

ela infos

supplément n°62



Colloque familles ELA / chercheurs



Colloque Familles ELA/Chercheurs

29 et 30 mars 2008 à Paris

Plusieurs centaines de participants ont assisté à la deuxième édition du colloque Familles ELA/Chercheurs. Pendant deux jours, une trentaine de spécialistes mondiaux des leucodystrophies et des maladies de la myéline ont répondu aux questions des familles, présenté les résultats de leurs travaux, les projets à venir ainsi que les perspectives de traitement. Le colloque est devenu en deux éditions un événement important où familles et chercheurs peuvent se rencontrer et échanger, notamment lors des ateliers pathologies.



Sommaire

Supplément N°62 • juin 2008

- 03 • Les essais thérapeutiques : réglementation et spécificités pour les maladies rares
- 04 • Médicaments orphelins : implication de l'Europe
- 05 • Recherche sur la myéline

Ateliers Pathologies

- 08 • Atelier
Adrénoleucodystrophie, Adrénomyélonuropathie et autres leucodystrophies peroxysomales
- 12 • Atelier Leucodystrophie Métachromatique, autres leucodystrophies lysosomales et Maladie de Canavan
- 15 • Atelier syndrome CACH, Maladie d'Alexander, Leucodystrophie avec mégalencéphalie kystique et autres leucodystrophies démyélinisantes
- 20 • Atelier Pelizaeus-Merzbacher, Paraplégie spastique 2 et autres leucodystrophies dysmyélinisantes – Maladie de Refsum

Forum : "Prévention, soin et accompagnement"

- 24 • Les centres de référence des leucodystrophies : quelles compétences ?
- 26 • Faire face à la spasticité

Lexique

Supplément ELA Infos
Revue trimestrielle d'ELA
(Association Européenne contre
les Leucodystrophies)
2 rue Mi-les-Vignes
BP 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 :**
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".

Les essais thérapeutiques : réglementation et spécificités pour les maladies rares

Dr. Ségolène Aymé (France)

Un peu d'histoire

- IX^e siècle : reconnaissance du besoin de comparer les effets de divers traitements
- XIV^e siècle : conceptualisation du besoin de comparer ce qui est comparable (Pétrarque)
- XVI^e siècle : première comparaison de plusieurs traitements chez un même patient (Ambroise Paré)
- XVII^e siècle : conceptualisation de la nécessité d'abolir les biais en créant des groupes de comparaison homogènes (Van Helmont)
- XVIII^e siècle : implémentation de comparaisons justes de traitements
- XIX^e siècle : premiers essais sans biais, en aveugle, avec une analyse statistique
- XX^e siècle : développement des analyses systématiques et des méta-analyses
- XXI^e siècle : reconnaissance de la nécessité de :
 - > réduire les biais de publication,
 - > transparence sur les essais en cours,
 - > partenariat avec les malades pour la définition des protocoles et la charte des bonnes pratiques.

Définition d'un essai thérapeutique

C'est une étude réalisée en médecine qui a pour buts de déterminer l'efficacité et la sécurité d'une thérapeutique, d'évaluer la balance bénéfique/risque et de guider la prise de décision. Un essai thérapeutique est mené selon un guide de bonnes pratiques et est encadré par la loi.

Il existe différents types d'étude :

- **Étude contrôlée** : on forme deux groupes de composition similaire (âge, sévérité, stade de la maladie), un groupe reçoit le traitement, l'autre non (on parle de placebo ou traitement de référence).
- **Étude randomisée** : la répartition en groupes se fait au hasard. Ne sachant pas si le médicament est actif, le placebo n'est peut-être pas si mauvais.
- **Étude en aveugle** : pour éviter les biais d'interprétation, le malade ignore s'il reçoit le traitement ou le placebo. Dans une étude en double aveugle, le médecin et le patient ignorent si ce dernier est

traité ou reçoit le placebo.

- **Étude multicentrique** : le même protocole se déroule dans plusieurs endroits pour augmenter le nombre de malades.
- **Étude en intention de traiter** : l'analyse tient compte de tous les malades à partir du tirage au sort, même s'ils abandonnent l'essai avant la fin.

Des difficultés méthodologiques peuvent parfois survenir lors d'un essai thérapeutique. Dès lors, on parle de biais :

- biais d'attrition (différences existant entre les groupes au début et à la fin de l'étude liées aux abandons de l'étude par certains malades),
- biais de confusion (erreurs d'appréciation, autres...),
- biais de sélection,
- biais de suivi,
- biais de publication.



Dr. Ségolène Aymé

Les phases d'un essai

- **Phase pré-clinique**
 - > test du traitement sur des cellules vivantes et/ou des animaux,
 - > critères importants : absence de toxicité et tératogénicité et de mutagénicité.
- **Phase I**
 - > évaluation de la tolérance et de l'absence d'effets secondaires chez les sujets sains (rémunérés) ou chez des malades s'il y a un risque et que la maladie est grave,
 - > étude du métabolisme du médicament sur un petit nombre de personnes,
 - > cas des maladies rares : l'étude est faite sur des personnes malades.
- **Phase II**
 - > détermination de la dose optimale,
 - > étude de la vie du médicament dans l'organisme (élimination),
 - > phase effectuée sur un petit nombre de personnes.
- **Phase III**
 - > étude comparative d'efficacité sur des groupes suffisamment grands pour permettre de déceler des différences

Pour ces 3 premières phases, un protocole doit être établi et différents paramètres doivent être définis avant le début de l'étude tels que les critères d'inclusion/exclusion, les critères de jugement, les modalités de suivi, la durée de l'essai, le nombre de personnes à inclure, le type d'étude et le cahier d'observation (document légal standardisé). La mise en œuvre du protocole doit être rigoureuse et respecter le guide des bonnes pratiques pour la traçabilité. Une analyse indépendante doit être menée en préalable à la demande d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) qui permettra d'évaluer le rapport bénéfice/risque pour le malade et de fixer le prix du médicament qui est fonction de l'intérêt médical.

- **Phase IV**

Cette phase intervient après la mise sur le marché et permet d'affiner les connaissances sur le médicament.

Cadre réglementaire

Les essais thérapeutiques doivent être menés en respect de la Loi Huriet du 20 décembre 1988 relative à la protection des personnes. L'essai thérapeutique doit être effectué sous la responsabilité d'un promoteur et d'un investigateur principal. Le promoteur est tenu de prendre l'initiative de la recherche, souscrire les assurances nécessaires et faire une déclaration de financement.

Spécificités liées aux maladies rares

Dans le cas de maladies rares, des difficultés supplémentaires s'ajoutent : l'acceptation par le malade des contraintes du protocole et le regroupement d'un grand échantillon de malades. La compétition entre les essais thérapeutiques au vu du faible nombre de malades et la demande d'AMM qui doit être effectuée au niveau européen constituent des contraintes supplémentaires.



Dr. Ségolène Aymé

Médicaments orphelins : implication de l'Europe

Dr. Ségolène Aymé (France)

Le concept de médicaments orphelins a été créé par une association de malades aux Etats-Unis dès 1983. En Europe, il a fallu attendre 1999 pour voir un règlement européen sur le sujet adopté. Ce règlement stipule une exclusivité commerciale de 10 ans pour la société développant le médicament orphelin si la maladie est rare, grave et invalidante et si aucune autre alternative thérapeutique n'existe.

Aujourd'hui, 45 autorisations de mise sur le marché et 210 désignations orphelines sont enregistrées en Europe. 25% d'entre elles représentent des innovations technologiques.

Des initiatives existent pour aider le partenariat public/privé (Orphanxchange.org et GIS Maladies rares) et permettre l'accessibilité aux molécules dont la recherche a été abandonnée par l'industrie pharmaceutique.

Disponibilité des médicaments orphelins au niveau européen
Il existe une grande inégalité de disponibilité pour les 22 médicaments autorisés en Europe. Les raisons de cette non-disponibilité sont les lenteurs administratives, la stratégie du promoteur qui refuse de s'implanter dans tous les pays en raison de coûts trop élevés et le prix proposé du médicament trop bas ou non remboursé.

Combien de médicaments orphelins sont à venir ?
Sept ans sont nécessaires entre la désignation orpheline et la mise sur le marché d'un médicament orphelin. Chaque année, 80 désignations orphelines sont accordées par les instances européennes. Seuls 15 % de ces produits atteignent le marché. Le taux de réussite est faible.

Les maladies orphelines sont victimes de leur succès
Des problèmes éthiques comme le choix des traitements pour maladies graves à rembourser restent à débattre. Le traitement pour une maladie rare peut coûter entre 6 000 à 500 000 euros par an et par patient. Il faut trouver un équilibre entre le système capitaliste et le bien collectif. Souvent la recherche est aboutie mais le développement du médicament ne suit pas. Lorsqu'un médicament orphelin est disponible sur le marché, il n'est pas toujours accessible pour tous les patients européens.

Recherche sur la myéline : le rôle des hormones sexuelles dans la réparation de la myéline

Régénération de la myéline : le rôle du sexe, des hormones stéroïdes et de l'âge

Dr. Michael Schumacher (France)

Les gaines de myéline isolent et protègent les fibres nerveuses. Lorsqu'elles sont lésées ou détruites au cours de maladies démyélinisantes comme la sclérose en plaques (SEP), le cerveau et la moelle épinière ne fonctionnent plus correctement, avec des conséquences invalidantes pour les patients. Le système nerveux a la capacité de remplacer la myéline détruite, mais ce processus de régénération est lent et d'une efficacité irrégulière et insuffisante.

Des traitements qui permettraient d'améliorer la formation de nouvelles gaines de myéline seraient donc très bénéfiques pour les patients. Pour que de tels traitements deviennent une réalité clinique, il serait nécessaire de comprendre les règles qui régissent la réparation de la myéline. En effet, sans ces connaissances, il ne sera pas possible de développer des stratégies thérapeutiques rationnelles. Le sexe, les hormones et l'âge sont tous les trois des éléments déterminants de la biologie d'un

individu. Cependant, en ce qui concerne la myéline, les cellules myélinisantes et les maladies associées, ces facteurs n'ont jusqu'à présent reçu que peu d'attention des chercheurs, malgré leur influence connue sur l'évolution des maladies démyélinisantes. Il est en effet bien établi que la SEP touche de manière prédominante la femme, et qu'elle évolue de façon différente chez les deux sexes avec l'âge. Les chercheurs ont abordé le problème de l'influence du sexe sur la SEP en étudiant les effets des hormones sexuelles (de la famille des hormones stéroïdes) sur des réponses auto-immunes. Les hormones stéroïdes sont en effet des modulateurs efficaces des réponses immunitaires.

Avec le soutien de la Fondation ELA, l'influence des hormones, du sexe et de l'âge est abordée sous un angle nouveau. Les travaux expérimentaux de l'équipe du Dr. Michael Schumacher et d'autres équipes montrent que les hormones stéroïdes exercent aussi une influence importante sur la formation des gaines de myéline au cours du développement (myélinisation) et sur la régénération de la myéline chez l'adulte (remyélinisation). En collaboration avec le Professeur Robin Franklin de l'Université de Cambridge (Royaume-Uni), le laboratoire du Dr. Schumacher a également observé que la régénération de la myéline est plus efficace chez les rats femelles âgées que chez les mâles âgés. De plus, le Dr. Said

Dr. Michael Schumacher



Ghandour de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg vient de montrer que la structure et le renouvellement des gaines de myéline sont tous les deux sexuellement dimorphiques. Ces observations récentes apportent une lumière nouvelle sur le rôle des hormones et du sexe dans l'évolution des maladies démyélinisantes, et elles ouvrent la voie à de nouveaux traitements pour favoriser la régénération des gaines de myéline perdues et pour empêcher, ou au moins retarder, l'aggravation progressive de l'invalidité dans la SEP.

L'étude POPARTMUS : pour tenter de prévenir les poussées survenant après l'accouchement chez les femmes atteintes de SEP

Pr. Christian Confavreux (France)

La sclérose en plaques (SEP) débute habituellement chez l'adulte jeune, dans une période charnière où se font les choix de la vie tant personnelle que professionnelle. Deux tiers des personnes affectées par la SEP sont des femmes. Pour elles, le désir de grossesse s'oppose souvent au risque d'aggravation de la maladie. La perception par les médecins, et donc par les patientes, des relations entre SEP et grossesse, a beaucoup évolué avec le temps. Avant les années 50, la grossesse était considérée comme délétère et donc déconseillée. Par la suite, on a pensé qu'elle n'influait pas l'évolution de la maladie.

Depuis 1998, les données de l'étude PRIMIS (Pregnancy in Multiple Sclerosis) ont permis d'apporter une réponse épidémiologique solide à la question de l'influence de la grossesse et de l'accouchement sur l'évolution de la SEP. Au cours de cette étude européenne, 257 femmes ayant une SEP ont été suivies régulièrement pendant leur grossesse et dans les deux années suivantes. On a ainsi observé que la fréquence des poussées diminuait de manière importante au cours de la grossesse, en particulier dans le troisième trimestre. À l'inverse, il existait une augmentation des poussées dans le premier trimestre suivant l'accouchement, même si environ un tiers des femmes seulement ont présenté une poussée pendant cette période. La grossesse n'avait en revanche pas d'effet sur le handicap neurologique permanent. La réalisation d'une péridurale ou l'allaitement n'augmentaient

pas le risque de voir survenir une poussée. On a également observé que si la patiente avait présenté une ou plusieurs poussées dans l'année avant la grossesse et au cours de la grossesse, elle avait plus de risque de présenter une poussée dans les trois mois suivant son accouchement.

