

supplément

n° 58

ela infos

revue trimestrielle de l'Association Européenne
contre les Leucodystrophies

ELA est reconnue d'utilité publique par Décret du 13/11/1996



Spécial
Colloque
Familles ELA
Chercheurs



juin 2007

1^{er} colloque Familles ELA Chercheurs



ELA a réuni des chercheurs internationaux et ses familles les 24 et 25 mars à Paris

Durant deux journées, les médecins et les chercheurs, spécialistes des leucodystrophies et des maladies de la myéline, ont rencontré les familles confrontées à la maladie et ont fait le point sur les résultats de leurs travaux et les projets financés par ELA. Les différents types de leucodystrophies, les thérapies envisagées et l'accompagnement des malades ont été au cœur de ce colloque.



Leucodystrophies : Quels progrès scientifiques ?



Nouvelles leucodystrophies et Techniques d'imagerie

Orateurs : Pr. Odile Boespflug-Tanguy (France), Pr. Enrico Bertini (Italie), Pr. Jean-Pierre Renou (France), Dr. Catherine Vaurs-Barrière (France).

La classification des leucodystrophies était basée, il y a encore peu de temps, sur l'aspect de la substance blanche à l'analyse neuropathologique du cerveau le plus souvent en post mortem lors d'autopsie. Les nouvelles techniques d'imagerie du cerveau comme l'IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) permettent de faire l'analyse de la substance blanche sur une personne vivante. Grâce à cette technique utilisée en routine dans les hôpitaux, il est possible de suivre l'apparition de la myéline et l'évolution de la myélinisation. L'IRM permet non seulement de faire le diagnostic de leucodystrophies mais également d'appréhender leur cause. Le syndrome CACH, la maladie d'Alexander et de Pelizaeus-Merzbacher ont des aspects IRM très différents.

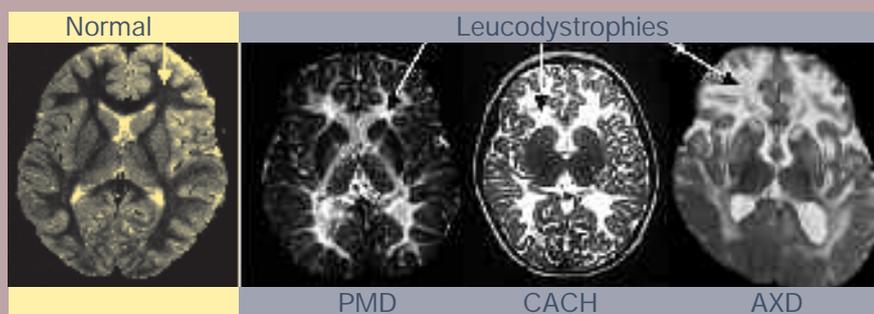


Pr. Odile Boespflug-Tanguy

Dans les leucodystrophies de cause indéterminée, l'IRM contribue à la classification des patients en sous-groupe. L'individualisation de groupes les plus homogènes possibles de patients facilite la recherche des anomalies génétiques en cause. Après avoir collecté l'ADN des patients et de leur famille (parents, frères et sœurs sains), il faut procéder à l'analyse des marqueurs du génome humain sur un grand nombre de familles afin d'identifier la région chromosomique en cause. Ensuite, il faudra rechercher dans cette région les gènes cibles, les séquencer et étudier leur fonction. Il est également très important de démontrer que l'anomalie génétique identifiée est

responsable de la maladie. Durant ces 5 dernières années, 18 gènes ont été identifiés à l'origine de 17 leucodystrophies. Souvent, plusieurs gènes sont impliqués dans une même maladie. Mais il est possible qu'un gène soit responsable de plusieurs maladies comme dans le cas de la maladie d'Alexander.

