

ELA

I N F O S
Supplément 82

JUIN 2013 • 4€ • REVUE TRIMESTRIELLE DE L'ASSOCIATION EUROPEENNE CONTRE LES LEUCODYSTROPHIES



Colloque

ELA Familles/Chercheurs

COLLOQUE ELA FAMILLES/CHERCHEURS 6 et 7 avril 2013 • Paris

Le temps d'un week-end, 242 familles et malades de l'association ont eu l'opportunité de rencontrer et d'échanger avec les vingt-cinq spécialistes internationaux des leucodystrophies invités à présenter leurs travaux de recherche de façon vulgarisée à l'occasion du colloque ELA Familles/Chercheurs 2013. Au total, huit ateliers pathologies, une session plénière et un forum étaient proposés aux participants. Retrouvez dans ce supplément le compte-rendu des ateliers pathologies.



SUPPLÉMENT ELA INFOS N° 82 :
2 rue Mi-les-Vignes • CS 61024 • 54521 LAXOU CEDEX
Tél. 03 83 30 93 34 • 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 : Michel Depardieu/INSERM, Patrice
Latron/INSERM • Abonnement annuel : 16 € • Numéro : 4 €

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".



Sommaire

Supplément numéro 52 • Juin 2013

- Ateliers Scientifiques : 3
 - Atelier ALD/AMN : 3
- Atelier Maladie de Refsum : 5
 - Atelier MLD : 6
 - Atelier Maladie de Krabbe : 7
- Atelier Syndrome CACH, Maladie d'Alexander, MLC et Canavan : 9
 - Atelier PMD et autres leucodystrophies hypomyélinisantes : 11
 - Atelier Leucodystrophies indéterminées : 13
 - Atelier Syndrome Aicardi-Goutières : 15
 - Lexique scientifique : 16

ATELIERS scientifiques

■ Atelier

ALD/AMN

Essais thérapeutiques

●●● Thérapie génique de l'adrénoleucodystrophie : résultats de l'essai thérapeutique

Dr Nathalie Cartier-Lacave (France)



La greffe de cellules souches hématopoïétiques de donneur, qui sont à l'origine de l'ensemble des cellules du sang, est le seul traitement efficace dans les formes cérébrales d'adrénoleucodystrophie (ALD). Seules conditions préalables ? Qu'elle soit réalisée à un stade précoce de la maladie d'une part, et qu'un donneur compatible (de moelle osseuse ou de cordon ombilical) soit disponible d'autre part. Cependant, la greffe expose à des complications graves et un donneur n'est pas toujours identifié. C'est pourquoi notre objectif a été de développer une stratégie de thérapie génique de l'ALD cérébrale visant à corriger les propres cellules souches hématopoïétiques des patients à l'aide d'un vecteur viral. Le but ? Proposer une autogreffe de ces cellules corrigées. Pour se faire, nous avons utilisé le VIH, seul virus capable de

corriger efficacement les cellules de moelle osseuse. Nos résultats précliniques nous ont permis d'obtenir l'autorisation de l'ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé) en 2006.

Ainsi, nous avons pu traiter par thérapie génique quatre enfants atteints d'ALD cérébrale, candidats à la greffe, mais sans donneur. Leurs cellules CD34⁺ ont été prélevées et corrigées avec le vecteur-médicament HIV-ALD, puis réinjectées après réalisation de tous les tests sécuritaires. Résultat ? Le traitement a été parfaitement toléré. On retrouve bien dans le sang des enfants un pourcentage stable de globules blancs exprimant la protéine ALD normale. Tous les tests sécuritaires réalisés régulièrement au cours du suivi des patients traités sont satisfaisants. Et l'évolution clinique et radiologique chez les quatre enfants, avec un recul allant jusqu'à six ans, est comparable à celle observée après greffe de cellules normales de donneur. Ces résultats sont encourageants : ils démontrent que l'on peut, par thérapie génique, stabiliser l'ALD cérébrale.

Un essai plus large, incluant un plus grand nombre de patients atteints d'ALD cérébrale, sera réalisé prochainement. Mais la production de vecteur de grade clinique en quantité suffisante est aujourd'hui le problème majeur, en terme de disponibilité, de qualité et de coût. Parallèlement, nous travaillons à mieux comprendre les mécanismes de la correction cérébrale après greffe afin d'améliorer les conditions de la greffe elle-même et, donc, l'efficacité du traitement chez les patients traités.

●●● Essai clinique chez les patients AMN : validation de biomarqueurs du stress oxydatif, efficacité et tolérance d'un cocktail d'antioxydants

Dr Aurora Pujol (Espagne)



L'adrénoleucodystrophie est une maladie neurodégénérative qui est due à la perte de fonction de la protéine peroxysomale ALD. La forme la plus fréquente est l'adrénomyéloneuropathie (AMN) qui se caractérise par une dégénérescence de l'axone au niveau de la moelle épinière. Ceci se traduit par une paraparésie spastique, une légère paralysie des membres inférieurs associée à une rigidité musculaire, et une neuropathie périphérique, une maladie du nerf périphérique (principalement au niveau des jambes). Actuellement, il n'existe aucun traitement efficace pour lutter contre l'AMN.

Durant les cinq dernières années, nous avons démontré le rôle fondamental joué par le stress oxydatif dans le processus neurodégénératif conduisant à cette maladie. Puis nous avons découvert qu'un cocktail d'antioxydants est capable de diminuer et de normaliser l'ensemble des marqueurs de stress oxydatif dans un modèle de souris de la maladie. Ce cocktail permet également d'améliorer les symptômes cliniques et la dégénérescence axonale.

Sur la base de ces résultats, nous conduisons un essai thérapeutique visant à tester la tolérance de ce cocktail d'antioxydants et son efficacité à corriger les marqueurs de stress oxydatif altérés chez les patients AMN. Cet essai clinique a commencé en septembre 2011 avec treize patients espagnols qui ont

reçu une dose A du cocktail d'antioxydants pendant deux mois. Nous avons ensuite quantifié et comparé les marqueurs de stress oxydatif avant et après le traitement. Résultat : un seul patient a vu ses marqueurs oxydatifs diminués et a été traité avec cette dose A pour une durée d'un an jusqu'en février 2013. Les marqueurs de stress oxydatif de ce patient sont en cours d'évaluation. Les douze autres patients ont reçu une dose B plus élevée du cocktail pour une période de trois mois. A la fin du traitement, nous avons observé une diminution du niveau de leurs marqueurs de stress oxydatif. C'est pourquoi ces patients sont maintenant traités avec la dose B du cocktail pendant une période d'un an jusqu'en juillet 2013. S'en suivra la quantification des différents marqueurs préalablement cités. En plus de l'analyse des marqueurs de stress oxydatif, une évaluation clinique et neuroradiologique est réalisée au début et à la fin de l'essai clinique.

La pioglitazone arrête la dégénérescence axonale dans un modèle de souris atteinte d'adrénoleucodystrophie

Dr Aurora Pujol (Espagne)

Durant les cinq dernières années, nous avons démontré le rôle fondamental joué par le stress oxydatif et le déficit énergétique dans le processus neurodégénératif conduisant à l'AMN. Dans cette étude, nous avons étudié le rôle de la mitochondrie, le principal producteur de radicaux libres et d'énergie dans la cellule. Et nous avons constaté que les souris malades montrent une diminution de la quantité des mitochondries, car les cellules ont des difficultés à en fabriquer de nouvelles.

Nous avons ensuite testé chez la souris un activateur du métabolisme cellulaire, la pioglitazone, qui est un médicament utilisé pour soigner les malades avec un diabète de type 2. Ce traitement conduit à la fabrication de nouvelles mitochondries en normalisant la production d'énergie. La pioglitazone est également capable de neutraliser les dommages oxydatifs sur les protéines et l'ADN. Plus important encore, elle évite l'apparition du handicap locomoteur et des lésions axonales chez les souris malades. Ces résultats révèlent de nouveaux mécanismes d'action pour la pioglitazone d'un grand intérêt pour la plupart des

maladies neurodégénératives et constitue la base de l'essai clinique qui sera prochainement proposé aux patients.