Les poussées survenant au cours de la grossesse et après l'accouchement ne sont pas plus sévères que celles survenant en dehors de cette période. Elles surviennent cependant dans un contexte où la femme souhaite ne se consacrer qu'à l'enfant à venir ou au nouveau-né. Une hospitalisation pour un traitement corticoïde est synonyme de séparation difficile, outre la fatigue et la gêne fonctionnelle entraînée par la poussée. S'il n'est pas possible de maintenir un traitement de fond pendant la grossesse, en raison du risque de fausse couche ou de malformation, celui-ci pourrait être repris immédiatement après l'accouchement. Malheureusement, les délais d'action de plusieurs semaines des traitements actuellement disponibles rendent l'efficacité de ceux-ci aléatoire.

Un essai thérapeutique, dont l'objectif est d'essayer de prévenir par ces poussées survenant précocement après l'accouchement a débuté en France en juin 2005, et depuis octobre 2007, il a été ouvert en Italie également. Il a été initié par le Centre de Coordination EDMUS de Lyon et l'unité INSERM U 488 du Pr. Baulieu à Paris, avec notamment la participation du Dr. Martine El-Etr. La coordination en Italie est assurée par le Pr. Luca Durelli de l'université de Turin. L'étude est financée uniquement par des fonds publics et associatifs.

L'idée est, en quelque sorte, de prolonger l'état de grossesse après l'accouchement par l'administration d'hormones sexuelles dont les taux sont particulièrement élevés à la fin de la grossesse, c'est-à-dire au moment où l'activité de la SEP est au plus bas.

Plus précisément, son objectif est d'évaluer l'efficacité d'un traitement hormonal associant de la progestérone (Lutényl® comprimés) et l'œstradiol (Dermestril septem® patch transdermique) pour prévenir les poussées survenant durant le premier trimestre après l'accouchement. Ces deux produits sont déjà commercialisés et leurs effets bien connus des gynécologues. Leur association pourrait permettre de reproduire l'environnement hormonal de la grossesse qui semble avoir un effet protecteur sur les poussées.

Le traitement doit débuter le lendemain de l'accouchement et durer trois mois au total. Suite à un tirage au sort, la moitié des patientes recevra le traitement hormonal, l'autre moitié un traitement placebo, car il n'y a pour le moment pas de traitement efficace connu pouvant servir de comparaison. C'est le neurologue habituel qui assure le suivi pour une durée totale de six mois après l'accouchement, avec une visite un mois avant l'accouchement, puis un mois, trois mois et six mois après.

Cet essai thérapeutique concerne des femmes de plus de 18 ans, ayant une SEP évoluant par poussées, enceintes de huit mois ou moins, et souhaitant essayer un traitement préventif des poussées du post-partum. L'allaitement ne pourra pas être autorisé en raison du passage des hormones dans le lait maternel. Une contraception mécanique sera requise pendant la durée de l'étude. Un traitement de fond classique pourra être débuté dès la fin de l'étude, soit six mois après l'accouchement.

Il est prévu d'inclure 300 patientes, dont 100 avec étude IRM complémentaire. À ce jour, 75 patientes ont été incluses dans 21 centres en France : Annemasse (1), Avignon (1), Besançon (4), Chamalières (2), Clermont-Ferrand (4), Dijon (6), Grenoble (1), Lomme (4), Lyon (9), Marseille (3), Montbéliard (2), Nancy (5), Nantes (6), Nice (3), Quimper (1), Paris - Val de Grâce (1), Poissy (2), Rennes (5), Toulouse (9), Saint-Herblain (2), Strasbourg (4). Parmi ces patientes, 17 participent aussi à l'étude complémentaire IRM. 3 patientes ont été déjà incluses en Italie et 2 sont en attente.

Pour les malades incluses à ce jour, le protocole a pu être suivi sans difficulté particulière. À cette date, 56 patientes ont déjà fini l'étude. Parmi elles, 2 ont arrêté le protocole : une pour convenance personnelle et l'autre à cause d'une pleurésie en post-partum sans relation avec le traitement de l'étude.

Les patientes qui souhaiteraient participer à cette étude peuvent en parler à leur neurologue traitant dès le début de leur grossesse. L'étude est toujours en cours, afin d'atteindre le but de 300 patientes participantes.

La tomographie à émission de positons : une technique d'imagerie pour visualiser la myéline chez l'homme

Dr. Bruno Stankoff (France)

Une voie de recherche thérapeutique pour les pathologies de la myéline, leucodystrophies ou maladies démyélinisantes, consiste à favoriser la réparation de la myéline dans le système nerveux central (SNC). L'évaluation de ce type de traitement nécessite cependant la mise au point de techniques d'imagerie permettant de visualiser et de quantifier la perte de myéline et la remyélinisation. Les examens d'imagerie par résonance magnétique nucléaire (IRM), actuellement examens de référence dans la prise en charge de ces maladies, ne permettent cependant pas de spécifiquement visualiser la myéline du système nerveux central et sa réparation.

Une telle imagerie de la myéline pourrait en revanche être obtenue en tomographie à émission de positons (TEP). Le principe de la TEP est d'utiliser un traceur radioactif



Dr. Bruno Stankoff

spécifique de la cible que l'on veut visualiser, et de réaliser une imagerie après avoir injecté ce traceur. Nous avons donc mené des recherches pour identifier un traceur capable de marquer spécifiquement la myéline du SNC. Deux familles de molécules, dérivées du rouge Congo et de la ThioflavineT, utilisables comme marqueur de la myéline ont été identifiées. Pour chacune de ces molécules, il a été démontré qu'elles présentaient des propriétés intéressantes pour être utilisées comme traceur myélinique : elles sont capables de marquer la myéline du SNC, d'entrer dans le SNC et d'en sortir après injection, et d'individualiser la démyélinisation et la remyélinisation dans des modèles expérimentaux et sur des prélèvements humains. Il a été possible de marquer ces molécules avec un isotope à courte période (le carbone-11) et de réaliser des expériences préliminaires d'imagerie de la myéline chez le singe en TEP.

Très prochainement, une étude préliminaire avec un dérivé de la Thioflavine chez des patients atteints d'une maladie démyélinisante, la sclérose en plaques, débutera afin de valider cette approche en pathologie. Parallèlement, la recherche de traceurs les plus spécifiques possibles de la myéline se poursuit, grâce à l'identification récente au laboratoire (INSERM U711) de récepteurs spécifiques de la myéline du SNC. Ce projet collaboratif entre l'INSERM (unités 711 et 546), le CEA (Service Hospitalier Frédéric Joliot, Orsay), et le CHU Pitié Salpêtrière (centre d'investigation clinique, fédération des maladies du système nerveux) a reçu le soutien d'ELA à deux reprises.



sait si le médicament étudié est réellement efficace. Il n'existe malheureusement aucun autre moyen de déterminer l'efficacité de la plupart des traitements. Récemment, un essai thérapeutique comparant l'effet de la lovastatine et d'un placebo sur les AGTLC du plasma chez les patients X-ALD s'est achevé aux Pays-Bas.

L'essai thérapeutique LOVA : une étude randomisée croisée en double aveugle avec placebo

Aux Pays-Bas, 14 hommes avec une X-ALD ont participé à un essai thérapeutique testant l'effet de la lovastatine à 40 mg par jour en combinaison avec un régime faible en graisses sur la diminution des AGTLC dans le plasma. Les patients ont été répartis en deux groupes, lovastatine ou placebo, par tirage au sort. Ni les malades ni les médecins n'ont eu connaissance du groupe auquel les patients ont été assignés. Au bout de 6 mois, les patients recevant la lovastatine ont été changés de groupe pour intégrer le groupe placebo et inversement (on parle d'étude croisée). Ainsi, lors de la durée de l'essai, chaque patient a reçu la lovastatine et le placebo dans un ordre aléatoire. Concrètement, cela signifie que la quantité d'AGTLC dans le plasma de chaque patient avec ou sans lovastatine peut être comparée. La figure 3 décrit l'organigramme de cet essai thérapeutique. L'essai thérapeutique est maintenant fini. Chacun des 14 participants a achevé l'essai thérapeutique pour lequel aucun effet adverse n'a été rapporté. Les données sont en cours d'analyse et seront publiées cette année.

Remerciements : ELA et les malades ayant participé à l'essai thérapeutique LOVA.

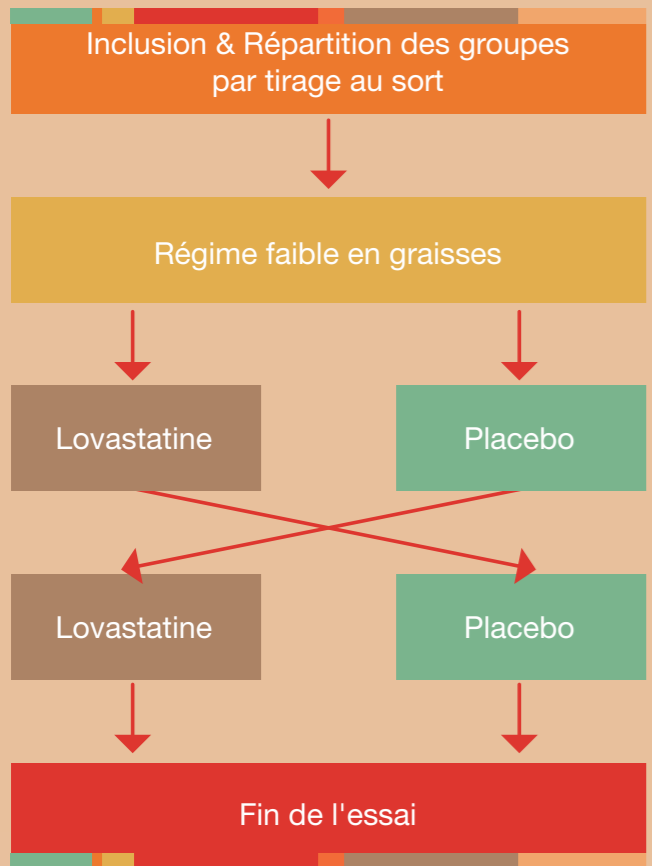


Figure 3 : Organigramme de l'essai thérapeutique LOVA



Pr. Johannes Berger

La thérapie génique pharmacologique dans l'adrénoleucodystrophie liée à l'X : où en sommes-nous ?

Pr. Johannes Berger (Autriche)

Le fait qu'aucun trait de la maladie ne soit observé dans 40% des modèles de souris pour lesquels le gène responsable est muté s'explique en partie par la présence de gènes avec des fonctions redondantes. Ces gènes redondants sont capables complètement ou partiellement de remplacer le gène original et représentent par conséquent des candidats pour une approche pharmacologique dans le traitement de maladies génétiques. Cette approche, basée sur la stimulation du gène redondant de manière à normaliser la fonction du gène déficient, a déjà fait l'objet d'essais dans le traitement de plusieurs maladies. L'adrénoleucodystrophie (X-ALD) est une maladie provoquée par des mutations dans le gène *ABCD1* (ALD), gène qui donne naissance à la protéine ALDP. Trois autres gènes de type ABC ont été identifiés à proximité du gène *ABCD1* chez les mammifères : *ABCD2* (pour la protéine ALDRP), *ABCD3* (pour la protéine PMP70) et *ABCD4* (pour la protéine P70R) qui sont respectivement 66, 35 et 25% identiques au gène *ABCD1*. L'équipe du Dr. Berger et d'autres laboratoires ont démontré qu'une augmentation du gène *ABCD2* peut corriger ou améliorer l'accumulation d'acides gras à très longues chaînes (AGTLC) dans les cultures de cellules de peau prélevées sur des malades X-ALD. Cette équivalence fonctionnelle entre *ABCD1* et *ABCD2* au point de vue du métabolisme des AGTLC permet de penser que cette stratégie pourrait être bénéfique *in vivo*. L'équipe du Dr. Pujol a récemment créé des souris transgéniques dont le gène *ABCD2* est stimulé dans tout l'organisme. Lorsque ces souris sont croisées avec des souris déficientes en gène *ABCD1*, une

normalisation complète des taux d'AGTLC est observée à la fois dans les glandes surrénales et dans le système nerveux périphérique et central. Cette correction est corrélée à une amélioration des paramètres neurologiques chez les souris déficientes en gène *ABCD1* âgées (modèle expérimental pour l'adrénomyélo neuropathie). La régulation du gène *ABCD2* ainsi que les éléments régulateurs associés sont de mieux en mieux connus. Cependant les cellules cibles pour lesquelles la stimulation du gène *ABCD2* aura une valeur thérapeutique ne sont pas encore identifiées. À l'avenir, l'enjeu est de déterminer si cette approche est réalisable et ses chances de faisabilité.

