Plaquette :** Éléments du sang important dans la coagulation sanguine.
- **Polyneuropathie :** Affections nerveuses multiples.
- **Ponction lombaire :** Examen médical consistant à recueillir le liquide céphalo-rachidien pour l'étudier.
- **Progéniteur :** Précurseur.
- **Récessif :** Gène qui ne s'exprime pas par rapport au gène dominant sauf si deux copies sont présentes dans le génome.
- **Recombinant :** Produit de synthèse obtenu par génie génétique.
- **Rétinite pigmentaire :** Maladie caractérisée par une dégénérescence des pigments de la rétine.
- **Sérotype :** Classement de micro-organismes ou virus sur la base des caractéristiques de la réaction immunologique qu'ils induisent.
- **SNC :** Système Nerveux Central.
- **Spasticité :** Augmentation de tonus de certains muscles, responsable d'une raideur et de contractures entraînant une restriction de la mobilité.
- **Spectrométrie de masse :** Technique d'analyse permettant de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse.
- **Substance blanche :** Contient les axones. La couleur blanche est due à la gaine de myéline qui entoure ces fibres nerveuses.
- **Sulfatide :** Constituant des membranes des neurones et des cellules gliales.
- **Thérapie génique :** Processus par lequel est introduit du nouveau matériel génétique dans un organisme dans le but de traiter ou de contrôler une maladie génétique.
- **Thérapie pharmacologique :** Traitement par des médicaments.
- **Titre :** (biol.) se réfère à la concentration en virus.
- **Toxicologique :** Se rapporte à l'étude des produits toxiques et de leurs effets.
- **Transduction / Transduit :** Transfert d'ADN par un vecteur viral.
- **Transfectée :** Cellule dans laquelle un gène étranger a été introduit.
- **Trophique :** Se rapporte à tout ce qui est relatif à la nutrition d'une cellule, d'un tissu vivant ou d'un organe.
- **Vacuole :** Cavité remplie de fluide dans les cellules.



# 2<sup>e</sup> Congrès de la Fondation de Recherche ELA

Le défi thérapeutique dans les  
maladies de la substance blanche

## Thèmes

- Cellules souches et réparation des gènes
- Biologie de la myélinisation/remyélinisation
- Fonctions cognitives et maladies démyélinisantes
- Neuroimagerie dans la substance blanche  
du système nerveux central
- Thérapies

Inscriptions et appel à communications  
[www.ela-fondation.com](http://www.ela-fondation.com)

LUXEMBOURG  
26 - 27  
juin  
2009



avec le soutien de la Représentation de la  
Commission européenne au Luxembourg



COMMISSION EUROPÉENNE  
Représentation au Luxembourg

Comité scientifique

Patrick Aubourg, Odile Boespflug-Tanguy, Monique Dubois-Dalq