Essai clinique testant l'effet de la pioglitazone pour l'AMN

Pr Patrick Aubourg (France)



L'essai clinique « Pioglitazone dans l'AMN », dont l'investigateur principal est le Pr Patrick Aubourg (Centre de référence des Leucodystrophies et Unité de Recherche Clinique, Hôpital Bicêtre

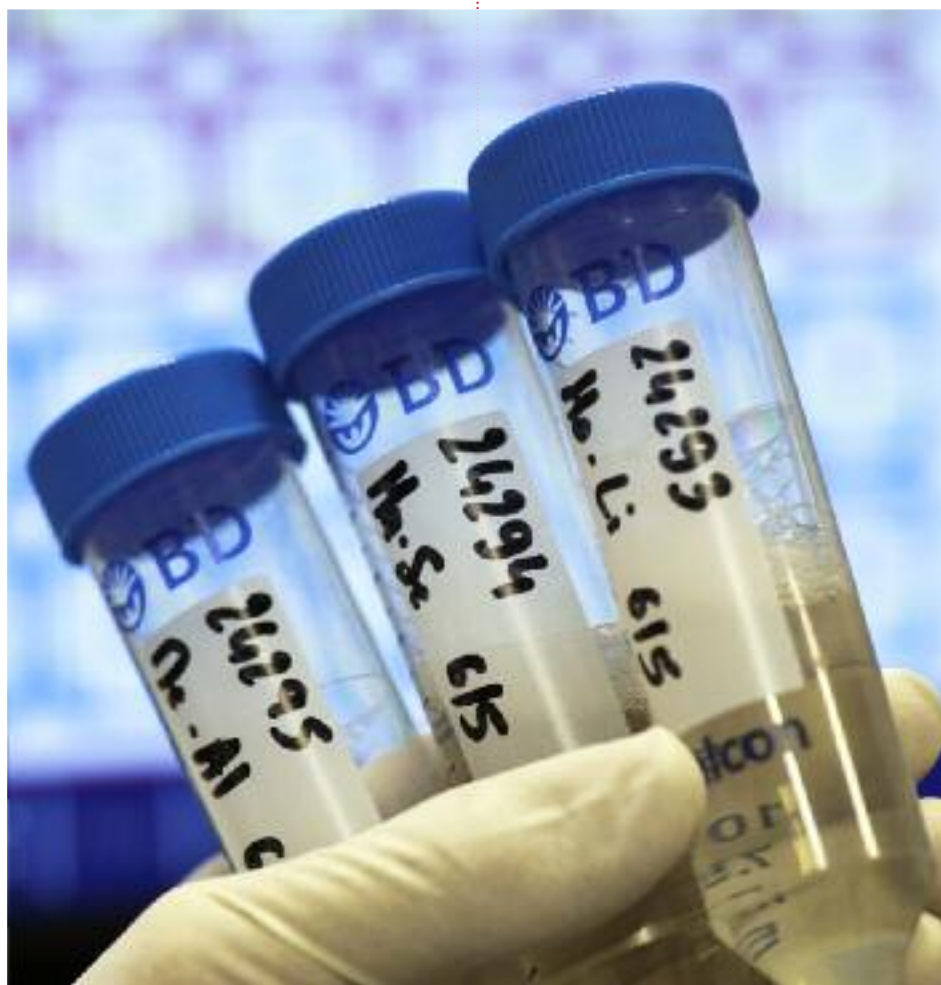
Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France), a reçu l'autorisation de l'ANSM et du CPP (Comité de Protection des Personnes Ile-de-France VII) pour commencer à traiter des patients adultes atteints d'adrénomyélongueuropathie.

Le but de cet essai est d'évaluer l'efficacité et la tolérance de la pioglitazone sur l'AMN. Par efficacité, on entend l'arrêt ou le ralentissement de la dégradation des fonctions motrices des membres inférieurs qui survient inéluctablement en l'absence de traitement. Celle-ci sera évaluée par des tests moteurs, des tests neuro-radiologiques et des analyses biologiques. Par tolérance, on entend l'absence d'effets secondaires du traitement. Celle-là sera évaluée par des examens cliniques (échocardiogramme et électrocardiogramme) et biologiques (analyse urinaire et sanguine).

Trente patients adultes atteints d'AMN, âgés de plus de 18 ans et de moins de 66 ans, pouvant marcher et répondant à des critères bien précis, pourront participer à cette étude.

La pioglitazone (Actos®, laboratoire Takeda) sera prise quotidiennement (30 mg/jour) sous forme de comprimé pendant deux ans.

Au cours de ces deux ans, l'efficacité et la tolérance seront évaluées lors d'hospitalisations de deux à trois jours tous les six mois.



Perspectives

Évaluation de la thérapie génique dans l'adrénomyélonéuropathie

Dr Nathalie Cartier-Lacave (France)

L'adrénomyélonéuropathie est une atteinte très invalidante de la moelle épinière qui touche les patients ALD à l'âge adulte. Plusieurs voies thérapeutiques sont aujourd'hui en cours d'évaluation. Nous développons en laboratoire une approche de thérapie génique de la moelle épinière. Elle a pour objectif d'apporter le gène normal de l'ALD pour corriger le déficit dans les cellules fabriquant la myéline du système nerveux central, les oligodendrocytes. Nous apportons le gène de l'ALD fonctionnel dans ces cellules grâce un vecteur viral appelé AAV (pour Adeno-Associated Virus). Nous réalisons actuellement la preuve de faisabilité chez l'animal (efficacité, mise au point du protocole chirurgical) avant de proposer, à moyen terme, un essai thérapeutique chez les patients atteints d'adrénomyélonéuropathie.

Atelier Maladie de Refsum

Introduction sur la maladie de Refsum adulte, prise en charge nutritionnelle de la maladie et point sur la recherche

En 1945, le Pr Refsum a décrit ce qui allait être plus tard connu comme la maladie de Refsum. Celle-ci combine une cécité nocturne, une perte de l'odorat, une surdité, une mauvaise coordination (ataxie), un engourdissement et une faiblesse au niveau des jambes (dus à une « neuropathie périphérique ») ainsi qu'une peau squameuse sèche (ichtyose). Les premiers symptômes apparaissent généralement dans la vingtaine et progressent.

Dr Marc Engelen (Pays Bas)



Plus tard, on a découvert que la maladie de Refsum est due à un défaut d'oxydation alpha, un processus qui permet la bonne élimination de l'acide phytanique. Cet acide gras saturé s'accumule donc dans tous les tissus de l'organisme. Notez que l'acide phytanique est un dérivé du phytol, un lipide présent dans les légumes verts, le plancton et chez les animaux qui mangent (et qui peuvent digérer) de la viande de bœuf et autres ruminants, de nombreux produits laitiers ou encore du poisson. En 1988, on a découvert que pour les patients atteints de la maladie de Refsum, manger des légumes verts était sans danger car, contrairement aux animaux ruminants, l'homme ne peut pas digérer la chlorophylle où se trouve le phytol.

Le traitement de la maladie de Refsum consiste principalement à suivre un régime alimentaire faible en acide phytanique, vu que ce dernier provient de l'alimentation. Si le taux d'acide phytanique est réduit, la maladie peut être stabilisée (du moins l'ichtyose, l'ataxie et la neuropathie).

Il est important pour les patients atteints de la maladie de Refsum de ne pas perdre de poids rapidement car cela peut libérer dans l'organisme des quantités importantes d'acide phytanique stockés dans le tissu graisseux. En outre, la perte de poids doit être graduelle.

Actuellement, la recherche sur la maladie de Refsum explore la possibilité d'induire une voie alternative pour éliminer l'acide phytanique : l'oxydation oméga. A suivre...

La maladie de Refsum infantile : une maladie du spectre de Zellweger relativement modérée

Pr Bwee-Tien Poll-The (Pays Bas)



Les maladies du spectre de Zellweger résultent de défauts touchant les fonctions de structures cellulaires nommées peroxysomes. On les appelle aussi troubles de la biogénèse du peroxysome ou troubles peroxysomaux généralisés.

Au sein de la cellule, le peroxysome remplit plusieurs fonctions importantes nécessaires au bon fonctionnement de divers organes, comme le système nerveux, le foie et les glandes surrénales. La gravité des maladies du spectre de Zellweger peut varier de relativement modérée à sévère, suivant un continuum d'au moins trois pathologies : le syndrome de Zellweger, forme la plus sévère, l'adrénoleucodystrophie néonatale et la maladie de Refsum infantile, forme la moins sévère. Ces différentes pathologies ont été baptisées à l'origine avant que leurs bases biochimiques et moléculaires aient été déterminées.

L'évolution clinique de la maladie de Refsum infantile est variable. Elle peut inclure un retard du développement intellectuel et moteur, une perte d'audition, une atteinte de la vision, un dysfonctionnement hépatique et des anomalies crânio-faciales modérées. La maladie peut attirer l'attention initialement parce que l'enfant échoue à un test auditif et/ou présente des problèmes de vision. Le dysfonctionnement hépatique peut être

ATELIERS scientifiques

observé en premier chez un enfant présentant des épisodes hémorragiques provoqués par une anomalie de la coagulation en réponse à la vitamine K. Ces enfants peuvent aussi être atteints d'insuffisance surrénale. L'évolution clinique globale peut être stable, mais la maladie est souvent lentement progressive, avec une détérioration de

l'audition, de la vue et de la capacité de marche au fil du temps. Certains sujets peuvent développer une leucodystrophie avec pour conséquence la perte de compétences acquises auparavant. D'autres sujets peuvent présenter à l'âge adulte des déficits principalement sensoriels ou seulement une ataxie (mouvements anormaux).