Identification de biomarqueurs dans l'adrénoleucodystrophie
Dr. Reto Stöcklin (Suisse)

Dans le corps humain, l'échange des messages nerveux entre le cerveau et les muscles se fait par l'intermédiaire des nerfs. Ces nerfs peuvent être assimilés à des câbles électriques entourés d'une gaine isolante riche en graisse, la myéline, un des composants de la substance blanche. La dégradation de la myéline ralentit ainsi la vitesse de l'influx nerveux, ce qui est caractéristique des leucodystrophies, un ensemble de maladies héréditaires dégénératives, dont l'adrénoleucodystrophie (ALD). Les symptômes cliniques de cette maladie sont très variables et aucun marqueur biologique spécifique n'est disponible à ce jour pour faciliter le diagnostic par des analyses de laboratoire et pour suivre l'évolution de la maladie, par exemple en cours de traitement. Des thérapies géniques commencent à se développer et nécessitent un contrôle régulier non invasif des patients traités. Dans ce but, l'identification de molécules spécifiques à l'ALD pourrait apporter un soutien à l'approche thérapeutique et permettrait une meilleure compréhension des mécanismes de la maladie ainsi qu'une éventuelle aide à la décision médicale.

De même qu'il est possible de déterminer l'empreinte génétique d'un patient, l'empreinte des protéines des tissus et fluides corporels peut être établie grâce aux technologies modernes. Les peptides, de petites protéines, présents en abondance dans le cerveau y jouent un rôle essentiel. Ces peptides sont la cible de notre approche dite "peptidomique". Dans une étude différentielle, nous comparons l'empreinte d'un patient à celle d'une personne saine ce qui permet d'identifier les différences dues à la maladie : certains peptides peuvent être surexprimés (présents en large excès) ou réprimés (présents en faibles quantités ou absents) spécifiquement dans des échantillons de malades. Après leur détection, la structure moléculaire de ces biomarqueurs peut être déterminée. Dans les laboratoires d'Atheris à Genève, une mise au point expérimentale a été effectuée avec succès grâce à l'outil très efficace que constitue la plateforme de spectrométrie de masse ELA nommée "P4M" pour "Proteomics for Myelin". Cette plateforme comprend deux spectromètres de masse de haute technologie cofinancés par ELA qui sont particulièrement adaptés à notre étude.

Pour des raisons statistiques, de telles études peptidomiques se font habituellement sur des centaines ou des milliers d'échantillons, ce qui est impossible dans



le cas des leucodystrophies, dont différentes formes existent pour la seule ALD. L'équipe du Dr. Reto Stöcklin a adapté des méthodes et des outils informatiques à l'analyse d'échantillons provenant de maladies rares, afin d'obtenir des résultats fiables sur un nombre limité d'échantillons. De nombreuses molécules ont ainsi été détectées (dites "candidats-biomarqueurs"), mais le faible nombre d'échantillons et le manque d'homogénéité nuisent à la fiabilité de l'analyse. Pour sélectionner des biomarqueurs statistiquement fiables et pouvoir les valider, un grand nombre d'échantillons d'ALD prélevés simultanément (plus d'une dizaine idéalement) et suivant des conditions rigoureusement identiques sera nécessaire. Dans ce but, le laboratoire du Dr. Stöcklin prépare actuellement une campagne de prélèvement afin de collecter des échantillons de sang de volontaires atteints de l'ALD ainsi que de volontaires sains selon un protocole strict. Cela permettra de poursuivre notre analyse prometteuse dans le but d'identifier les peptides spécifiques pour la maladie.



Dr. Reto Stöcklin

Essai de thérapie génique de l'adrénoleucodystrophie (ALD)

Dr. Nathalie Cartier-Lacave (France)

Depuis le clonage du gène de l'ALD en 1993, une approche de thérapie génique a été développée par le laboratoire du Pr. Aubourg dont l'objectif à terme est de proposer à tous les enfants atteints d'ALD cérébrale débutante mais sans donneur pour la greffe une autogreffe de leurs propres cellules hématopoïétiques corrigées à l'aide d'un vecteur rétroviral. Le Dr. Nathalie Cartier-Lacave et son équipe ont démontré la faisabilité de cette stratégie en utilisant d'abord un vecteur murin classique, mais c'est le développement de vecteurs dérivés du virus du SIDA, le VIH, qui a permis d'obtenir des résultats suffisamment positifs, en terme d'efficacité de transduction des cellules souches, seules capables d'assurer une reconstitution à long terme, pour envisager une application thérapeutique. Le développement clinique d'un tel vecteur a été très long (2002-2005).

L'agence réglementaire française, l'AFSSAPS, a en particulier demandé de mettre au point un ensemble de tests permettant de démontrer l'innocuité (ou inoffensivité) de ce vecteur VIH-ALD. L'autorisation finale a été obtenue pour un essai thérapeutique incluant 5 patients en décembre 2005. À ce jour, deux enfants ont été inclus et traités ; le premier en septembre 2006, le second en janvier 2007. Après prélèvement des cellules du sang périphérique mobilisé, les cellules CD34+, fraction contenant les cellules souches, ont été purifiées et transduites avec le vecteur VIH-ALD. L'efficacité de transduction s'est révélée bonne. Les cellules ont alors été congelées, afin de réaliser tous les tests sécuritaires requis, en particulier démontrer l'absence, dans les cellules transduites, de la moindre particule de virus recombinant capable de reconstituer un virus VIH infectieux et donc susceptible de conférer le SIDA aux enfants traités. Les enfants ont alors reçu un traitement pour vider leur moelle osseuse de leurs cellules avant de recevoir la greffe des cellules transduites. La procédure a été très bien tolérée. La sortie d'aplasie (période où la moelle osseuse ne produit pas de cellules sanguines) a été rapide et la présence de lymphocytes et monocytes corrigés exprimant la protéine ALD dans un nombre important de cellules (20% environ) du sang périphérique a pu être mise en évidence. Cette correction est stable jusqu'à 15 mois après greffe dans tous les leucocytes du sang qui dérivent des cellules souches, les monocytes, les lymphocytes, les cellules granuleuses...

Ce résultat est très important car il signifie qu'il est possible de corriger des cellules suffisamment précoces pour espérer une reconstitution à long terme chez les enfants traités. Sur le plan clinique et radiologique, il est encore trop tôt pour pouvoir se prononcer. On peut seulement dire que l'évolution après la thérapie génique est comparable à celle que l'on constate après une greffe de donneur. Il faudra attendre encore quelques mois avant de savoir s'il y a vraiment un bénéfice thérapeutique. Sur le plan de la sécurité, les tests réalisés tous les deux mois ne montrent pas d'effet toxique du vecteur.

C'est la première fois que l'on utilise le VIH comme vecteur de thérapie génique dans les cellules hématopoïétiques, et c'est aussi la première fois que l'on obtient une telle efficacité de transduction après greffe dans les cellules du

sang dans une maladie dans laquelle les cellules corrigées n'ont aucun avantage sélectif sur les cellules déficientes. Ces résultats sont donc très encourageants pour l'avenir. Deux questions cruciales restent posées : les aspects de sécurité liés à l'utilisation d'un virus intégratif, qui imposent une surveillance rigoureuse, et le bénéfice clinique potentiel, chez ces deux enfants qui ont 15-20% de leurs cellules corrigées. On ne peut actuellement savoir si ce pourcentage sera suffisant pour stabiliser l'évolution de la maladie.

Atelier Leucodystrophie Métagchromatique, autres leucodystrophies lysosomales et Maladie de Canavan

Leucodystrophie métagchromatique

Thérapie génique de la leucodystrophie métagchromatique par transfert intracérébral du gène ARSA

Dr. Caroline Sevin (France)

50% des formes de leucodystrophie métagchromatique (MLD) débutent entre 1 an ½ et 2 ans ½ et ont une évolution foudroyante en l'absence de traitement efficace. L'enzymothérapie substitutive est un traitement prometteur de l'atteinte du nerf périphérique, mais a peu de chance d'enrayer à temps l'évolution des lésions cérébrales, très peu d'enzyme pénétrant dans le cerveau. L'autogreffe de cellules de moelle osseuse génétiquement corrigées pourrait avoir une efficacité, mais se heurte au problème du renouvellement lent des macrophages du cerveau (cellules microgliales) à partir de la moelle osseuse après greffe. Le transfert direct du gène ARSA dans les cellules du cerveau de patients MLD pourrait avoir un effet direct et rapide, permettant de plus de sélectionner les sites d'injection en fonction de lésions observées à l'imagerie cérébrale (IRM) chez les patients. L'équipe du Dr. Sevin a montré chez la souris MLD (modèle murin de la maladie) que l'injection intracérébrale du gène ARSA (muté chez les patients) via un vecteur



Dr. Caroline Sevin

médicament AAV/ARSA permettait de corriger les anomalies cliniques, biochimiques et histologiques, d'autant plus qu'il est réalisé tôt dans l'évolution de la maladie.

La deuxième étape essentielle a consisté à valider cette stratégie sur un cerveau de plus gros volume, comparable en taille au cerveau d'un jeune enfant. Cette étude réalisée chez le primate non humain a montré qu'un nombre limité d'injections intracérébrales de vecteur AAV/ARSA (3 injections par hémisphère) permettait une diffusion tout à fait satisfaisante de l'enzyme recombinante, et était parfaitement tolérée.

L'objectif est maintenant de déposer auprès de l'AFSSAPS une demande d'autorisation pour réaliser un essai clinique chez des enfants atteints de formes rapidement évolutives (infantile, juvénile précoce) de MLD, à un stade précoce de la maladie. Un lot de vecteur réalisé dans des conditions compatibles avec l'utilisation en clinique (lot GLP/GMP) va être produit. Des études de "sécurité" indispensables devront être réalisées (biodistribution du vecteur, toxicité) chez le rat et le primate non humain avec ce vecteur pour confirmer l'innocuité totale de la procédure. Le dépôt du dossier à l'AFSSAPS est envisagé courant 2009.

Thérapie génique par autogreffe de cellules de moelle osseuse dans le traitement de la leucodystrophie métagchromatique

Dr. Alessandra Biffi (Italie)

La leucodystrophie métagchromatique (MLD) est une maladie lysosomale avec un pronostic grave due à un défaut génétique en enzyme arylsulfatase (ARSA). À partir de nos travaux précliniques, nous développons un essai de thérapie génique par greffe de moelle osseuse chez des malades MLD.

Les étapes critiques dans la conception de cet essai comme l'optimisation du transfert génétique dans les cellules de moelle osseuse, la chronologie du traitement et la définition des critères d'inclusion et d'évaluation ont été définies en tenant compte du fait que : l'efficacité de la thérapie génique dépend des taux

d'enzyme dans les cellules de moelle osseuse et l'unique avantage de la thérapie génique repose sur la possibilité de produire une enzyme fonctionnelle dans les cellules de moelle osseuse à un niveau supérieur à celui du donneur ; du point de vue éthique, vu que l'essai est réalisé chez des enfants malades, l'attente d'un bénéfice pour le malade doit exister afin de permettre aux parents de donner leur consentement.

Le transfert de gène dans les cellules de moelle osseuse afin d'obtenir des cellules avec un taux d'enzyme élevé ainsi que la production des lentivirus au grade clinique ont été optimisés. La reproductibilité et la sécurité du protocole de transfert génique ont été démontrées dans des modèles adéquats. La chronologie du traitement a été choisie en tenant compte des considérations mentionnées précédemment. Les critères d'inclusion ont été définis en considérant à la fois les risques associés au traitement et l'attente d'un bénéfice clinique. De la même façon, les critères d'évaluation ont été définis de manière à se concentrer sur la prévention de la maladie ou la prévention/réduction de sa progression.

Essai d'enzymothérapie substitutive (Metazym) chez les enfants avec une leucodystrophie métagchromatique infantile tardive

Dr. Christine Dali et Dr. Jens Fogh (Zymenex A/S, Danemark)

L'essai a démarré en janvier 2007. Trois groupes de malades ont été traités avec trois doses différentes de Metazym : le premier groupe a reçu 50 Unités/kg, le deuxième 100 Unités/kg et le troisième 200 Unités/kg. Les malades ont reçu Metazym pendant presque une année. Les douze enfants traités et leurs familles voyagent au Danemark toutes les deux semaines pour recevoir leur injection. Les patients viennent du Royaume-Uni, d'Allemagne, de France, de Pologne, d'Italie et de Belgique.

L'enzyme est administrée par intraveineuse dans un cathéter de type port A Cath (petite chambre d'injection sous la peau). L'injection dure entre 30 minutes et 1 heure



selon la dose. Une observation continue du malade au niveau de la tension artérielle, du pouls et de la température est effectuée. Normalement la visite est finie après 3h et le patient peut repartir.

Jusqu'à présent les patients ont reçu 286 doses de médicament. En tout, 5 doses ne purent pas être administrées à cause de problèmes liés au traitement ou au voyage et non pas en raison de la maladie. Le traitement est respecté à 99,98 %.