Compte tenu que les sujets souffrant de maladies du spectre de Zellweger peuvent atteindre l'âge adulte, les manifestations cliniques de ces pathologies doivent être surveillées et traitées comme : 1. l'alimentation et la nutrition ; 2. les prothèses auditives ; 3. la correction de la vue ; 4. pour le foie, une supplémentation en vitamines liposolubles ; 5. pour l'insuffisance surrénale, une supplémentation en cortisol.

Des traitements expérimentaux sont à l'étude, comme l'administration d'acides biliaires (acide cholique), d'acide docosahexaénoïque et un régime pauvre en acide phytanique. Jusqu'à présent, le traitement des maladies du spectre de Zellweger reste principalement symptomatique et de soutien.

Le diagnostic des maladies du spectre de Zellweger peut être établi par des examens biochimiques dans le sang et/ou les urines et confirmé dans les cultures des cellules de la peau. Les dosages biochimiques spécifiques sont les suivants :

- dans le sang : les acides gras à très longue chaînes, les acides phytanique et pristanique, les acides biliaires, l'acide pipécolique plasmatique, les plasmalogènes des globules rouges ;
- dans les urines : l'acide pipécolique, les acides biliaires et l'oxalate.

Douze gènes PEX différents mutés ont été identifiés dans les maladies du spectre de Zellweger. Le gène *PEX1* est la cause la plus fréquente, présent chez environ 70 % des sujets.



■ Atelier MLD

Essais thérapeutiques

●●● Essai clinique de phase I/II par thérapie génique associant une greffe de cellules souches hématopoïétiques pour le traitement de la leucodystrophie métachromatique

Dr Laura Lorioli (Italie)



La leucodystrophie métachromatique (MLD) est un trouble de la surcharge du lysosome autosomique récessif dû au déficit d'une enzyme appelée l'arylsulfatase A (ARSA). Ce dysfonctionnement conduit à une démyélinisation sévère, une dégénérescence neurologique et la mort prématurée des malades. Actuellement, il n'existe aucun traitement capable d'arrêter la progression de cette pathologie dévastatrice. Au vu des données précliniques démontrant la tolérance et l'efficacité d'une thérapie génique chez le modèle animal de la maladie, et d'après l'expérience acquise sur l'histoire naturelle de la maladie, un essai clinique de thérapie génique a été approuvé par

les autorités italiennes en mars 2010. Il est basé sur la transplantation des propres cellules souches hématopoïétiques du malade après avoir été génétiquement corrigées pour le gène ARSA. Pour le moment, nous pouvons rapporter des données préliminaires très encourageantes chez les premiers patients traités, mais seul le suivi à long terme de tous les patients traités pourra confirmer cette indication favorable.

●●● Présentation de l'essai thérapeutique d'enzymothérapie de phase I/II avec l'enzyme HGT-1110

Dr Eric Crombez (Shire)



Les maladies lysosomales constituent une famille de maladies génétiques dues à des enzymes manquantes ou défectueuses. Il est possible de traiter efficacement un grand nombre de symptômes de certaines de ces pathologies par administration intraveineuse d'enzymes recombinantes. Ces enzymes sont de taille relativement importante pour pouvoir passer de la circulation sanguine vers le système nerveux central lorsqu'on les administre par voie intraveineuse. Ainsi, il est improbable qu'elles puissent agir sur les troubles du système nerveux central associés à certaines formes de maladies lysosomales. La leucodystrophie métachromatique (MLD) est un type de maladie lysosomale affectant principalement le système nerveux central. Le projet clinique de Shire pour la MLD vise à étudier l'administration directe d'arylsulfatase humaine recombinante (rhASA) dans le système nerveux central. Il

est actuellement en phase précoce de développement clinique. Chez les modèles animaux, l'enzyme rhASA a été détectée dans toutes les zones du cerveau, de la substance grise en surface à la substance blanche profonde. L'enzyme administrée se dépose dans les lysosomes des oligodendrocytes, le site d'accumulation pathologique des sulfatides dans la MLD. Des études évaluant l'administration hebdomadaire de rhASA par voie intrathécale (c'est-à-dire par injection directe dans la zone qui entoure la moelle épinière) dans un autre modèle animal de MLD ont démontré une diminution des sulfatides dans le système nerveux central, aussi bien dans la moelle épinière (à proximité du site d'injection) que dans les tissus profonds du cerveau.

Ces séries d'expérimentations démontrent que l'administration de rhASA par voie intrathécale permet d'atteindre les tissus cibles du système nerveux central. Les données issues de ces études seront utiles pour la recherche chez l'homme. Toutefois, les expériences chez l'animal ne sont pas automatiquement corrélées à la recherche chez l'homme.

Le projet Shire conduit actuellement un essai clinique de phase I/II en Europe afin d'étudier la tolérance d'une forme recombinante de l'enzyme rhASA.

●●● Thérapie génique de la leucodystrophie métachromatique par transfert intracérébral du gène ARSA

Dr Caroline Sevin (France)



La leucodystrophie métachromatique (MLD) est une maladie sévère due à un défaut de l'arylsulfatase A (ARSA). Cette déficience en ARSA conduit à une accumulation de sulfatides dans les cellules du cerveau et dans les nerfs périphériques qui entraîne un déclin moteur et cognitif rapide. La forme la plus sévère de la MLD débute autour de l'âge de un ou deux ans et conduit à un état végétatif et au décès du patient en quelques années, sans aucun traitement possible.

Parmi les nouvelles approches thérapeutiques potentielles, la thérapie génique cérébrale pourrait assurer l'administration rapide et constante de l'enzyme ARSA dans le cerveau, condition pré-requis pour espérer arrêter à temps le processus de dégénérescence neurologique. Après avoir obtenu des preuves précliniques sur l'efficacité de cette stratégie dans le modèle de souris MLD, nous avons réalisé des études chez le primate non humain afin d'améliorer la procédure neurochirurgicale et d'évaluer le bénéfice et l'absence de toxicité avec cette approche en utilisant le protocole prévu pour les patients. Les études toxicologiques sont terminées et nous avons obtenu les autorisations nécessaires des agences réglementaires (ANSM, CPP) pour passer à l'essai clinique de phase I/II pour lequel l'inclusion de patients est en cours. L'objectif de cet essai est d'évaluer la tolérance et l'efficacité d'un nouveau traitement expérimental, AAVrh.10cuARSA, pour l'administration dans le cerveau du gène *ARSA* fonctionnel par le biais d'un vecteur médicamenteux. Ce dernier sera administré directement dans le cerveau de façon simultanée à douze endroits différents de la substance blanche des deux côtés du cerveau.

Cet essai inclura des patients présentant des formes précoces de MLD à progression rapide. Cinq enfants (garçons et filles) de six mois à quatre ans seront sélectionnés à un stade pré-symptomatique ou précoce de la maladie, suivant des critères cliniques, neurocognitifs et radiologiques spécifiques. L'intervalle entre la date d'apparition des symptômes et la date d'inclusion devra être inférieur à douze mois. Si l'enfant a plus de seize mois, il devra être capable de faire quelques pas seul ou avec une aide d'un seul côté.

Des paramètres de tolérance et d'efficacité seront évalués durant deux ans maximum, période qui sera suffisante pour évaluer l'innocuité et le bénéfice thérapeutique potentiel de cette stratégie dans les formes de MLD à progression rapide. Cet essai sera mené à l'Hôpital Bicêtre, Paris-Sud, au sein du service de neurologie pédiatrique du Pr Patrick Aubourg.

■ Atelier Maladie de Krabbe

●●● Maladie de Krabbe :
diagnostic, mutations et
progrès vers une thérapie
chez l'animal

Pr David Wenger (USA)



La maladie de Krabbe, ou leucodystrophie à cellules globoides, est due à des mutations du gène de la galactocérébrosidase (GALC). Les deux parents sains d'un enfant malade sont chacun porteurs d'une copie du gène muté. Lorsque le malade hérite de ces

deux copies, il présente une activité très faible en GALC. Cela entraîne une accumulation de lipides majeurs appelés galactolipides, des graisses contenant du galactose (un sucre similaire au glucose), qui sont principalement présents dans la myéline du système nerveux central et périphérique.

Bien que la maladie se déclare le plus souvent dans la petite enfance, des patients plus âgés sont aussi concernés. Généralement, ces patients sont diagnostiqués tardivement, lorsque certains symptômes se déclarent et que des tests biochimiques sont réalisés. Cela risque de limiter le succès de tout traitement visant à prévenir ou à réparer les lésions du système nerveux.

Afin d'obtenir un diagnostic plus précoce, le dépistage néonatal pour la maladie de Krabbe a été institué en 2006 dans l'État de New York. Grâce à un test enzymatique automatisé sur des tâches de sang séché, le laboratoire peut analyser 1 000 échantillons environ chaque jour ouvré (soit environ 260 000 échantillons par an). À ce jour, environ 1,7 million de bébés ont été testés.