Afin d'évaluer l'effet du traitement, les malades subissent de nombreuses évaluations du système nerveux avant le début du traitement par Metazym et après 6 et 12 mois. Ceux-ci comprennent des évaluations IRM, des tests cognitifs, des mesures de biomarqueurs du liquide céphalorachidien, de conduction nerveuse et de fonction motrice.

🌟 La warfarine comme thérapie par réduction de substrat dans la leucodystrophie métachromatique

Dr. Paola Leone (USA)

La leucodystrophie métachromatique (MLD) est un désordre neurométabolique sévère dû au défaut en enzyme lysosomale, l'arylsulfatase A (ARSA). L'ARSA est responsable de la dégradation du sulfatide 3-O-sulfogalactosyl-céramide, un composé essentiel et abondant de la myéline. Le stockage de sulfatides et d'autres lipides sulfatés dans les oligodendrocytes et les cellules de Schwann résulte en une démyélinisation progressive dans le système nerveux central et périphérique. Les sulfatides en excès sont également présents dans les organes viscéraux et peuvent être détectés dans les urines. Les enfants affectés présentent un développement retardé accompagné de spasticité, ataxie, convulsions et neuropathie périphérique. Les nerfs optiques et la rétine sont également touchés avec pour résultat une perte de vision. Une démence progressive affecte les interactions avec l'entourage.

La vitamine K a été impliquée dans le métabolisme cérébral des sphingolipides (lipides complexes). Même si des études *in vivo* et *in vitro* lui attribuent un rôle dans la régulation métabolique, le mécanisme d'action exact est

actuellement inconnu. Les premières études sur la warfarine, un anticoagulant et antagoniste de la vitamine K, ont montré que ce composé empêche la synthèse des sphingolipides réduisant de ce fait les taux de sulfatide chez les souris. Les études suivantes ont confirmé la réduction en enzyme galactosyl-céramide sulfatase transférée dans le cerveau de la souris jeune traitée par la warfarine. Cette enzyme est responsable de la conversion d'une catégorie des sphingolipides, les cérebrosides, en sulfatides et sa réduction par la warfarine pourrait être un moyen de diminuer la charge métabolique résultant du défaut de l'ARSA.

Actuellement, le seul traitement disponible pour la MLD est la greffe allogénique de moelle osseuse où le tissu anormal du receveur est remplacé par le tissu sain du donneur. Ce traitement invasif est associé à des complications significatives. La greffe allogénique de moelle osseuse est efficace seulement si elle est effectuée tôt, c'est pourquoi de nombreux patients ne peuvent pas être considérés comme de bons candidats pour cette procédure. L'utilisation de warfarine pourrait être une option palliative pour les enfants avec une MLD qui sont exclus des protocoles de greffe allogénique. Sans traitement, la MLD est fatale. Lors du colloque familles ELA 2008, les données préliminaires collectées lors de l'étude pilote en cours examinant la sécurité et l'efficacité d'un traitement par la warfarine de jeunes enfants MLD ont été présentées. Quatre patients MLD ont été traités pendant 4 semaines avec de la warfarine par voie orale. Le dosage du médicament est tel que l'index sanguin INR (mesure de la coagulation) reste entre 2 et 2,5, une dose élevée de warfarine pouvant causer un saignement excessif. Les malades traités ont subi une évaluation clinique avant, pendant et après l'administration de warfarine. Des examens d'imagerie médicale (IRM), des tests de fonction motrice et la mesure des taux de sulfatide dans le sang et l'urine ont également été effectués. Les données préliminaires révèlent d'importantes fluctuations dans les sulfatides urinaires mais aucune diminution significative. Les examens IRM n'ont décelé aucun changement après traitement. Une diminution du myoinositol, molécule du cerveau anormalement élevée chez les patients MLD, a été observée dans le ganglion basal. De plus, une augmentation marquée des fibres myélinisées fonctionnelles a été visualisée par la technique DTI. L'évaluation neurologique des enfants traités indique un ralentissement de la détérioration du développement et des changements modérés dans la fonction motrice.

En conclusion, les données préliminaires suggèrent que l'administration de warfarine aux patients MLD pendant 4 semaines est bien tolérée et est associée à une certaine amélioration au niveau des fibres myélinisées, une normalisation d'un métabolite du cerveau et des indices de développement neurologique. Dans un proche avenir, il est envisagé de recruter des patients MLD supplémentaires à divers stades dans la progression de la maladie.

Remerciements : Cette étude pilote a été financée par le Comitato Aiutiamo Edoardo et Comitato Pro-Roberto.

Maladie de Canavan

🌟 Thérapies géniques et pharmacologiques expérimentales pour la maladie de Canavan

Dr. Paola Leone (USA)

La maladie de Canavan est une leucodystrophie de l'enfant associée à des mutations du gène de l'aspartoacylase (ASPA), une enzyme qui convertit le N-acétyl aspartate (NAA) en acétate et aspartate. Même si la pathologie est limitée au système nerveux central, le défaut en ASPA se traduit par une accumulation de NAA dans le cerveau, les poumons, les reins et le foie. La maladie de Canavan est caractérisée par des changements morphologiques de la substance blanche comprenant une démyélinisation, une dégénération des oligodendrocytes (les cellules de la myéline) et un gonflement pathologique des astrocytes (cellules de soutien).

Les patients présentent une hypotonie, une tête anormalement grande et des difficultés pour atteindre les étapes normales du développement. Durant la progression de la maladie, les symptômes moteurs empirent et les malades voient leur spasticité et leur incapacité augmenter. La maladie progresse implacablement et même avec les meilleurs soins, les enfants ne se développent jamais normalement et montrent une dégénération neurologique sévère progressant vers un état de rigidité, d'immobilité et de retard mental sévère aboutissant au décès.

Comme d'autres maladies neurodégénératives chez l'homme, la maladie de Canavan est associée à une altération de la myéline, gaine qui entoure les axones du système nerveux central. La myéline est produite par les oligodendrocytes qui eux sont formés à partir de précurseurs immatures lors du développement postnatal. La compréhension de ce processus permettra le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblées. Les travaux du Dr. Paola Leone sur un modèle de rat malade suggèrent que l'ASPA est un régulateur de la formation et la maturation des oligodendrocytes pendant le développement postnatal précoce. La relation entre le NAA et la maturation des oligodendrocytes doit être maintenant étudiée. Pour finir, la sécurité clinique et l'efficacité d'une nouvelle méthode de transfert génétique via le vecteur viral de type AAV dans le système nerveux central de patients Canavan seront discutés.

Remerciements : la recherche fondamentale financée par Jacob's Cure, la Saving Max Foundation et la Canavan Research Foundation ; la recherche clinique financée par le NIH/NINDS.

Atelier syndrome CACH, Maladie d'Alexander, Leucodystrophie avec mégalencéphalie kystique et autres leucodystrophies démyélinisantes

Syndrome CACH

🌟 Nouvelles approches physiopathologiques dans le syndrome CACH

Dr. Anne Fogli (France)

Le syndrome CACH/VWM (Childhood Ataxia with Central Hypomyelination / Vanishing White Matter disease) est une leucodystrophie due à des mutations dans le facteur protéique eIF2B, présent dans toutes les cellules de l'organisme et impliqué dans la synthèse des protéines et dans la régulation de cette synthèse. L'équipe du Dr. Fogli a démontré que les patients



Dr. Anne Fogli



Dr. Anne Fogli

porteurs de mutations du facteur eIF2B peuvent présenter un grand spectre clinique, selon le type de mutations et qu'il existe une corrélation entre la sévérité de la maladie (âge de début) et le type de mutation identifiée. Par ailleurs, l'activité biochimique du facteur eIF2B mesurée dans les cellules sanguines de patients (les lymphocytes) est diminuée de manière proportionnelle au degré de sévérité clinique. L'ensemble de ces recherches a permis de mettre en place un diagnostic moléculaire pour le syndrome CACH/VWM au sein du service de biochimie et biologie moléculaire du CHU de Clermont-Ferrand. Ainsi les confirmations de diagnostic, les diagnostics prénataux et les conseils génétiques sont désormais effectués au sein du CHU pour cette pathologie.

Les objectifs sont désormais de comprendre les mécanismes impliqués dans les pathologies dues à ces mutations du facteur eIF2B (ou eIF2B-pathies), et en particulier d'expliquer pourquoi les mutations d'un facteur présent dans toutes les cellules de l'organisme donnent lieu à une maladie avec une affection prédominante du cerveau. Pour cela, des approches complémentaires ont été initiées avec des modèles cellulaires et animaux :

- **les cellules de patients** pour valider la mesure de l'activité du facteur eIF2B en tant que test potentiel d'aide au diagnostic et pour identifier les voies cellulaires en cause dans la maladie ;
- **les cellules souches de souris** pour analyser les anomalies de différenciation des cellules du cerveau impliquées dans la formation de la myéline (oligodendrocytes) et celles impliquées dans les échanges métaboliques (astrocytes) ;
- **les modèles animaux** pour analyser les effets des mutations du facteur eIF2B au cours du développement et particulièrement pendant le développement du cerveau. Nous allons étudier ces impacts dans le modèle poisson (Zebrafish, facile à étudier) et dans les modèles mammifères de souris.
- **Enfin, le modèle de levures** sera également utilisé pour sélectionner des drogues qui rétablissent l'activité eIF2B *in vitro*. Ces molécules potentiellement thérapeutiques seront testées dans nos modèles cellulaires et animaux afin de valider leur effet.

Ainsi, l'utilisation de ces différents modèles permettra de comprendre les voies en cause et ainsi la physiologie de cette maladie neurodégénérative sévère. Par ailleurs, le Dr. Anne Fogli et son équipe espèrent pouvoir sélectionner des molécules d'intérêt thérapeutique qui rétabliront le défaut biochimique identifié dans les cellules de patients.

Approche thérapeutique dans le syndrome CACH

Dr. Graham Pavitt (Royaume-Uni)

Le syndrome CACH affecte principalement les cellules gliales (le système nerveux central se compose de deux types de cellules : les neurones et les cellules gliales qui jouent un rôle primordial en assurant l'isolement des tissus nerveux, les fonctions métaboliques, le soutien squelettique et la protection vis-à-vis des corps étrangers en cas de lésions) de la substance blanche du cerveau. Deux types de cellules sont touchés : les astrocytes et les oligodendrocytes. En 2001, des études génétiques chez les malades ont mis en évidence les mutations à l'origine du syndrome CACH. Ces mutations affectent une protéine essentielle pour la fabrication de toutes les protéines de l'organisme : la protéine eIF2B (abréviation pour "eukaryotic Initiation Factor 2B"). Ces résultats étaient inattendus. La fabrication de protéines a lieu dans toutes les cellules de l'organisme en utilisant un même mécanisme, appelé la traduction.

En effet, pourquoi la mutation d'une protéine fonctionnant dans tout l'organisme donne lieu à une maladie spécifique des cellules du cerveau ? On ignore encore pourquoi les mutations de la protéine eIF2B provoquent le syndrome CACH. Cependant, la production de protéines étant nécessaire pour toutes les formes de la vie, de nombreux chercheurs ont étudié le processus de traduction en détail et le rôle d'eIF2B dans ce processus. La traduction a été conservée durant des millions d'années d'évolution et est extrêmement semblable chez les bactéries simples, les levures et l'homme. La traduction se produit à l'intérieur des cellules dans des usines minuscules appelées les ribosomes. Une seule cellule peut contenir 200 000 (ou plus) ribosomes de sorte que plusieurs milliers de nouvelles protéines sont fabriquées chaque seconde par cellule. La production de protéines est balancée par la destruction de celles qui ne sont plus nécessaires et dont les acides aminés, composants des protéines, sont réutilisés. La fabrication de protéine emploie de grandes quantités d'énergie et est donc étroitement contrôlée.

La fonction et la régulation d'eIF2B a été étudiée en détail chez la levure du boulanger *Saccharomyces cerevisiae*. Les cellules de levure sont relativement simples. En plus de leur importance industrielle dans la cuisson et la fermentation, elles ont été un modèle d'étude important pour les scientifiques examinant la base moléculaire des fonctions cellulaires. Cela s'explique par le fait que la levure peut être étudiée en utilisant des méthodes génétiques et biochimiques mais aussi parce que les cellules de levure réalisent de nombreuses opérations similaires aux humains comme la fabrication de protéine. La fonction et la régulation d'eIF2B sont conservées de la levure à l'homme. Elle active une deuxième protéine nécessaire pour la traduction appelée eIF2. De nombreux travaux démontrent que la protéine eIF2B est essentielle pour moduler et contrôler la traduction en conditions normales ou en réponse à des stress cellulaires. Dans les modèles cellulaires expérimentaux, eIF2B est connu pour être très important dans le contrôle des réponses cellulaires aux aliments, aux infections de virus et à d'autres stimuli ou stress. Quelques gènes sont



Dr. Graham Pavitt

particulièrement sensibles à eIF2B et deviennent actifs durant le jeûne ou en condition de stress. L'étude des effets de quelques mutations CACH sur la protéine eIF2B dans des cellules de levure a révélé que celles-ci ont altéré la fonction d'eIF2B et pourraient activer la traduction d'un gène extrêmement sensible à l'action d'eIF2B, appelé *GCN4*, de façon inappropriée. Le fait que les cellules gliales soient affectées par des mutations d'eIF2B peut s'expliquer de deux façons :

1. Soit les cellules gliales expriment de façon aberrante un ou plusieurs gènes spécifiques parce qu'elles sont extrêmement sensibles à l'action d'eIF2B ce qui conduit au syndrome CACH.
2. Soit la quantité d'eIF2B normalement nécessaire est différente dans les cellules gliales comparé aux autres cellules de l'organisme. Ainsi quand l'action d'eIF2B est altérée par des mutations CACH, l'activité d'eIF2B est réduite en-dessous d'un seuil critique pour le bon fonctionnement des cellules gliales, mais a peu ou pas d'effet sur la majorité des autres cellules et tissus.

À l'heure actuelle, il est difficile de dire si ces hypothèses sont correctes. Cependant on a constaté qu'on peut employer le modèle de levure CACH pour trier et sélectionner des composés ayant un effet thérapeutique. Serait-il possible d'identifier un produit chimique qui pourrait corriger l'expression de *GCN4* et permettre à des cellules de se développer normalement ? Depuis de nombreuses décennies les chimistes ont créé de grandes collections de composés. Parmi ces collections, plusieurs composés ont été identifiés avec une valeur thérapeutique pour quelques maladies. Le premier problème à résoudre est d'identifier parmi les milliers de composés fabriqués quels produits chimiques seraient bénéfiques pour les patients CACH. La stratégie du Dr. Pavitt était de développer un ensemble d'essais miniaturisés afin de pouvoir évaluer le potentiel thérapeutique de milliers de produits chimiques. Les sociétés fabriquent et vendent des composés pour que les chercheurs les testent dans leurs essais. Ceux-ci sont très chers. Avec le soutien d'ELA, l'équipe du Dr. Pavitt examine maintenant une gamme de produits chimiques provenant de sources diverses avec l'espoir de trouver des composés candidats qui pourront être testés sur d'autres modèles de la maladie. Ces expérimentations supplémentaires seront nécessaires avant qu'un composé puisse être testé chez des volontaires humains ou chez des patients.

Maladie d'Alexander

La maladie d'Alexander, modèle cellulaire et animal : un cheminement vers une approche thérapeutique ?

Dr. Danielle Pham-Dinh et Dr. Diana Rodriguez (France)

La maladie d'Alexander est une maladie identifiée en 1949 comme une maladie responsable de lésions neuropathologiques originales (neuropathologie : étude macroscopique et microscopique du tissu nerveux). En effet, dans cette maladie l'atteinte de la myéline est associée à la présence d'inclusions protéiques (agrégats de protéines) dans les astrocytes appelées fibres de Rosenthal. Initialement, la maladie d'Alexander a été essentiellement identifiée chez de jeunes enfants et se présentait comme une maladie sporadique. Dans ces formes infantiles, les premiers symptômes apparaissent avant l'âge de 2 ans, il s'agit d'un retard puis d'une régression des acquisitions psychomotrices associés à une macrocéphalie (gros périmètre crânien), une épilepsie, puis des troubles de la déglutition. Les scanners et IRM cérébraux montrent des lésions étendues de la substance blanche (structures cérébrales riches en myéline) mais aussi des noyaux gris. La maladie progresse le plus souvent rapidement mettant en jeu le pronostic vital. La présence d'une atteinte massive de la myéline dans ces formes infantiles a conduit à classer la maladie d'Alexander dans le groupe des leucodystrophies.

En 2001, le gène de la GFAP (gliale fibrillaire acide protéine) a été identifié comme responsable de la maladie d'Alexander dans ces formes infantiles. Actuellement, plus de 60 mutations dominantes différentes de la GFAP sont rapportées. Les patients mutés ont des symptômes cliniques et radiologiques beaucoup plus hétérogènes que ce qui était décrit initialement. Actuellement, on

Dr. Danielle Pham-Dinh



individualise 2 groupes de patients dans les formes infantiles (débutant avant 2 ans). À côté des patients ayant une régression précoce et un pronostic sévère, il existe un groupe d'enfants présentant dès les premiers mois de vie un retard dans les acquisitions psychomotrices, parfois des crises épileptiques, mais qui continue à faire des progrès pendant de nombreuses années avant que ne survienne une aggravation après l'âge de 10 ans (parfois bien plus tard). L'identification des mutations de la GFAP a permis également d'identifier un nombre croissant de formes juvéniles (début entre 2 et 12 ans) et de formes adultes très différentes des formes infantiles. Chez ces patients, les symptômes apparaissent après un développement psychomoteur normal, il s'agit le plus souvent d'un trouble de la marche progressif, parfois d'un trouble de la voix ou de la déglutition alors que les fonctions intellectuelles sont préservées. Les lésions de la substance blanche sont ici discrètes voire absentes, mais il existe une atteinte essentiellement du tronc cérébral et du cervelet. Le diagnostic de ces formes est plus difficile et leur évolution très variable. En revanche, l'identification de la mutation de la GFAP ne permet pas de préciser le pronostic de la maladie, la même mutation pouvant être responsable de formes infantiles, juvéniles ou adultes. Jusqu'à présent les formes infantiles sont toujours sporadiques (parents non mutés), cependant l'étude du gène chez les parents et chez le fœtus lors d'une nouvelle grossesse est conseillée si les parents le désirent. Les rares formes familiales concernent les formes juvéniles et adultes.

La maladie d'Alexander est donc une maladie de l'astrocyte qui affecte secondairement la myéline du système nerveux central (SNC), l'atteinte de la myéline étant massive dans la forme infantile et discrète dans la forme adulte. Les astrocytes sont des cellules très nombreuses dans le SNC, elles sont très différentes des oligodendrocytes, cellules myélinisantes, puisqu'elles ne synthétisent pas la myéline, bien qu'elles participent à la maturation des oligodendrocytes. Un autre de leurs rôles très important est leur participation au fonctionnement des neurones, que ce soit au cours du développement ou chez l'adulte. Les astrocytes sont des cellules de forme étoilée qui envoient de longues extensions, les pieds astrocytaires, à travers tout le SNC, vers les barrières entre le SNC et les vaisseaux sanguins, comme vers les autres cellules nerveuses ; on les trouve aussi bien dans les régions myélinisées, la substance blanche, que dans les régions qui ne le sont pas, la substance grise, par exemple le cortex, où ils jouent des rôles différents en fonction de leur environnement.

La GFAP est une protéine formant des filaments de taille intermédiaire dans le cytoplasme des astrocytes. En s'assemblant avec d'autres protéines présentant une structure semblable, elle participe à la formation de la charpente de l'astrocyte, que l'on appelle le cytosquelette astrocytaire. Ce cytosquelette est nécessaire à l'intégrité de l'astrocyte, il confère à la cellule une certaine rigidité, lui donne une résistance mécanique, et participe au transport de nombreux constituants, solubles ou non, à l'intérieur de la cellule et vers sa membrane.

Les mutations de la GFAP, responsables de diverses formes de la maladie d'Alexander, empêchent la formation d'un cytosquelette normal et provoquent la formation de gros agrégats de cette protéine dans les astrocytes des

patients. Ces anomalies des astrocytes gênent leur fonctionnement normal, et retentissent sur le fonctionnement des autres cellules nerveuses, oligodendrocytes (atteintes de la myéline plus ou moins importantes) et neurones (épisodes d'épilepsie). Les mécanismes anormaux par lesquels se produisent ces différentes perturbations ne sont pas encore connus.

Un modèle cellulaire d'astrocyte pathologique a été développé par l'équipe du Dr. Pham-Dinh en utilisant des cultures primaires d'astrocytes issus de souris dans lesquels s'exprime la GFAP mutée. Ce modèle *in vitro* nous a permis de démontrer que les agrégats de GFAP étaient parfois instables et se désagrégeaient naturellement dans 10% des cellules qui présentaient alors un réseau de protéines GFAP normal. Alors que les astrocytes contenant des agrégats semblent plus sensibles *in vitro* à la mort cellulaire, ceux dans lesquels les agrégats ont disparus survivent mieux en culture. On a donc recherché quels étaient les mécanismes qui permettraient cette "guérison" des cellules.

Ces travaux récents montrent que plusieurs mécanismes cellulaires naturels participent à la disparition des agrégats dans ce modèle *in vitro*. Ce sont des mécanismes utilisés par toutes les cellules pour se débarrasser de toute protéine anormale, qu'elle soit mutée ou qu'elle soit produite en trop grande quantité, ou que la cellule soit en état de stress (fièvre par exemple). Nous cherchons maintenant à stimuler ces voies de dégradation des protéines anormales grâce à l'utilisation de plusieurs molécules, agissant à différents niveaux. Plusieurs d'entre elles se sont révélées très actives. L'équipe du Dr. Danielle Pham-Dinh vient de recevoir la première lignée de souris Knock-in exprimant une mutation pathogène de la GFAP et va tester ces molécules sur les souris après avoir réalisé une étude anatomopathologique afin d'évaluer tout d'abord dans quelle mesure ces souris constituent un bon modèle de la maladie d'Alexander.

› Leucodystrophie avec mégalencéphalie kystique (MLC)

⊗ Bases moléculaires de la leucodystrophie avec mégalencéphalie kystique Dr. Raul Estevez (Espagne)

Les mutations dans le gène *MLC1* sont à l'origine de la leucodystrophie avec mégalencéphalie kystique (MLC) qui se caractérise médicalement par une tête anormalement grande, la perte de fonctions motrices, une épilepsie et un déclin mental modéré. Bien que nous connaissions la localisation de la protéine *MLC1*, les raisons expliquant pourquoi la perte de fonction *MLC1* induit la maladie restent méconnues tout comme la fonction normale de *MLC1* dans le cerveau. Le deuxième problème réside



Dr. Raul Estevez

dans le fait que chez quelques patients MLC, aucune mutation *MLC1* ne peut être décelée. Les études génétiques indiquent qu'il existe au moins un autre gène pour le moment inconnu impliqué dans la MLC. Le faible nombre de patients sans mutations *MLC1* et la possibilité qu'il y ait de multiples gènes responsables de la MLC représentent un frein pour une étude génétique conventionnelle permettant d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans la maladie. En outre, les mécanismes physiologiques de la maladie sont inconnus et aucune thérapie n'est disponible. Une solution possible pourrait être l'étude des protéines interagissant avec la protéine *MLC1*, aussi appelée interactome de *MLC1*, ainsi que l'étude des modèles animaux de la maladie. Durant le colloque familles ELA, le Dr. Raul Estevez a présenté un sommaire des travaux menés par son laboratoire depuis le début de son travail sur la MLC, une nouvelle étude sur l'interactome ainsi que le début de l'étude sur les modèles animaux. Concernant les thérapies envisageables, il a exposé ses travaux récents menés en collaboration avec le groupe de recherche de Marjo Van der Knaap où les mutations faux sens ont pu être identifiées. L'existence d'un mécanisme pathologique commun pour toutes les mutations faux sens, mécanisme dû au taux réduit de protéine *MLC1*, est proposé. Des interventions pharmacologiques ayant pour but l'amélioration du repliement de la protéine *MLC1* pourraient être employées comme stratégie thérapeutique chez des patients MLC. Les résultats à venir aideront à identifier de nouveaux gènes responsables de la maladie et permettront de renseigner la fonction normale de *MLC1*, ce qui devrait permettre de concevoir de futures thérapies spécifiques pour les patients MLC.

⊗ Caractérisation de la protéine *MLC1* responsable de la leucodystrophie avec mégalencéphalie kystique

Dr. Elena Ambrosini (Italie)

La leucodystrophie avec mégalencéphalie kystique ou MLC est une forme héréditaire rare de leucodystrophie spongiforme débutant dans l'enfance. Elle touche le système nerveux central causant une altération neurologique grave pour laquelle aucun traitement n'est encore disponible. Jusqu'à présent, des mutations dans un seul gène, appelé *MLC1*, ont été associées à la maladie, bien que l'existence d'un deuxième gène impliqué dans la MLC soit probable. Le gène *MLC1* sert à la fabrication d'une protéine de la membrane, la protéine *MLC1*, fortement exprimée dans le cerveau mais dont la fonction est inconnue. L'objectif du Dr. Ambrosini est de répondre à des questions de base concernant le rôle de la protéine *MLC1* dans la physiologie du cerveau afin de pouvoir déterminer comment les mutations dans le gène *MLC1* provoquent la pathologie du cerveau. L'élucidation de ces aspects fournira des informations importantes pour développer des stratégies thérapeutiques et améliorera la qualité de vie des patients MLC. Grâce à un nouvel outil développé par le laboratoire du Dr. Elena Ambrosini et à l'analyse de cellules et tissus du cerveau, l'étude des propriétés biochimiques de la protéine *MLC1* a débuté. Il s'avère que cette protéine est associée à des protéines du complexe glycoprotéine associée à la dystrophine (DGC) dans la membrane des astrocytes, les cellules du cerveau fabriquant *MLC1*. Le DGC est un complexe avec de multiples protéines caractérisé à l'origine dans le muscle mais également présent dans le système nerveux central où il est impliqué dans le développement et l'homéostasie du cerveau. Les travaux en cours visent à identifier les protéines s'associant directement à *MLC1* et étudier la structure de *MLC1* à la membrane ce qui permettra d'avoir une vision des voies moléculaires dans lesquelles *MLC1* est fonctionnellement impliqué. L'identification des protéines interagissant avec *MLC1* peut également contribuer à l'identification d'autres gènes liés à la maladie. Atteindre ces objectifs est également critique pour permettre de diagnostiquer la maladie chez des patients (environ 25%) sans mutation *MLC1* mais développant les symptômes typiques de la maladie.