Le test est refait pour les nouveau-nés présentant une valeur de GALC inférieure à un seuil quotidien et, si la valeur reste faible, un test plus conventionnel, qui existe depuis environ 40 ans, est pratiqué dans le laboratoire du Dr Wenger. Par ailleurs, une analyse de la mutation du gène *GALC* est également conduite. Concrètement, les individus présentant une valeur de GALC inférieure à un seuil défini ont un « haut risque » de développer un jour la maladie de Krabbe. Les autres individus, présentant une valeur de GALC inférieure à la normale, mais supérieure à celle des patients à haut risque, sont considérés à « risque modéré ».

Sachez que tous les sujets présentant une activité GALC inférieure à la normale possèdent des mutations du gène *GALC*. Certaines de ces mutations sont clairement pathogènes (elles ont été retrouvées chez des patients avec une maladie de Krabbe confirmée ou avec une enzyme GALC fortement altérée ou instable). D'autres n'ont été retrouvées que chez les patients présentant une forme de la maladie tardive (non infantile). D'autres encore sont des mutations nouvelles. Et d'autres enfin correspondent à des polymorphismes (variations normales du gène pouvant réduire l'activité mesurée sans

provoquer la maladie). Nous avons récemment recensé 142 mutations chez des patients souffrant de la maladie de Krabbe. Pour rappel : chaque patient doit hériter de deux mutations pathogènes pour déclarer la maladie de Krabbe.

La détection de nouvelles mutations, ou de mutations présentes, chez des patients présentant une forme tardive est source d'incertitude pour la famille comme pour le médecin. Pouvoir déterminer quand et si le sujet déclarera la maladie de Krabbe est un point crucial pour la réussite du programme. Une évaluation clinique attentive et des études neurodiagnostiques sont indispensables pour savoir à quel moment démarrer un traitement. Les facteurs environnementaux ou génétiques additionnels sont susceptibles de précipiter la déclaration de la maladie chez les sujets plus âgés. Bien que l'évolution clinique soit lente chez la plupart des patients avec une forme tardive, elle peut être rapide chez certains.

Les options thérapeutiques sont à l'heure actuelle limitées. Pour les nouveau-nés atteints d'une forme infantile présentant une activité très faible de la GALC (d'après la mesure faite dans ce laboratoire) et deux mutations du gène *GALC*, une greffe de cellules souches hématopoïétiques peut être proposée dans le premier mois de vie.

Actuellement, les cellules souches provenant du cordon ombilical de donneurs non apparentés sont généralement adaptées. À l'avenir, les propres cellules souches hématopoïétiques du patient pourront être corrigées génétiquement avec le gène *GALC* fonctionnel pour ensuite être réinjectées chez le malade. Nous pourrions peut-être ainsi prévenir certaines des complications liées à l'utilisation d'un donneur non apparenté. Lorsque la greffe de cellules souches hématopoïétiques est pratiquée chez l'enfant pré-symptomatique ou très modérément affecté, elle permet d'allonger sa durée de vie. Ces patients peuvent toutefois présenter des déficits moteurs et cognitifs importants, affectant en particulier le langage. De meilleurs traitements sont donc nécessaires. Plusieurs modèles animaux présentent aussi une faible activité de la GALC. Ces modèles nous fournissent des systèmes permettant de tester différentes thérapies pour s'assurer qu'elles sont efficaces et tolérées avant de les tester sur des patients. De nombreuses études ont été réalisées sur le modèle de souris depuis 1984. Ces études ont porté sur la greffe de moelle osseuse, la thérapie

génétique utilisant différents vecteurs viraux, l'enzymothérapie substitutive visant à compenser le manque d'activité de la GALC, des médicaments visant à ralentir la synthèse des galactolipides et à prévenir la réponse immunitaire, et la thérapie par cellules souches neurales pour aider à la remyélinisation. Certains traitements n'ont apporté qu'un petit allongement de la durée de vie, d'autres n'ont pas été bien tolérés par les souris. Des tentatives ont été faites pour remplacer l'enzyme absente par thérapie génique, en insérant le gène dans un virus non pathogène et en injectant ce vecteur dans le cerveau de souris atteintes de la maladie de Krabbe. Bien que les vecteurs viraux testés à ce jour allongent légèrement la durée de vie, les bénéfices se sont avérés limités. Nous avons testé un vecteur viral contenant le gène *GALC*, nommé AAVrh10. L'injection de ce vecteur-médicament dans le cerveau et dans un vaisseau sanguin s'est avérée prometteuse : elle a permis d'allonger significativement la durée de vie des souris traitées (on passe d'une quarantaine de jours à 150 jours et plus). Ces souris sont fertiles et présentent peu

de signes de la maladie jusqu'à un âge très avancé. Toutefois, pour une raison inconnue, ces souris s'affaiblissent soudainement et meurent. Pourquoi ? Peut-être que la GALC n'est pas distribuée partout dans le système nerveux. Peut-être aussi augmentons-nous trop l'activité de la GALC chez ces souris. Peut-être encore devrions-nous leur administrer d'autres médicaments pour prévenir les autres effets secondaires liés à la faible activité de la GALC. Ou alors avons-nous besoin de nouvelles cellules souches pour fabriquer de la myéline saine. Les études sur la souris se poursuivent. À l'heure actuelle, nous avons commencé des études utilisant le vecteur AAVrh10 pour traiter le modèle de chien avec une maladie de Krabbe. Cet animal plus grand servira de passerelle entre les études chez la souris et chez l'homme. Il est probable que plusieurs approches soient nécessaires pour prévenir et corriger la pathologie touchant le système nerveux central et périphérique dans cette maladie. Nous espérons que ces approches ainsi que d'autres permettront d'améliorer les traitements destinés aux malades.



■ Atelier Syndrome CACH - Maladie d'Alexander - MLC et Canavan Syndrome CACH

●●● CACH et stress :
comment les mutations
CACH affectent les
oligodendrocytes

Pr Jacqueline Trotter (Allemagne)



Nous étudions le syndrome CACH, une leucodystrophie caractérisée par la mutation d'une protéine qui aide à traduire l'ARN messager, ou ARNm, le support de l'information génétique, en protéine. Bien que cette mutation soit présente dans toutes les cellules des malades, la substance blanche et les cellules gliales du système nerveux central semblent tout particulièrement affectées. Nous savons que cette pathologie s'aggrave de façon

spectaculaire sous l'effet du stress (par exemple en cas d'infection). Nous travaillons sur des cultures d'oligodendrocytes (les cellules fabriquant de la myéline) de souris et sur une lignée de cellules oligodendrogiales que nous avons créé et que l'on cultive de façon permanente, afin d'examiner l'effet du stress sur le processus de transformation de l'ARNm en protéine. Par exemple, lorsqu'une cellule est soumise à un stress thermique, en cas de fièvre, elle produit des granules dans lesquels sont séquestrés de nombreux acides nucléiques de type ARN qui les protègent de dommages en inhibant transitoirement leur transformation afin de concentrer les ressources de la cellule sur la réponse au stress. D'autres ARN et protéines de protection contre le stress peuvent être fortement exprimés. Toutefois, si le stress se prolonge trop longtemps, cette inhibition pourrait être dommageable à la cellule et/ou affecter sa capacité à maintenir la gaine de myéline. Nous cherchons en particulier à déterminer si les ARNm correspondants à la protéine basique de la myéline sont incluses dans ces granules de stress. Cette protéine est indispensable à la myélinisation et, outre sa fonction bien connue dans le compactage de la gaine de myéline, elle est dotée de fonctions qui restent encore à découvrir. Nous soumettons des cellules gliales à différents types de stress pour examiner la formation des granules de stress, que nous pouvons reconnaître grâce aux marqueurs protéiques spécifiques qu'ils contiennent. Nous séparons aussi les granules de stress sur des gradients de densité pour mieux définir leurs composants en protéines et ARNm. Ce qui nous intéresse particulièrement, c'est de savoir comment la stabilité et la



transformation des ARNm de la protéine basique de la myéline (ou autres gènes de la myéline) sont régulées en cas de stress. Nous laissons les cellules récupérer, puis ré-examinons le comportement des granules de stress pour étudier, par exemple, s'ils disparaissent rapidement. Nous insérons la protéine mutée des malades souffrant du syndrome CACH dans notre lignée cellulaire, à la place de la protéine normale, et nous évaluons comment cela affecte les processus décrits précédemment. Nous espérons de cette manière mieux comprendre les mécanismes de la maladie, ce qui constitue une étape importante dans le développement d'un traitement.

Maladie d'Alexander

●●● Le point sur la
recherche pour la
maladie d'Alexander

Dr Albee Messing (USA)



La maladie d'Alexander est une maladie généralement mortelle résultant de mutations du gène *GFAP*. Précédemment, des études ont mis en évidence deux caractéristiques clé de la maladie :

- L'accumulation progressive de la protéine GFAP à des niveaux de plus en plus élevés avec pour résultat la formation d'agrégats protéiques caractéristiques nommés fibres de Rosenthal.