Dr. Elena Ambrosini



Atelier Pelizaeus-Merzbacher, Paraplégie spastique 2 et autres leucodystrophies dysmyélinisantes Maladie de Refsum

Maladie de Pelizaeus-Merzbacher

La maladie de Pelizaeus-Merzbacher : de la génétique à la biologie et perspectives de traitement

Pr. James Garbern (USA)

La maladie de Pelizaeus-Merzbacher (PMD), ainsi nommée en référence aux deux médecins allemands ayant décrit la maladie pour la première fois, est une condition rare causée par des mutations du gène responsable de la fabrication de la protéine protéolipide 1 (PLP1, anciennement appelée PLP), la protéine principale de la myéline du système nerveux central.

Génétique de la PMD

Deux aspects principaux sont importants pour comprendre la maladie. Le premier est la génétique de la PMD et le second est lié à l'effet des mutations *PLP1* sur le système nerveux.

Les maladies génétiques telles que la PMD sont causées par une modification ou une mutation du matériel de base de l'organisme. Ce matériel de base, appelé les gènes, code pour les protéines qui composent une grande partie du corps et contrôlent la façon dont il fonctionne. La plupart des gènes se présentent en paires : un gène provient de la mère et l'autre du père. Parmi les dizaines de milliers de paires de gènes, une paire pourra parfois être modifiée ou mutée. La mutation peut être héritée des parents ou peut surgir de façon spontanée. Un gène muté peut parfois ne pas poser de problème. D'autres fois, le gène muté causera une maladie génétique comme la PMD. Les gènes sont portés par des chromosomes. Le



Pr. James Garbern

chromosome peut être considéré comme une bibliothèque et le gène comme un livre de la bibliothèque. Les bases d'ADN (acide désoxyribonucléique) sont les produits chimiques entrant dans la composition des gènes et sont comme les lettres d'un livre. L'information génétique est stockée et transmise de génération en génération sous la forme de séquences d'ADN. Il existe 46 chromosomes chez l'homme. Les chromosomes se présentent en 23 paires, les 22 premières paires sont identiques chez les hommes et les femmes. La dernière paire représente les chromosomes sexuels : les femmes possèdent deux chromosomes X alors que les hommes possèdent un chromosome X et un chromosome Y.

Le gène de la PMD étant localisé sur le chromosome X, la maladie affecte typiquement seulement des garçons ou des hommes d'une famille. On parle de transmission liée à l'X. Les femmes possèdent deux chromosomes X tandis que les hommes ont un chromosome X et un chromosome Y. Si un gène sur le chromosome X ne fonctionne pas correctement, les hommes seront touchés plus souvent que les femmes puisque les femmes ont probablement une copie normale du gène sur l'autre chromosome X qui compense habituellement le chromosome X défectueux. Les femmes portant le gène de la PMD ne sont donc pas typiquement affectées puisque le gène *PLP1* sur l'autre chromosome X est normal.

Les hommes avec une PMD ne peuvent généralement pas avoir d'enfant, c'est pourquoi la maladie est habituellement transmise par les femmes qui sont dites porteuses de la mutation PMD. Les femmes portant le gène PMD ont 1 risque sur 2 de le transmettre à leurs fils et à leurs filles. Ce risque est identique pour chaque grossesse. Ce qui arrive lors d'une grossesse n'a aucune influence sur la grossesse suivante. Les fils héritant du gène seront affectés tandis que les filles seront des porteuses. Si une fille n'hérite pas du gène PMD, elle ne passera pas la PMD à ses enfants. Les femmes porteuses développent rarement des problèmes neurologiques. Chez les femmes dont les hommes de la famille ont des symptômes relativement modérés de la maladie, il y a un risque.

L'autre aspect important de la PMD est de comprendre comment les différentes mutations perturbent la fonction cellulaire. Les principaux types de mutations sont les duplications *PLP1*, les mutations ponctuelles et les mutations nulles.

La duplication *PLP1*

Depuis la découverte révélant que les mutations *PLP1* entraînent la PMD en 1989, il a été établi que la plupart des PMD sont dues à des duplications (ou plus rarement à des triplications ou même quintuplications) du gène *PLP1* entier. Les duplications représentent environ 50 à 75 % des familles avec une PMD. On pense actuellement que la duplication a pour conséquence un surplus de fabrication de protéine protéolipide 1. Cette PLP1 en excès est toxique pour les cellules (appelées les oligodendrocytes) fabriquant de la myéline, substance qui entoure les fibres nerveuses. De nombreuses différences en termes de difficultés neurologiques peuvent exister entre les familles présentant des duplications. Ces différences sont peut-être dues aux différences de taille de la duplication chez ces familles. Les membres d'une même famille porteraient des duplications de même taille. Par contre, il s'avère qu'une grande différence au niveau des tailles des duplications et de leurs points de cassure (c'est-à-dire le début et la fin de la zone dupliquée du chromosome) existe entre familles différentes. Les plus petites duplications connues tournent autour de 100 000 bases d'ADN, la plus importante mise en évidence à ce jour est de plus de 5 millions de bases. Le gène *PLP1* mesure environ 30 000 bases de long. D'autres facteurs pouvant expliquer les différences de sévérité entre les familles seraient l'existence d'autres gènes inconnus également dupliqués et de gènes situés avant ou après le gène *PLP1* sur le chromosome X et mutés par la duplication. Davantage de travaux de recherche sont nécessaires pour comprendre cette variabilité entre les familles (et même à l'intérieur de familles) touchées par la PMD.

Les mutations ponctuelles *PLP1*

Les mutations ponctuelles sont des erreurs dans le gène où une des bases ou "lettres" est remplacée par une mauvaise lettre (on parle de substitution). Puisqu'il existe seulement 4 lettres dans l'alphabet génétique et qu'elles sont lues en mots de 3 lettres, un maximum de 64 mots ou codons génétiques sont possibles. Parmi ces 64 possibilités de codons, 61 d'entre eux codent pour un des 20 acides aminés existants. Les 3 codons restants s'appellent les codons stop et indiquent à la machinerie de synthèse des protéines quand s'arrêter. Il existe donc plus de possibilités de codons qu'il n'existe d'acides aminés. Certains acides aminés possèdent plus d'un codon pouvant les coder, tandis que d'autres ont seulement un ou deux codons possibles. Les protéines sont simplement des chaînes d'acides aminés accrochés ensemble comme des perles sur un collier.

Pour compliquer les choses, la grande partie de l'information génétique codant pour des protéines est divisée en morceaux qui sont séparés les uns des autres par des distances parfois importantes. Ces morceaux s'appellent les exons et les segments d'ADN qui séparent les exons s'appellent les introns. L'information génétique contenue dans le noyau d'une cellule est d'abord lue et transformée en molécules d'acide ribonucléique (ARN), puis les introns sont éliminés de l'ARN pour produire des molécules d'ARN messager (ARNm) (on parle d'épissage) qui contiennent toute l'information codant pour les protéines. L'ARNm quitte alors le noyau et va dans le cytoplasme (la partie de la cellule entourant le noyau) où il servira de modèle pour les machines de synthèse des protéines.

Le gène *PLP1* est constitué de 7 exons. Un des exons (le troisième) est parfois partiellement épissé ce qui a pour conséquence de produire une protéine ressemblant à la protéine PLP mais pour laquelle 35 acides aminés manquent au milieu de la protéine. Cette protéine plus petite s'appelle DM20. Certaines PMD sont dues à des mutations dans l'épissage de l'ARNm de *PLP1*.

En plus des régions codant pour une protéine, il existe des régions au niveau de l'ADN qui modulent l'expression des gènes. Pour que les bonnes protéines soient fabriquées en quantité suffisante au niveau des organes adéquats, de nombreux processus doivent être régulés avec une grande précision. Une régulation importante se produit au niveau du noyau de la cellule qui décide quels gènes activer ou inhiber et en quelles proportions. Certaines séquences d'ADN situées habituellement à l'extérieur de la zone codant pour la protéine régulent l'expression de gènes ou la transformation en ARN. Des mutations au niveau de ces séquences régulatrices peuvent avoir des effets drastiques sur le gène avec pour conséquence une protéine fabriquée en faible quantité, en excès, produite dans un organe inadéquat ou à un mauvais moment de la vie.

Selon la localisation de la lettre et ce qui la remplace, la mutation peut avoir pour conséquence :

- aucun effet ;
- un acide aminé de la protéine est remplacé par un mauvais acide aminé (on parle de substitution d'acide aminé ou faux sens). Selon l'endroit et la nature de la substitution, ces mutations peuvent avoir des effets modérés ou sévères. La protéine PLP1 avec un mauvais acide aminé à un endroit critique de la protéine est toxique pour les cellules de la myéline, tout comme l'excès d'une PLP1 normale ;
- un acide aminé est remplacé par un codon stop ayant pour résultat l'arrêt prématuré de la protéine. On parle de mutation non-sens ;
- la séquence de la protéine est décalée au niveau de la mutation et est souvent prématurément arrêtée après celle-ci (elle finit au mauvais endroit) ;
- une perturbation dans la régulation du gène ;
- une perturbation dans l'épissage du gène.

La sévérité d'une mutation dépend généralement de la façon dont la structure de la protéine est modifiée par la mutation. Les mutations provoquant des modifications majeures dans la structure de PLP1 (ou un mauvais repliement de la protéine) aboutissent à une accumulation de la protéine nouvellement synthétisée à l'intérieur de la cellule au lieu d'aller à la surface de la cellule où elle est supposée jouer un rôle important en stabilisant la gaine de myéline. Ces mutations graves activent une voie biochimique appelée la réponse pour protéine non repliée qui conduit à la dégénérescence des oligodendrocytes. Les mutations à l'origine de modifications modérées de la structure protéique n'induisent pas autant de rétention de protéine dans la cellule et provoquent peu ou pas de dégénérescence d'oligodendrocyte. Les symptômes neurologiques pour les femmes portant ces mutations plus modérées sont plus probables puisqu'elles ont certainement plus d'oligodendrocytes survivants en utilisant le chromosome X muté (chez les femmes seulement l'un des chromosomes X est actif dans une cellule à cause d'un processus nommé pour l'inactivation du X).

Bien que non considérés comme des mutations ponctuelles, les effets dus à des mutations supprimant ou insérant un petit nombre de bases (par exemple entre deux et deux douzaines) sont semblables à ceux qui se produisent lors de mutations touchant une seule base.

Les mutations nulles

Pour finir, il existe des malades PMD pour lesquels le gène *PLP1* est complètement manquant ou bien avec une mutation près de l'origine du gène. De façon surprenante, ces mutations, appelées mutations nulles, conduisent à un syndrome plus modéré que les duplications *PLP1* ou que la majorité des mutations ponctuelles.

Beaucoup de mutations *PLP1* ont été identifiées. La plupart de ces mutations ponctuelles sont uniques pour une famille. Puisqu'elles sont uniques, il est difficile de prédire l'évolution de la maladie chez ce type de patient PMD, particulièrement si aucune histoire antérieure de la maladie n'est connue dans la famille.

Le *PLP1* et la myéline

La PMD est l'une des leucodystrophies, maladies altérant la formation de la gaine de myéline qui agit en tant qu'isolant des fibres nerveuses dans le système nerveux central, c'est-à-dire le cerveau et la moelle épinière. Environ 75 % de la myéline est composée de graisses et de cholestérol et les 25% restant sont des protéines. Le *PLP1* compte pour environ la moitié des protéines de la myéline et est le constituant plus abondant de la myéline, les lipides mis à part. Il s'avère que l'excès de *PLP1* dans les oligodendrocytes, les cellules de la myéline dans le système nerveux central, est nocif. La recherche chez les animaux a montré que l'excès de *PLP1* qui va de pair avec le cholestérol et d'autres graisses de la myéline s'accumule à l'intérieur de la cellule au lieu d'aller à leur membrane. Les travaux du Dr. Skoff ont dévoilé des effets surprenants au niveau du métabolisme énergétique cellulaire chez les souris ayant trop de gènes *PLP1*. Les mutations ponctuelles ainsi que les autres petites mutations ont habituellement pour effet la substitution d'un des acides aminés par un autre quelque part dans la protéine ou empêchent *PLP1* d'atteindre sa pleine longueur. Ceci a probablement comme conséquence une protéine ne pouvant pas se replier correctement ou une protéine ne pouvant plus interagir avec d'autres constituants de la myéline. Ces protéines mutantes sont toxiques pour les oligodendrocytes et les empêchent de faire une myéline normale.

Conseil génétique

Lorsqu'une mutation du gène *PLP1* est identifiée dans une famille, il est possible d'examiner les membres de la famille pour la mutation et de fournir un diagnostic prénatal pour les parents ayant un risque de transmettre cette maladie. Un tel test, particulièrement pour un couple souhaitant fonder une famille ou une femme voulant savoir si elle est porteuse, doit être effectué avec les conseils d'un médecin généticien et/ou d'un conseiller génétique. Le test pour les porteuses est habituellement reporté jusqu'à ce que l'individu ait 18 ans. Il est maintenant possible d'effectuer un test génétique préimplantatoire pour la PMD.

Perspectives de traitement pour la PMD

Il n'existe malheureusement aucun traitement pour la maladie de Pelizaeus-Merzbacher. Les différents sous-types de la maladie demanderont probablement des stratégies thérapeutiques différentes. Dans le cas de personnes avec

des duplications *PLP1*, où trop de protéine *PLP1* est fabriquée, le traitement idéal serait de concevoir des traitements réduisant la quantité de protéine *PLP1* produite par les oligodendrocytes. Une thérapie potentiellement efficace serait l'utilisation de molécules d'ARNi (petites molécules interférentes d'ARN), découvertes par les Drs Fire et Mello qui ont gagné le prix Nobel de médecine en 2006. Si d'autres médicaments diminuant l'expression du gène *PLP1* peuvent être découverts, ceux-ci pourraient être efficaces en l'absence d'effets secondaires toxiques. Comme mentionné auparavant, un excès de *PLP1* est responsable d'effets métaboliques indirects. Il est possible que des traitements améliorant la fonction énergétique et maintenant un bon état nutritionnel soient très utiles pour les malades avec des duplications *PLP1*.

Pour les personnes sévèrement affectées et dont les mutations induisent un mauvais repliement des protéines, il existe un espoir que les médicaments réduisant l'activation de la réponse pour protéine non repliée puissent réduire la quantité d'oligodendrocytes altérés et permettre plus de synthèse de myéline. Ces personnes gravement atteintes, qui ont généralement très peu d'oligodendrocytes sains, pourraient être les meilleurs candidats pour la transplantation de cellules souches (ou idéalement de précurseur d'oligodendrocyte). L'obstacle principal de ce type de thérapie cellulaire est probablement la livraison de cellules en quantité suffisante aux différentes zones du système nerveux adéquates sans causer de dommages.

De façon surprenante, de la myéline est produite chez les personnes avec des mutations nulles et les symptômes neurologiques observés ne sont pas aussi graves que ceux dans la plupart des malades PMD. Puisque les oligodendrocytes ne dégèrent pas chez les personnes avec des mutations nulles, la thérapie par greffe de cellules n'est pas susceptible d'être efficace. La thérapie génique, par contre, pourrait être efficace pour apporter un gène *PLP1* normal (mais pas trop !). Les malades avec la mutation nulle tendent à se détériorer plus rapidement au début de l'adolescence. Nous pensons que la raison principale de cette détérioration est la dégénérescence des fibres nerveuses. Les thérapies pour ralentir ou empêcher la dégénérescence axonale devraient être très utiles. Ces stratégies neuroprotectrices pourraient également être utiles pour d'autres maladies neurologiques. Certaines des thérapies candidates envisageables incluent des facteurs neurotrophiques, des protéines similaires à des hormones qui sont importantes pour la santé des neurones.

Gestion pratique de la PMD

Actuellement, le traitement de la PMD est un traitement symptomatique de soutien. Il peut inclure des médicaments contre la rigidité ou la spasticité que la plupart des patients PMD montrent. Les médicaments incluent le baclofène, le diazépam, la tizanidine et la toxine botulique. Les malades PMD ont parfois des convulsions ou des épisodes apparentés à des convulsions qui peuvent répondre aux antiépileptiques tels que l'acide valproïque, le carbamazépine ou le phénytoïne. La rééducation fonctionnelle peut être utile pour le maintien de la flexibilité des articulations et maximise les capacités du malade. Les béquilles ou les déambulateurs peuvent permettre à un enfant de marcher. Si la parole ou la déglutition est altérée, un orthophoniste devrait pouvoir fournir des conseils importants. Quand la déglutition est sévèrement affectée, un tube d'alimentation inséré directement dans l'estomac

peut être adéquat pour apporter plus de nourriture que par une alimentation orale. La chirurgie orthopédique peut aider à réduire les contractures ou les articulations bloquées qui peuvent résulter de la spasticité. Les malades ayant pratiquement tous un calcium bas au niveau osseux, on préconise de prendre de la vitamine D et du calcium. Le biphosphonate peut également être utile. Un médecin de rééducation fonctionnelle sera plus compétent pour l'évaluation des besoins d'un enfant et pour la coordination des différents thérapeutes. Un pédiatre devrait également évaluer les capacités de l'enfant et apporter une aide dans la conception d'un programme éducatif afin de maximiser l'apprentissage et le potentiel de cet enfant. Il est important lors de ces évaluations développementales d'évaluer le temps additionnel dont un enfant PMD a besoin pour intégrer des informations ainsi que ses limitations motrices. Des évaluations développementales périodiques devraient être faites pour surveiller le progrès de chaque enfant.

Quelques liens internet pouvant être utiles

- www.emedicine.com/neuro/topic520.htm (un article sur le diagnostic clinique général et la gestion de la PMD)
- www.geneclinics.org/profiles/pmd (discussion technique de la génétique de la PMD)
- www.med.wayne.edu/neurology/clin_programs/Labs/PMD/pmd.html (information générale sur la PMD)
- www.pmdfoundation.org/ (Groupe d'aide américain PMD)
- www.reproductivegenetics.com (pour des descriptions du diagnostic prénatal et préimplantatoire)
- groups.yahoo.com/group/PMDfamilysupport/join (Chat du groupe d'entraide des familles américaines PMD)

Les défauts mitochondriaux dans la maladie de Pelizaeus-Merzbacher : thérapies potentielles

Pr. Robert Skoff (USA)

Les patients atteints de la maladie de Pelizaeus-Merzbacher (PMD) présentent souvent une ataxie, une spasticité et un retard mental. La PMD, maladie génétique, est due aux mutations de la protéine appelée protéine protéolipide ou *PLP* qui constitue la plus grande quantité de protéine dans la myéline. La forme la plus commune de PMD est caractérisée par la présence de copies surnuméraires du gène *PLP*. La myéline, isolant des nerfs, est nécessaire pour la transmission rapide et efficace d'information d'un neurone à un autre. Son absence ou sa détérioration est liée à une grande majorité des handicaps observés chez les patients PMD. Notre laboratoire s'est intéressé à l'étude des souris (1) ayant des copies en excès du gène *PLP* (souris *PLPtg*) et (2) les souris mutantes de type *jimpy* dont le gène *PLP* comporte une seule mutation ponctuelle. Ces souris montrent une spasticité, des tremblements, une ataxie, des convulsions et meurent généralement à un jeune âge. Bien qu'à première vue les mêmes événements biologiques semblent se produire au niveau cellulaire dans ces deux types de souris mutantes, des événements cellulaires très différents prennent en fait place. Pour la première fois, l'équipe du Pr. Skoff a montré que les souris *PLPtg* possèdent des défauts majeurs dans leurs



Pr. Robert Skoff

mitochondries, les compartiments cellulaires fabriquant l'adénosine triphosphate ou ATP, l'énergie de la cellule. Les souris *PLPtg* voient leurs niveaux d'ATP réduits de presque 50% par rapport aux niveaux normaux ; en revanche, les souris *jimpy* ont des niveaux normaux d'ATP. Les niveaux réduits d'ATP chez ces souris non seulement affectent les cellules de la myéline du système nerveux central mais également les neurones. On a également constaté qu'un autre type de cellule dans le système nerveux central, la cellule microgliale, est activée chez les souris *PLPtg*. Cette découverte est extrêmement importante car ces cellules fabriquent habituellement des protéines malsaines appelées les cytokines qui causent souvent des lésions et entraînent la mort des neurones. Ces souris *PLPtg* fabriquent quelques-unes des cytokines malsaines. Ces données majeures dévoilent un autre niveau de complexité dans les mécanismes de la maladie. Le traitement de ces souris (et des humains) exigera peut-être également des thérapies réduisant la réponse microgliale. Ces informations biologiques de base essentielles permettront d'évaluer différentes stratégies thérapeutiques tout d'abord chez la souris puis, probablement, pour une application chez l'homme. La discussion portera sur des médicaments, régimes alimentaires et traitements qui pourraient être donnés à ces souris mutantes et sur les raisons de ces choix.

Maladie de Refsum

La Maladie de Refsum Adulte : Gestion de la maladie et développements récents

Claire Harley (Royaume-Uni)

La maladie de Refsum Adulte est une maladie extrêmement rare du métabolisme des lipides. Elle est caractérisée par l'accumulation de l'acide phytanique dans le plasma et les tissus en raison d'une oxydation défectueuse. Le traitement à long terme de la maladie est un régime faible en acide phytanique.

Jusqu'à récemment, seules des études de cas isolés testant l'efficacité de ce traitement diététique ont été rapportées mais aucune étude à long terme évaluant l'impact du régime dans la progression de la maladie n'a été réalisée.

Un examen rétrospectif des cas de patients avec une maladie de Refsum Adulte confirmée ayant été suivis pendant au moins 10 ans à la clinique du Refsum a été effectué.

Les recommandations diététiques ont été les suivantes :

1. Éviter les aliments riches en acide phytanique
Éviter la viande des ruminants (vaches, moutons, chèvres), des lapins, des poissons et des mollusques et crustacés, les noix et les cacahuètes (peu de noix ont été analysées), les plats cuisinés avec du beurre ou d'autres produits laitiers riches en matières grasses ; utiliser des produits laitiers sans matières grasses ou des alternatives à base de soja ; remplacer les poissons avec des alternatives à base de soja.

2. Contrôle du poids

Chercher à maintenir un poids dans les limites de santé recommandées (Index de masse corporelle de 20-24.9kg/m²), gagner du poids initialement si celui-ci est insuffisant, éviter la perte rapide de poids en utilisant éventuellement des suppléments alimentaires pendant la maladie et les périodes de faible alimentation (par exemple Fresubin). La perte normale de poids doit être faible (environ 250 g par semaine).

3. Prendre des repas réguliers.

4. Avoir une prise modérée de caféine (pour un homme : 300-450 mg par jour et pour une femme : 200-350 mg par jour).

5. Manger 5 à 8 portions de fruits et légumes par jour, particulièrement ceux riches en lutéine et zéaxanthine (exemples : kiwis, raisins, oranges, courgettes, haricots, mangues)

Résultats : pendant la période de suivi, 2 des 13 patients ont atteint des niveaux indétectables d'acide phytanique. Aucun épisode de myopathie aiguë ou de neuropathie exigeant une plasmaphérèse (filtration et échange de plasma) n'a été rapporté. Les niveaux moyens d'acide phytanique ont été réduits de 1660 umol/l à 128 umol/l. 55% des patients ont atteints des niveaux d'acide phytanique inférieur à 300 umol/l. Les augmentations d'acide phytanique observées ont été généralement associées à des périodes de maladie aiguë ou de déviations dans le régime alimentaire, mais la tendance générale était à la diminution avec une baisse du taux d'acide phytanique à un niveau inférieur à 25% par rapport au niveau initial du malade.

En conclusion, un régime diététique soutenu conduit à une réduction du taux d'acide phytanique. Des niveaux indétectables d'acide phytanique peuvent être atteints avec le temps chez certains patients. Le respect du régime empêche la rechute clinique aiguë dans la maladie de Refsum Adulte.

Forum : Prévention, soin et accompagnement

Les centres de référence des leucodystrophies : quelles compétences ?

Pr. Odile Boespflug-Tanguy, Dr. Caroline Sevin, Marie-Claude Blondeau, Marie-Louise Vendeville (France)

Les centres de référence maladies rares sont des entités labellisées par le ministère de la Santé, mises en place dans le cadre du plan Maladies rares. Elles regroupent un ensemble de compétences pluridisciplinaires hospitalières organisées autour d'équipes médicales spécialisées pour un groupe de maladies rares.

Leur expertise est fondée sur :

- une mise en synergie de spécialités médicales multiples,
- une démarche diagnostique efficace,
- une orientation des soins,
- un suivi des malades et de leurs familles de meilleure qualité.

Ils ont pour mission de :

- faciliter les diagnostics,
- définir une stratégie de prise en charge thérapeutique, psychologique et d'accompagnement,
- définir et diffuser des protocoles,
- participer à des actions d'information et de formation pour les professionnels de santé, les malades et leurs familles.