- L'activation de diverses réponses au stress dans les astrocytes, des cellules gliales du système nerveux central, qui pourrait lutter contre les niveaux toxiques de la protéine GFAP.

Toutefois, nous ne savons pas exactement pourquoi l'accumulation de GFAP survient (synthèse plus élevée, réduction de sa dégradation, voire les deux). Nous ne savons pas non plus si les différentes réponses au stress sont protectrices ou nocives. Nous devons élucider ces questions importantes afin de pouvoir progresser dans notre recherche de stratégies thérapeutiques efficaces. Au cours de l'année dernière, nous avons publié les résultats de trois études chez la souris malade qui ont apporté un éclairage sur ces questions. Dans la première de ces études, publiée le mois dernier dans le magazine scientifique *ASN Neuro*, nous avons étudié l'expression de la GFAP dans différentes régions du système nerveux central à trois niveaux : le gène, l'ARNm et la protéine. Même si les astrocytes sont présents partout dans le système nerveux central, l'expression de la GFAP varie fortement : les taux les plus élevés sont observés dans la moelle épinière et dans le tronc cérébral, les plus bas dans le cortex cérébral et le cervelet. Lorsque nous avons étudié des souris avec mutation ponctuelle identique à la mutation R239H de l'homme, nous avons observé une expression accrue de la GFAP dans toutes les régions au niveau génique et au niveau ARNm. L'importance de cette augmentation varie selon la région considérée. Dans la plupart des régions, les taux de protéine GFAP sont aussi augmentés. La moelle épinière est toutefois anormale car elle présente une activité génique et des ARNm accrus mais un taux réduit de protéine GFAP. Lorsque nous avons étudié l'activité du gène en fonction de l'âge, nous avons observé que celle-ci augmente tôt, avant que la maladie n'apparaisse de façon sensible, puis reste élevée tout au long de la vie. Cette activation représente donc une réponse précoce et soutenue à la présence de la GFAP mutante, ce qui indique que cette synthèse élevée de GFAP est l'un des mécanismes menant à une accumulation toxique. Nous avons ensuite tenté de déterminer si l'augmentation de GFAP détectée dans le système nerveux central était décelable dans le liquide céphalorachidien, un endroit plus simple pour faire une biopsie. En utilisant trois modèles de souris différents variant dans la sévérité de la maladie, nous avons observé que les taux de GFAP dans le liquide céphalorachidien sont élevés et

correspondent aux concentrations décelées dans le cerveau. La GFAP dans le liquide céphalorachidien est donc un marqueur biologique potentiel comparable entre modèles de souris et patients qui facilitera grandement les recherches cliniques dans le futur. Dans deux autres études, nous nous sommes penchés sur le rôle de la voie de stress Nrf2 dans cette pathologie. Nrf2 est un facteur qui régule l'expression de nombreux gènes, généralement en augmentant leur expression en réponse à un stress oxydatif. Nous avons déjà découvert que la voie Nrf2 est activée chez les patients atteints de la maladie d'Alexander et dans les modèles de souris. Nous ne savons cependant pas si cette réponse est protectrice ou nocive. Grâce aux modèles de souris souffrant de pathologies neurologiques plus courantes (accident vasculaire cérébral, maladie de Parkinson, sclérose en plaques, sclérose latérale amyotrophique), nous avons la preuve qu'une déficience en Nrf2 est dommageable, mais que son activation est protectrice. Nous avons créé un nouveau modèle de souris avec une maladie d'Alexander où Nrf2 fait défaut. Aucun effet dommageable n'a été observé. Quelques modifications bénéfiques ont même été rapportées. Nous avons également créé un autre modèle de souris malade où Nrf2 est exprimé en excès dans les astrocytes. De façon surprenante, l'excès de Nrf2 est également bénéfique, voire plus bénéfique qu'avec une déficience en Nrf2. Dans le bulbe olfactif, l'excès de Nrf2 élimine complètement l'accumulation de la GFAP. Ces études démontrent que l'augmentation de la synthèse en GFAP survient aux premiers stades de la maladie d'Alexander et touche toutes les régions du système nerveux central avec des conséquences différentes dans la moelle épinière. De plus, Nrf2 a été ajouté à la liste des gènes de réponse au stress. Son activation peut être considérée comme protectrice plutôt que nocive, même si c'est de façon plus complexe que pour Cryab, une autre protéine du stress d'intérêt. Réduire l'expression de la GFAP et stimuler les réponses au stress protectrices comme dans le cas de Nrf2 représentent donc des stratégies thérapeutiques appropriées et constituent le centre d'intérêt des recherches en cours.

MLC

Nouvel aperçu des mécanismes physiopathologiques de la leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux

Dr Elena Ambrosini (Italie)



La leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux (MLC) est une leucodystrophie rare caractérisée par une macrocéphalie, un œdème cérébral et une dégénérescence vacuolaire de la myéline. Cette maladie est due à des mutations rares des gènes *MLC1* et, de façon plus rare, *HEPACAM*. Ces deux gènes codent pour des protéines principalement exprimées dans les astrocytes du cerveau et dont la fonction est en cours d'étude. Les astrocytes constituent la principale population de cellules gliales au sein du système nerveux central et ils jouent un rôle essentiel dans le maintien de son équilibre et de la fonctionnalité neuronale. Il est désormais bien établi que le dysfonctionnement des astrocytes peut provoquer directement des anomalies de la myéline et une dégénérescence neurologique, ou y contribuer. Comprendre la fonction des protéines MLC1 et HEPACAM et l'effet des mutations associées à la MLC sur les processus physiologiques des astrocytes est donc essentiel pour identifier des traitements efficaces pour les patients. Des résultats montrent que les protéines



MLC1 et Hepacam sont impliquées dans le contrôle des flux ioniques et hydriques au sein de l'astrocyte. Il est possible que des défauts génétiques affectant ce processus soient responsables des lésions cérébrales observées chez les patients souffrant de MLC. Notre étude de la fonction de MLC1 dans les astrocytes et des effets des mutations des patients dans un nouveau modèle dérivé des astrocytes ont indiqué que MLC1, en interagissant et en coopérant fonctionnellement avec un canal calcique spécifique (le canal TRPV4), est impliqué dans la régulation de l'influx de calcium dans les astrocytes en réponse à des changements ioniques à l'extérieur de la cellule (stress hyposmotique). Ce processus où intervient le calcium étant nécessaire pour corriger le gonflement des astrocytes lors d'un déséquilibre ionique, ces données semblent indiquer que l'œdème cérébral et la vacuolisation de la myéline observés dans la MLC pourraient être dus à une incapacité des astrocytes à réguler l'influx de calcium dans la cellule et à activer la diminution de volume cellulaire. En collaboration avec le groupe de recherche du Pr Enrico Bertini à l'hôpital Bambino Gesù de Rome, nous avons également identifié des problèmes d'influx de calcium dans des cellules sanguines de patients lorsqu'on les compare à des cellules de donneurs sains, ce qui confirme

l'implication de la protéine MLC1 dans la régulation des taux de calcium intracellulaire.

Des travaux récents, visant à élucider les mécanismes moléculaires sous-jacents aux troubles induits par la mutation *MLC1*, ont révélé qu'en temps normal *MLC1* influe sur la circulation des protéines dans la cellule en accélérant le transport du canal calcique TRPV4 à la surface des cellules, où il agit en cas de déséquilibre ionique. À l'inverse, les mutations pathologiques de *MLC1* ne permettent pas d'activer l'influx de calcium et le transport de TRPV4. Afin d'étudier plus en détail l'importance de cette voie fonctionnelle associée à *MLC1* nouvellement identifiée dans les mécanismes de la maladie, nous tenterons, au cours des prochains mois, de générer des astrocytes humains pathologiques à partir de cellules souches pluripotentes induites dérivées de cellules de peau de malades. Ce modèle devrait nous permettre de mieux caractériser les altérations fonctionnelles spécifiques à cette mutation dans les astrocytes. Il devrait également nous être utile pour sélectionner et tester des thérapies sur mesure.