Dr. Caroline Sevin



Marie-Louise Vendeville

Le Centre de Référence des Leucodystrophies possède 2 entités

- Le Centre de l'Hôpital St Vincent de Paul à l'Assistance Publique des Hôpitaux de PARIS, coordonné par le Pr. Patrick Aubourg (service de neuropédiatrie) qui est plus spécifiquement responsable des leucodystrophies avec marqueurs biochimiques (adrénoleucodystrophie, leucodystrophie métachromatique, maladie de Canavan, maladie de Krabbe...)
- Le Centre du CHU de Clermont-Ferrand, coordonné par le Pr. Odile Boespflug-Tanguy (service de génétique médicale) qui est plus spécifiquement responsable des leucodystrophies avec marqueurs génétiques (Maladie de Pelizaeus-Merzbacher et leucodystrophies hypomyélinisantes, syndrome CACH, leucodystrophie avec mégalencéphalie kystique (MLC), maladie d'Alexander et leucodystrophies cavitaires, syndrome d'Aicardi-Goutières et leucodystrophies vasculaires, lamine B et leucodystrophies dominantes).

Au sein du centre de référence du CHU de Clermont Ferrand

Un coordinateur paramédical a été mis en place afin de faciliter la prise en charge globale et continue des malades et des familles dont les missions sont :

- au sein du centre de référence
 - > d'assurer la liaison entre les différents professionnels (médecins, électrophysiologistes, techniciens de laboratoire, manipulateurs radios etc.) pour optimiser la prise en charge,
 - > d'assurer l'accompagnement des familles et des malades (soutien, information, éducation).
- à la suite des hospitalisations
 - > de faire le lien entre les propositions de la consultation (prise en charge, rééducation fonctionnelle, orientation scolaire, suivi médical) et les possibilités sur le terrain en travaillant avec les réseaux de prise en charge.

Les activités du coordinateur paramédical s'exercent principalement dans le centre de référence et consistent à :

- préparer la consultation pluridisciplinaire
 - > actualiser les informations relatives aux malades et à leurs familles pour répondre au mieux à leurs besoins

(histoire de la maladie avant les consultations, reprise du parcours médical, préparation du dossier et évaluation de la situation actuelle du handicap),
> programmer les consultations, l'hospitalisation en service de soins ou en hôpital de jour (faciliter la venue au centre de référence, dossier administratif, aide aux transports, hébergement de la famille accompagnante, voire hébergement extra-hospitalier).

- participer à la consultation et aux examens spécifiques
 - > présence à des moments-clés (accueil information),
 - > gestion – réalisation des prélèvements, bilans sanguins mais aussi examens tels que ponction lombaire, biopsies de muscles, nerf, peau, etc.
- assurer le suivi du patient au cours de sa prise en charge
 - > récupérer les résultats,
 - > suivi des actions mises en place,
 - > participation aux réunions de synthèse.
- gérer les problèmes spécifiques liés à la pathologie et au handicap
 - > informations sur les aides possibles au diagnostic et à l'évolution de la maladie,
 - > gestion des moyens à disposition ou à envisager,
 - > orientation – réponses aux demandes patients.

Mais le coordinateur se doit aussi d'être le lien entre la consultation spécialisée et les suivis en veillant que les informations ont été bien comprises (en particulier diagnostic, intervention à prévoir...) ; en s'assurant de la mise en œuvre des traitements préconisés (adéquation des informations, prescriptions et prise en charge réelle, coordonnées des différents professionnels), en identifiant les réseaux susceptibles de prendre en charge les malades et les familles. Le coordinateur paramédical se doit également de participer aux réunions nationales et d'assurer les liaisons lors des rencontres familles – associations en travaillant en partenariat

Au sein du centre de référence du CHU Saint-Vincent de Paul

L'ensemble de l'équipe de l'unité de neuropédiatrie (médecins, personnel soignant, assistante sociale, psychologues, secrétaires, etc.) est impliquée dans le diagnostic et la prise en charge des patients atteints de leucodystrophies (enfants mais aussi adultes pour certaines d'entre elles). Les tâches et les missions du centre de Saint-Vincent de Paul sont semblables à celles décrites pour le centre de Clermont-Ferrand.

L'équipe travaille en étroite collaboration avec différents spécialistes impliqués dans le suivi des patients (nutritionnistes, kinésithérapeutes et psychomotriciens, orthopédistes, médecins de la douleur...). Les objectifs sont le développement de protocoles cliniques et thérapeutiques innovants dans plusieurs leucodystrophies (adrénoleucodystrophie, leucodystrophie métachromatique, maladie de Canavan). Le centre de référence du CHU Saint-Vincent de Paul travaille en coordination avec le centre du Pr. Odile Boespflug-Tanguy, afin de mettre en commun leurs compétences pour favoriser le diagnostic souvent difficile et la prise en charge des patients.



Pr. Odile Boespflug-Tanguy

Faire face à la spasticité Pr. Odile Boespflug-Tanguy (France)

Le muscle est soumis à deux types de contrôles : un contrôle en longueur et un contrôle en tension. Lorsqu'une commande motrice arrive, il faut la contrôler. La voie motrice est la voie myélinisée. Dans les leucodystrophies, des problèmes dans la commande motrice existent. La spasticité représente une anomalie dans la régulation du mouvement.

À cause de la spasticité, des muscles vont tirer plus que d'autres et donc des déformations s'accroissent. Quand les déformations s'accroissent, elles évoluent du fait de la croissance de l'enfant et pas forcément du fait de l'évolution de la maladie d'où la nécessité d'une attention particulière.

Faut-il traiter la spasticité dans les leucodystrophies ?

Le premier traitement est un étirement passif. Le kinésithérapeute essaiera de tirer tout doucement le muscle et obligera le système à se détendre alors que le cerveau ne le désire pas. Ce traitement doit être entretenu en permanence.

Peut-on obliger le muscle à se détendre ?

Des molécules chimiques vont être libérées pour contracter ou inhiber le muscle. On peut favoriser l'excitation ou l'inhibition en utilisant des médicaments. La benzodiazépine (comme le valium) est utilisée pour inhiber l'information électrique anormale provenant des neurones excitateurs.

D'autres molécules existent pour améliorer à lutter contre les neurones fonctionnant anormalement. Le problème est que ce sont des médicaments oraux qui ne vont pas fonctionner sur le système nerveux central. Quand on augmente les doses de ces médicaments, on augmente les effets négatifs (exemple : effets digestifs, état flagada, mauvaise perception de l'environnement). Une autre technique consiste à installer dans le rachis une petite pompe pour délivrer le médicament comme le

baclofène qui pénètre mal dans le système nerveux central. Mais elles ne marchent pas pour tout le monde. Les médicaments comme le dantrium eux empêchent la contraction musculaire en inhibant le calcium. Ce médicament paralyse un peu et provoque des effets secondaires au niveau du foie.

L'injection de toxine botulique paralyse elle aussi le nerf. La toxine se fixe sur des endroits particuliers du muscle mais a un effet temporaire.

Pour choisir un traitement, il faut déterminer le bénéfice pour le patient, soulager la douleur (libérer le muscle) et favoriser une position.

Quelle doit être la fréquence de la prise en charge ?

L'idéal serait de faire des séances courtes mais fréquentes (tous les jours) d'étirements. La fréquence dépend aussi de l'état de l'enfant (s'il marche ou pas). Il faut faire attention à ne pas trop étirer.

Quand tout est contracté, aucun étirement n'est possible. Le kinésithérapeute va travailler sur les parties où il est encore possible d'agir et éviter la déformation.

L'étirement par attelles est-il recommandé ?

L'étirement par attelles maintient le membre dans une position obligatoire où la déformation n'est pas accentuée. Cela peut être douloureux et occasionner des fourmis. Ce type d'étirement doit être fait progressivement. Il faut trouver l'équilibre afin de maintenir l'étirement pendant longtemps mais aussi respecter la douleur et le confort de l'enfant.

Attention : On ne peut pas être parent et rééducateur, ce n'est pas souhaitable.

La verticalisation est-elle bénéfique ?

La verticalisation ne lutte pas contre la spasticité. Elle permet de positionner les hanches.

Que faire pour les contractures musculaires chez les femmes porteuses d'ALD ?

Les petites contractures du nerf peuvent être traitées avec des décontractants musculaires. Les muscles peuvent être également décontractés par balnéothérapie ou bains chauds.

Possibilité chirurgicale ?

Pour les spasticités sévères, il existe la rhizotomie où on coupe le nerf.

Comment trouver le bon kinésithérapeute ?

Il faut consulter le kinésithérapeute du centre de référence qui prendra contact avec le kinésithérapeute local pour lui expliquer ce qu'il faut faire. Le travail de proximité dépend de la bonne volonté du kinésithérapeute à vouloir se former. Il faut savoir que c'est normal si les douleurs persistent après les visites chez le kinésithérapeute.

L'intervention de Pilar Léger sur la vie de couple avec un enfant malade fera l'objet d'un dossier complet dans la revue ELA Infos 63 qui paraîtra en septembre 2008.

Lexique

- **AMM** : Autorisation de Mise sur le Marché.
- **Aplasia** : décrit la situation transitoire pendant laquelle la moelle osseuse ne produit plus aucune cellule sanguine et qui survient lorsque l'on fait une greffe de moelle osseuse.
- **Ataxie** : troubles de la coordination, maladroitness affectant l'équilibre et la marche, les mouvements des membres, des yeux et/ou l'élocution.
- **Attrition** : diminution des effectifs.
- **Aveugle** : une étude en aveugle est une étude où le malade ignore s'il reçoit le traitement ou le placebo. Dans une étude en double aveugle, le médecin et le patient ignorent quel est le traitement du malade.
- **Axone** : prolongement long, mince et cylindrique d'un neurone qui conduit les impulsions électriques. Les nerfs sont constitués de faisceaux d'axones.
- **Biais** : erreur dans la conception d'une étude, dans la sélection de données ou dans leur interprétation, etc. pouvant mener à des conclusions erronées.
- **Cellule souche** : cellule pouvant donner des cellules spécialisées et pouvant se renouveler indéfiniment.
- **Cognition/Cognitif** : faculté du cerveau de penser, de traiter et d'emmagasiner de l'information afin de résoudre certains problèmes.
- **Critères d'inclusion et d'exclusion** : chaque essai thérapeutique est accompagné d'un protocole définissant les types de patients pouvant (critères d'inclusion) ou ne pouvant pas y participer (critères d'exclusion).
- **Cytoplasme** : désigne le contenu d'une cellule vivante exception faite du noyau.
- **Épidémiologie** : étude des facteurs influant sur la santé et les maladies chez l'homme.
- **Ex-vivo** : cellules ou tissus vivants manipulés en dehors de l'organisme.
- **Faux sens** : une mutation faux sens est une mutation où l'acide aminé d'une protéine est remplacé par un mauvais acide aminé.
- **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.
- **Histologie/Histologique** : branche de la biologie qui étudie les tissus.
- **Homéostasie** : capacité à garder l'équilibre.
- **Innocuité** : caractère de ce qui est inoffensif.
- **In vivo** : qualifie un processus biologique observé dans un organisme vivant.
- **In vitro** : qualifie un processus biologique observé dans un tube à essai, en dehors de la cellule ou de l'organisme.
- **Leucocytes** : globules blancs.
- **Lysosome** : structure spécialisée de la cellule contenant de nombreuses enzymes et ayant pour fonction la dégradation des nutriments.
- **Macrophage** : cellule du système immunitaire.
- **Méta-analyse** : consiste à rassembler les données issues d'essais thérapeutiques comparables et à les réanalyser au moyen d'outils statistiques adéquats.
- **Métabolisme** : ensemble des transformations moléculaires et des transferts d'énergie se déroulant dans la cellule ou l'organisme vivant.
- **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.
- **Multicentrique** : étude menée dans plusieurs centres avec un même protocole.
- **Murin** : concerne les murinés (rats, souris...).
- **Mutagenicité** : caractère de ce qui induit des mutations.
- **Oligodendrocyte** : cellule non nerveuse du système nerveux central fabriquant de la myéline.
- **Pleurésie** : inflammation de la plèvre.
- **Randomisée** : étude pour laquelle la répartition des malades en groupes se fait au hasard (par tirage au sort).
- **Rétroviral/Lentiviral** : types de virus avec une grande efficacité pour délivrer des gènes aux cellules.
- **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.
- **Stress oxydatif** : déséquilibre dû à la production de radicaux libres oxygénés agressant les constituants de la cellule.
- **Surrénale** : glande située au-dessus des reins principalement responsable de la gestion des situations de stress via la synthèse d'hormones comme le cortisol et l'adrénaline.
- **Téatogénicité** : caractère de ce qui provoque des malformations congénitales.
- **Transduction / Transduit** : transfert d'ADN par un vecteur viral.

sauvons sauvons sauvons sauvons sauvons
sauvons sauvons sauvons sauvons sauvons
sauvons sauvons sauvons sauvons sauvons
sauvons sauvons sauvons sauvons sauvons
sauvons sauvons sauvons sauvons sauvons

Sauvons les enfants !

Il existe enfin un espoir de traitement contre les leucodystrophies :

Zinédine Zidane, Florent Pagny et tous les parrains d'ELA se mobilisent.

Des enfants peuvent être sauvés ! Nous avons besoin de vous tous.

Il y a urgence !



Association Européenne contre les Leucodystrophies
BP 61024 · 54521 LAXOU CEDEX • Tél. : 39 45 (0,34€ TTC minute)
CCP SAUVONS LES ENFANTS : CCP 71 8008 W Nancy

Toutes les explications : www.ela-asso.com