Canavan

●●● Résultats de l'essai de thérapie génique pour la maladie de Canavan

Dr Paola Leone (USA)



La maladie de Canavan est une leucodystrophie héréditaire associée à des mutations du gène de l'aspartoacylase (ASPA). Cela se traduit par une fonction enzymatique anormale et des taux élevés de la molécule substrat N-acétyl-aspartate (ou NAA) dans le cerveau, avec pour conséquence une dégénérescence spongiforme de la substance blanche et un retard psychomoteur sévère. En tant que maladie monogénique (sa genèse est provoquée par la mutation d'un seul gène), la maladie de Canavan constitue un excellent modèle pour la recherche de thérapie génique appliquée. Nous présentons ici les résultats d'un essai clinique que nous avons conduit avec le premier vecteur-médicament de type adéno-associé jamais utilisé chez l'homme pour traiter une maladie neurodégénérative dans le cadre d'un essai clinique international de phase I/II. Cette étude de thérapie génique a été sponsorisée par l'institut américain NINDS (National Institute of Neurological Diseases and Stroke) et son protocole a été revu par l'autorité sanitaire américaine (Food & Drug Administration). La phase de traitement s'est déroulée entre 2001 et 2005, avec un suivi minimum de cinq ans pour chaque patient. À l'aide d'une batterie de mesures non invasives (basées sur l'IRM) et d'échelles cliniques standardisées, l'histoire naturelle de la maladie a été suivie chez vingt-huit malades, tandis qu'un sous-ensemble de treize patients était traité avec un vecteur-médicament exprimant le gène *ASPA* normal. Chaque sujet traité chirurgicalement a reçu une certaine quantité de vecteur par voie intracérébrale répartie sur plusieurs sites. Les données liées à l'innocuité du traitement ont été collectées pendant le suivi des patients (au minimum cinq ans) et n'ont pas révélé d'événements indésirables à long terme. Les marqueurs liés à la progression de la maladie et les paramètres cliniques ont été mesurés après le traitement. Cette thérapie génique pour la maladie de Canavan entraîne une diminution du NAA pathologiquement élevés au niveau du cerveau et un changement au niveau de l'atrophie cérébrale, une stabilisation clinique à long terme accompagnée d'une amélioration de la fréquence des convulsions et de diverses mesures de la qualité de vie.



■ Atelier

PMD et autres leucodystrophies hypomyélinisantes

●●● Vers un traitement de la maladie de Pelizaeus-Merzbacher avec du cholestérol alimentaire chez la souris

Dr Gesine Saher (Allemagne)



Dans le système nerveux central, la myéline isole les fibres nerveuses et facilite la conduction rapide des impulsions électriques. La synthèse et la stabilité des gaines de myéline sont

sévèrement altérées chez les patients atteints de la maladie de Pelizaeus-Merzbacher. En conséquence, ces patients souffrent de problèmes moteurs et sensoriels sévères. Il n'existe actuellement aucun traitement pour les patients souffrant de cette maladie. Dans le modèle de souris malade, les anomalies de la myéline peuvent être améliorées par un apport alimentaire de cholestérol. Les gaines de myéline du système nerveux central sont synthétisées par les oligodendrocytes et elles contiennent une forte proportion de graisses et de cholestérol. Lors de précédents travaux, nous avons montré que la disponibilité du cholestérol définit la quantité de myéline qui est synthétisée par les oligodendrocytes. Une autre composante majeure de la myéline est la protéine protéolipide (PLP). Chez la majorité des malades, l'expression de la PLP est accrue, en raison d'une duplication du gène correspondant appelé *PLP1*. Dans la présente étude, nous avons montré que l'accumulation de PLP et de cholestérol entraîne une redistribution du cholestérol dans la cellule et ainsi une congestion de son transport vers la membrane de la cellule. En conséquence, la synthèse de la gaine de myéline est réduite et les cellules fabriquant de la myéline sont endommagées. Les réponses inflammatoires ont abouti à la perte de cellules nerveuses. Ces processus pathologiques ont pu être stoppés par l'apport de cholestérol alimentaire. Nous avons émis l'hypothèse que la normalisation de la teneur en cholestérol de la membrane cellulaire pourrait accroître la synthèse de la gaine de myéline.

Ce mécanisme a également été retrouvé dans un modèle de souris génétiquement modifiées exprimant la PLP en excès. Ces souris ont été alimentées avec une

régime riche en cholestérol. Le traitement a été plus efficace quand il a été initié tôt. L'arrêt du régime alimentaire enrichi en cholestérol a entraîné une progression plus rapide de la maladie. Bien que l'apport alimentaire de cholestérol n'ait pas permis de guérir la maladie, il montre une capacité remarquable à en améliorer les symptômes.

●●● Éucidation des mécanismes pathologiques des leucodystrophies liées à l'ARN polymérase III

Dr Geneviève Bernard (Canada)



Les leucodystrophies liées à l'ARN polymérase III sont un groupe de leucodystrophies hypomyélinisantes relativement fréquentes qui inclut :

- Le syndrome 4H (Hypomyélinisation, Hypodontie et Hypogonadisme Hypogonadotrope).
- L'ADDH (« Ataxia, Delayed Dentition and Hypomyelination »).
- Le syndrome TACH (« Tremor-Ataxia with Central Hypomyelination »).
- La leucodystrophie avec oligodontie.
- Le syndrome HCAHC (« Hypomyelination with Cerebellar Atrophy and Hypoplasia of the Corpus Callosum »).

Ce groupe de maladies est maintenant considéré comme étant un continuum clinique, c'est-à-dire que des patients présentent certaines caractéristiques alors que d'autres non, telles que les anomalies dentaires et le retard pubertaire (hypogonadisme hypogonadotrope).

Les leucodystrophies liées à l'ARN polymérase III sont causées par des mutations récessives dans les gènes *POLR3A* et *POLR3B*. Jusqu'à ce jour, plus de quarante patients avec l'une ou l'autre de ces cinq maladies ont été rapportés avec des mutations dans l'un ou l'autre de ces gènes. Les gènes *POLR3A* et *POLR3B* codent pour les deux plus grandes sous-unités d'une enzyme nommée ARN polymérase III et, ensemble, forment le centre actif ou catalytique du complexe composé de dix-sept sous-unités. Aucun patient ne possède deux mutations nulles, c'est-à-dire deux mutations qui entraîneraient l'absence complète de la protéine pour laquelle le gène code. En effet, ceci n'est pas surprenant étant donné le rôle primordial de l'ARN polymérase III : la transcription d'ADN codant pour de petits ARNs tels que les ARN de transfert, 5S, U6 et 7SK.

Les travaux qui devraient permettre de comprendre la raison pour laquelle des mutations dans le gène *POLR3A* ou *POLR3B* cause une leucodystrophie hypomyélinisante sont amorcés. La représentation des mutations trouvées sur la modélisation 3D de la polymérase III suggère que les mutations peuvent avoir un effet sur l'assemblage de l'enzyme en altérant les interactions entre les sous-unités, ou encore avoir un effet sur la liaison de l'ADN avec le complexe, entraînant par la même occasion une transcription anormale de l'ADN en ARN. Des résultats préliminaires suggèrent que, au moins pour une mutation, l'hypothèse première semble exacte, c'est-à-dire qu'une mutation dans le gène *POLR3A* induit un assemblage déficient du complexe et, dans ce cas spécifique, un échec de migration du complexe dans le noyau de la cellule, l'endroit où la polymérase effectue la transcription.

L'étude comparative semi-quantitative de tous les transcrits de l'ARN polymérase III chez les patients par rapport à des contrôles sains suggère que certains transcrits pourraient être plus affectés que d'autres, dont les ARN de transfert. L'implication des ARN de transfert est aussi suspectée dans d'autres maladies héréditaires impliquant la substance blanche cérébrale telles que la LBSL (« Leukoencephalopathy with Brainstem and Spinal cord involvement and Lactate elevation ») et la maladie liée à l'AIMP1.

La découverte des gènes associés aux leucodystrophies liées à l'ARN polymérase III (« Pol III-related leukodystrophies ») a permis à de nombreux patients et leurs familles d'obtenir un diagnostic moléculaire et un conseil génétique approprié. Des études cliniques, radiologiques et physiopathologiques sont en cours afin de mieux comprendre l'étendue des manifestations cliniques et radiologiques, des anomalies génétiques et la physiopathologie de ce groupe de maladies, afin de pouvoir éventuellement développer des stratégies thérapeutiques.

■ Atelier

Leucodystrophies indéterminées

●●● Présentation d'une nouvelle leucoencéphalopathie

Pr Marjo van der Knaap (Pays-Bas)



Des perturbations de l'équilibre hydrique au sein de la substance blanche cérébrale sont à l'origine d'un nouveau type de leucoencéphalopathie. La substance blanche du cerveau est

principalement constituée de fibres nerveuses myélinisées, dont la fonction est de conduire les impulsions électriques. Ces derniers sont basés sur des flux ioniques qui sont nécessairement associés à des flux d'eau. Le cerveau est bien protégé par le crâne, mais ce confinement osseux ne laisse pas de place en cas de gonflement. Or, toute modification de la teneur en eau de la substance blanche cérébrale est associée à une augmentation du volume du cerveau. Afin de prévenir ce phénomène, la teneur en eau de la substance blanche est étroitement régulée : tous les flux d'ions et d'eau liés à la conduction électrique sont donc immédiatement compensés. Ce sont les problèmes de compensation qui sont responsables des leucoencéphalopathies avec augmentation de la teneur en eau. Un exemple de ces pathologies : la leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux (ou MLC). Les défauts du gène *MLC1* entraînent un ralentissement dans la diminution de volume, avec pour conséquence un œdème au sein de la myéline. Dans le cadre d'une étude collaborative sur les leucoencéphalopathies avec modifications de la teneur en eau, nous avons découvert qu'une mutation du gène *GJB1* entraîne non seulement la maladie de Charcot-Marie-Tooth liée à l'X, mais aussi une leucoencéphalopathie avec augmentation de la teneur hydrique. Le gène *GJB1* code pour la connexine 32, une protéine impliquée dans la régulation de l'équilibre hydrique. Ce dernier, probablement parce qu'il est vital, fait intervenir de nombreuses protéines et de nombreux processus. Le défaut d'une seule protéine n'entraîne donc qu'un dysfonctionnement partiel et une maladie relativement modérée.

Caractérisation de leucodystrophies indéterminées

Dr Adeline Vanderver (USA)



Environ la moitié des patients présentant une anomalie de la substance blanche à l'IRM et chez lesquels une cause génétique ou héréditaire est suspectée ne bénéficient jamais d'un diagnostic totalement caractérisé. Ceci est particulièrement vrai pour les patients souffrant de troubles de la myéline entraînant une hypomyélinisation. Ce défaut de développement de la myéline renvoie à une catégorie de leucodystrophies. Il se distingue d'autres anomalies (démélinisation et autres) dont l'origine vient du fait que la substance blanche est relativement normale à l'IRM en séquence T1 tandis qu'elle est anormale en séquence T2. Nous avons créé au Centre médical national pour Enfants un projet pour aider les patients sans diagnostic ni classification spécifiques avec une anomalie de la substance blanche (www.myelindisorders.org). Depuis 2003, nous avons collecté les IRM, les antécédents cliniques et les échantillons biologiques de patients souffrant de leucodystrophies indéterminées dans un registre. Nous y avons inclus 700 familles à ce jour. Malgré les progrès du diagnostic génétique ces dix dernières années, de nombreux patients n'ont pas de diagnostic spécifique. Nous avons donc utilisé les nouvelles techniques génétiques pour rechercher les nouvelles causes de ces leucodystrophies. Plusieurs résultats récents illustrent la puissance des technologies génétiques lorsqu'on les associe à un registre.

Le premier exemple est le syndrome 4H. Les patients souffrant de cette maladie peuvent présenter tout un spectre d'anomalies, incluant une hypodontie (anomalie du développement dentaire), un hypogonadisme hypogonadotrope (trouble hormonal entraînant une puberté retardée ou absente) et une hypomyélinisation. Nos premiers patients présentaient ces symptômes et leur matériel génétique a permis de valider les gènes mutés connus pour le syndrome 4H (*POLR3A* et *POLR3B*). Toutefois, des études plus récentes ont aussi décrit une caractéristique spécifique à l'IRM présente chez ces patients. Lorsque nous avons recherché ces caractéristiques chez nos patients avec une hypomyélinisation sans hypodontie ni hypogonadisme hypogonadotrope, nous avons réalisé que le spectre des anomalies présentes dans la leucodystrophie liée à la polymérase III peut être très large et que de nombreux patients ne présentent pas toutes les caractéristiques. Cet exemple montre que les tests génétiques permettent souvent d'identifier un groupe de malades souffrant d'une maladie spécifique beaucoup plus large que ce que permettent les caractéristiques cliniques seules. Un autre exemple illustrant l'importance des registres concerne un cas ressemblant cliniquement au syndrome Aicardi-Goutières, mais sans les mutations des cinq gènes connus pour être liés à ce syndrome (*TREX1*, *RNASEH2A*, *B* et *C*, et *SAMHD1*). En collaborant à un consortium

international, un nouveau gène a pu être identifié, *ADAR1*, qui n'est présent à ce jour que chez une poignée de patients. Enfin, les nouvelles technologies génétiques, telles que le séquençage d'exome et de génome complet, qui permettent de séquencer simultanément des centaines et des milliers de gènes, ont étendu notre capacité de diagnostic de nouvelles maladies dans des groupes de patients similaires. Le syndrome H-ABC en est un exemple: le séquençage d'exome complet a permis d'identifier une seule modification génétique identique chez tous les patients souffrant de cette maladie.

Il est aussi important de ne pas oublier qu'un certain nombre de patients souffrant de leucodystrophies indéterminées finiront par présenter une maladie connue mais qui sera associée à des caractéristiques différentes que celles que l'on peut observer typiquement dans ces maladies. Par exemple, les patients atteints du syndrome d'hamartome, associé au *PTEN*, peuvent présenter des anomalies significatives de la substance blanche et subir de nombreux tests pour identifier une leucodystrophie. De même, une mutation sur plusieurs gènes liés à l'épilepsie peut entraîner des déficits secondaires en myéline suite à un dysfonctionnement neuronal. C'est pourquoi le séquençage d'exome peut aider à identifier non seulement de nouvelles causes de leucodystrophie mais aussi des cas de leucoencéphalopathie liés à une pathologie connue habituellement non



considérée comme une leucodystrophie. En résumé, les nouvelles capacités de diagnostic pour les patients présentant des troubles de la substance blanche à l'IRM devraient sensiblement réduire le nombre de patients dont la leucodystrophie est indéterminée.

Actualité sur les maladies hypomyélinisantes

Dr Nicole I. Wolf (Pays-Bas)



Les pathologies associées à une hypomyélinisation sont fréquentes. On les retrouve chez au moins 20 % des enfants souffrant d'anomalies héréditaires de la substance blanche. Chez près de la moitié de ces patients, il est impossible d'établir un diagnostic. Grâce à un programme de reconnaissance spécifique IRM, on peut définir de nouveaux troubles et ensuite détecter le gène sous-jacent. Ceci est faisable grâce à la technique nouvelle du séquençage d'exome, même sur de petits groupes de patients. Le programme de reconnaissance spécifique IRM peut aussi s'appliquer aux pathologies associées à une hypomyélinisation, même si les différences peuvent être parfois moins nettes que dans d'autres leucoencéphalopathies. Nous avons récemment identifié chez quatre enfants un nouveau trouble avec une hypomyélinisation et des anomalies

caractéristiques du tronc cérébral et de la moelle épinière à l'IRM. Le séquençage d'exome de deux patients non apparentés a révélé des mutations pathogéniques affectant une enzyme importante pour la synthèse d'ARNt dans la cellule. Nous avons pu identifier six autres patients portant des mutations sur le même gène. La présentation clinique au cours de la première année de vie est un nystagmus chez pratiquement tous les enfants concernés, un retard du développement moteur, une spasticité sévère des jambes et une ataxie modérée. Certains enfants développent aussi ultérieurement une épilepsie. Nous avons nommé cette maladie HBSL (hypomyelination with brain stem and spinal cord involvement and severe leg spasticity - hypomyélinisation avec atteinte du tronc cérébral et de la moelle épinière et spasticité sévère des jambes).

Leucodystrophies de cause indéterminée : stratégies d'identification de nouveaux gènes

Dr Imen Dorboz



Les leucodystrophies sont un groupe de maladies génétiques qui affectent la substance blanche et principalement son composant majeur, la myéline. La diversité des anomalies déterminées

génétiquement explique la large hétérogénéité dans cette pathologie. Malgré les avancées faites dans l'identification des gènes, 60 % des patients restent sans anomalies génétiques retrouvées correspondant aux leucodystrophies de cause indéterminée.

Récemment, une alternative au séquençage du génome complet a été développée. Elle est centrée sur le séquençage exclusif de l'exome, ensemble des parties codantes du génome. L'exome représente environ 5 % de l'ADN d'un individu.

Nous avons réalisé un séquençage de l'exome dans une cohorte de soixante-dix patients avec des leucodystrophies de cause indéterminée. Les résultats préliminaires ont permis de mettre en évidence de nouveaux variants potentiellement candidats qui sont en cours de validation. Cette technique a permis aussi l'identification de mutations dans des gènes déjà impliqués dans des leucodystrophies connus chez des patients avec une présentation clinique atypique, ainsi que des mutations dans des gènes impliqués dans d'autres pathologies mais avec une imagerie évocatrice de leucodystrophie, suggérant que cette stratégie permet de révéler des maladies alléliques et d'élargir le spectre clinique.

Dr Florence Renaldo (France)





■ Atelier

Syndrome Aicardi-Goutières

Le point sur la recherche dans le syndrome Aicardi-Goutières



Dr Yanick Crow (Angleterre)

Le syndrome Aicardi-Goutières est une maladie génétique liée à une activation immunitaire anormale. Compte tenu des rôles connus remplis par les gènes liés à

cette maladie (*TREX1*, *RNASEH2A/B/C*, *SAMHD1* et, plus récemment identifié, *ADAR1*), des preuves de plus en plus nombreuses semblent indiquer qu'une accumulation d'acides nucléiques (ARN et ADN), peut-être dérivés d'« anciens virus » contenus dans nos propres cellules, provoquerait une réponse immunitaire orchestrée par l'interféron de type I.

Le syndrome Aicardi-Goutières est une maladie grave pour laquelle nous manquons de traitements. La mise au point d'approches thérapeutiques efficaces sera favorisée par une meilleure compréhension des mécanismes de la maladie. Après la preuve de concept chez la souris *Trex1*-null, modèle animal de la maladie, différentes stratégies présentent un intérêt immédiat : le blocage de de l'interféron de type I, l'arrêt de la fabrication des produits de transcription inverse et une réduction des globules blancs. Des traitements en lien avec chacune de ces possibilités existent déjà.

Le syndrome Aicardi-Goutières n'échappe pas aux difficultés liées aux essais cliniques contrôlés dans le domaine des maladies rares affectant des populations limitées. Il pourrait être utile d'envisager l'utilisation d'une cohorte historique comme population de contrôle dans un essai thérapeutique. C'est pourquoi il est actuellement crucial de prêter une attention particulière à l'évolution naturelle de cette pathologie. De plus, les critères d'évaluation de l'efficacité des traitements doivent être

définis et il convient de réfléchir à leur meilleure utilisation possible. Les manifestations de cette maladie - par exemple les observations radiologiques et les critères d'efficacité clinique - sont souvent difficiles à mesurer de façon objective. C'est pourquoi il convient d'établir la pertinence et la spécificité des biomarqueurs qui sont nécessaires dans l'optique de ces futurs essais cliniques. De ce point de vue, nous nous intéressons particulièrement à une « signature interféron » détectée dans presque tous les cas de syndrome Aicardi-Goutières analysés à ce jour. Un traitement sera très probablement bénéfique dans la phase précoce de la maladie : un diagnostic rapide est donc d'une importance capitale. Toutefois, un traitement aura aussi probablement un rôle à jouer chez certains patients plus âgés vu les caractéristiques de maladie chronique et l'apparition de signes plus tardifs. Les incertitudes concernant l'adéquation d'un traitement contre le syndrome Aicardi-Goutières en fonction de son type génétique commenceront à se dissiper à mesure que notre compréhension de la fonction des protéines liées à cette maladie progressera.

Sur la base de ces études, ELA a récemment approuvé le financement d'un essai clinique qui testera l'utilisation d'un type de « médicament anti-viral » contre le syndrome Aicardi-Goutières, qui contribuera à une meilleure compréhension des fondements de la pathologie.

LEXIQUE scientifique

- **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.
- **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 : acide désoxyribonucléique (ADN) et l'acide ribonucléique (ARN).
- **ADN** : acide désoxyribonucléique. C'est une longue chaîne (ou polymère) formée de quatre nucléotides (adénosine, cytosine, guanine et thymine). Elle forme le code génétique qui fait fabriquer des protéines à la cellule.
- **Allèle / Allélique** : version d'un gène sur un chromosome. Chaque individu ne peut détenir que deux allèles d'un gène, un sur chaque chromosome, localisés dans la même région chromosomique.
- **ANSM** : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
- **ARN** : acide ribonucléique. Est produit à partir de l'ADN. L'ARNm est le support de l'information génétique. On peut parfois l'appeler un transcrit.
- **Astrocyte** : 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.
- **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.
- **Bulbe olfactif** : région du cerveau dont la fonction principale est de traiter les informations olfactives.
- **Cellules CD34+** : cellules souches de la moelle osseuse.
- **Cellule souche** : cellule pouvant donner des cellules spécialisées (différenciation) et pouvant se renouveler indéfiniment. Les cellules souches pluripotentes induites sont des cellules souches fabriquées en laboratoire à partir de cellules adultes reprogrammées.
- **Cervelet** : structure située à la base du cerveau contrôlant l'équilibre et de la coordination des mouvements.
- **Clinique** : à usage humain.
- **Cognitif** : faculté du cerveau de penser, de traiter et d'emmagasiner de l'information afin de résoudre certains problèmes.
- **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...
- **CPP** : Comité de Protection des Personnes.
- **Démyélinisation** : se dit de ce qui détruit la gaine de myéline.
- **Enzyme / Enzymatique** : molécule permettant des réactions chimiques biologiques, donnant un ou des produits à partir d'un ou de plusieurs éléments appelés substrats.
- **Enzymothérapie** : thérapeutique consistant à administrer des enzymes sous une forme pharmaceutique donnée.
- **Exome** : partie du génome par les exons, c'est-à-dire les gènes exprimés pour synthétiser les produits fonctionnels de l'organisme sous forme de protéines.
- **Galactose** : sucre à 6 carbones.
- **Génome** : ensemble des gènes d'une cellule.
- **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.
- **Hypomyélinisation / Hypomyélinisant** : défaut de myéline.
- **Ichtyose** : maladie de la peau caractérisée par une peau sèche et couverte de squames disposées comme des écailles de poissons.
- **Intrathécale** : injection directement dans la zone qui entoure la moelle épinière appelée l'espace intrathécal.
- **Liposoluble** : se dit d'une substance soluble dans les graisses.
- **Liquide céphalorachidien** : 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.

- **Lysosome / Lysosomal** : structure spécialisée de la cellule contenant de nombreuses enzymes et ayant pour fonction la dégradation des nutriments.
- **Macrocéphalie** : grosseur de tête anormale due à une épaisseur anormale du cortex cérébral.
- **Métabolisme / Métabolique** : terme général pour exprimer la transformation des substances chimiques du corps, leur passage d'une forme à une autre.
- **Mitochondrie** : 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.
- **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.
- **Neuropathie** : maladie du nerf périphérique (bras, jambes). On parle de polyneuropathie lorsque différents nerfs périphériques sont atteints.
- **Neural** : qui a rapport au système nerveux.
- **Nystagmus** : mouvements saccadés involontaires des yeux.
- **Oligodendrocyte** : cellule non nerveuse du système nerveux central fabriquant de la myéline.
- **Paraparésie** : désigne une paralysie légère des membres inférieurs.
- **Pathogène / Pathogénique** : qui est à l'origine d'une maladie.
- **Peroxisome/ Peroxisomal** : structure spécialisée de la cellule dépourvue de génome et chargée de la détoxification de la cellule.
- **Physiopathologie / Physiopathologique** : étude du fonctionnement de l'organisme pendant la maladie.
- **Polymorphisme** : variations normales du gène pouvant réduire l'activité mesurée sans provoquer la maladie.
- **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.
- **Spasticité / Spastique** : augmentation de tonus de certains muscles, responsable d'une raideur et de contractures entraînant une restriction de la mobilité.
- **Stress oxydatif** : la production d'espèces réactives oxygénées se produit de façon normale dans l'organisme mais elles sont éliminées grâce à un système complexe de détoxification dans les cellules. On parle de stress oxydatif lorsque survient une production élevée de ces composés qui ne peuvent être éliminés par les cellules car le système naturel de détoxification est saturé. Différentes agressions peuvent alors avoir lieu comme l'oxydation de protéines qui perdent leur fonction.
- **Substance blanche** : contient les axones. La couleur blanche est due à la gaine de myéline qui entoure ces fibres nerveuses.
- **Substance grise** : partie du système nerveux central composée essentiellement des corps cellulaires des neurones et de certaines cellules gliales. Elle a pour rôle de réceptionner les messages et d'analyser les informations afin d'élaborer les réponses.
- **Sulfatide** : constituant des membranes des neurones et des cellules gliales.
- **Système nerveux central** : le système nerveux central est la partie du système nerveux située dans la boîte crânienne et la colonne vertébrale. Il se compose de tissu nerveux (neurones), glial et vasculaire. Il est entouré par les méninges.
- **Système nerveux périphérique** : partie du système nerveux formée de ganglions et de nerfs qui fait circuler l'information entre les organes et le système nerveux central et réalise les commandes motrices de ce dernier.
- **Transcription / Transcrit** : transfert de l'information génétique d'un gène depuis une molécule d'ADN vers une molécule d'ARN.
- **Tronc cérébral** : élément important du système nerveux qui se situe entre le cerveau et la moelle épinière, à l'intérieur du crâne. Il est traversé par les nerfs qui quittent le cerveau impliqués dans la motricité ou qui y arrivent (voie de la sensibilité).
- **Vacuole / Vacuolisation / Vacuolaire** : cavité remplie de fluide dans les cellules.
- **Vecteur** : agent de transmission de l'information génétique d'une cellule à une autre ou d'un organisme à un autre. On le qualifie de grade clinique lorsqu'il peut être utilisé chez l'homme.

À chacun ses héros.



Vous aussi vous pouvez devenir un héros en aidant les enfants malades.

Ewen est atteint d'une maladie génétique dégénérative du cerveau qui paralyse peu à peu toutes ses fonctions vitales: une leucodystrophie. Mais il est avant tout un petit garçon qui se bat avec beaucoup de courage, et c'est ce qui force l'admiration d'Amel Bent. Chaque semaine en France, entre trois et six enfants naissent avec cette maladie terrible. En faisant un don, vous ferez partie de la plus belle équipe du monde: celle qui veut gagner contre les leucodystrophies.

Pour faire un don : www.ela-asso.com
ELA - CS 61024 - 54521 Laxou cedex • CCP 03 894 57 A Nancy



L'espoir est là !