Outre son application diagnostique, certains types d'IRM peuvent aider à mieux comprendre le processus pathologique en cause. Les techniques d'IRM dites techniques de diffusion permettent par exemple d'évaluer et de quantifier la microstructure de la substance blanche, de déterminer la direction des axones et d'étudier les effets d'un traitement sur ces paramètres. Chez l'animal, la comparaison de l'évolution des paramètres reflétant la microstructure de la substance blanche chez une souris normale par rapport à une souris malade permet de suivre la dégradation des fibres à différents stades. L'IRM fonctionnelle permet d'identifier les neurones impliqués dans une action du cerveau comme par exemple le calcul mental. La spectroscopie renseigne aussi sur le métabolisme du cerveau.



La substance blanche (indiquée par une flèche) apparaît en noir chez un individu normal mais prend un aspect blanc en cas de leucodystrophies. Les anomalies observées sont cependant différentes entre un patient atteint de la maladie de Pelizaeus Merzbacher (PMD), d'un syndrome CACH (CACH) ou de la maladie d'Alexander (AXD). Les caractéristiques IRM de la substance blanche permettent ainsi de classer les leucodystrophies dans le but de rechercher l'anomalie génétique en cause.

Questions

- Existe-t-il des effets secondaires résultant de la pratique fréquente d'IRM ? Non. Les rayons X sont plus dangereux. L'IRM est la technique la moins invasive.
- Quelle est l'origine génétique de la variabilité observée au cours de l'ALD ? La variabilité d'une maladie s'explique par le fait que le génome peut moduler, voire compenser une même anomalie génétique. Les facteurs environnementaux participent également à cette variabilité.
- La fiabilité des différentes machines à IRM varie-t-elle selon les hôpitaux et les opérateurs ? Toutes les machines d'IRM n'ont pas les mêmes possibilités. Le plus important c'est que l'acquisition et surtout l'analyse des données soient faites correctement.
- L'augmentation du champ magnétique des machines à IRM permet-elle des résultats plus pointus ? Oui, cela donne une image plus fine.

Les thérapies géniques et pharmacologiques

Orateur : Pr. Patrick Aubourg (France).

Dans les leucodystrophies, la thérapie génique vise à introduire une copie du gène normal dans les cellules qui participent à la formation et au maintien de la myéline. Cette approche est devenue réalité avec le début d'un premier essai dans l'adrénoleucodystrophie.

Comment y est-on arrivé ?

Les progrès scientifiques des dernières années dans le domaine de la génétique, de la biologie, de la virologie, des biotechnologies et aussi au niveau médical ont permis de résoudre tout un ensemble de problèmes permettant aujourd'hui que cette nouvelle approche thérapeutique soit devenue une réalité pour les patients.

Les progrès en génétique humaine ont permis d'identifier les uns après les autres les gènes qui sont défectueux dans les leucodystrophies. Cette étape est cruciale, car une fois le gène identifié, cela permet d'étudier quelle protéine le gène fabrique, et

par voie de conséquence cela permet de déterminer s'il est envisageable de fabriquer cette protéine pour l'utiliser directement à des fins thérapeutiques. On sait fabriquer les protéines dans les cellules par génie génétique, mais beaucoup d'entre elles sont localisées dans la membrane des cellules ou dans des compartiments de la cellule rendant impossible leur production à des fins thérapeutiques. La possibilité d'utiliser l'injection de protéine ou d'enzyme à des fins thérapeutiques est limitée essentiellement aux leucodystrophies qui sont dues au déficit d'une enzyme lysosomale (leucodystrophie de Krabbe, leucodystrophie métachromatique). Même dans cette situation cependant, l'efficacité d'une thérapie par injection de protéine (ou d'enzyme) se heurte au fait que ces protéines ne peuvent pas pénétrer dans le cerveau à cause de l'existence d'une barrière infranchissable entre le sang et le cerveau lui-même.

Les progrès en virologie ont permis de faire un grand bond en thérapie génique. En effet le moyen le plus efficace pour introduire du matériel génétique dans une cellule reste un virus. C'est en particulier les travaux réalisés dans le domaine du SIDA comme celui d'un virus (virus adéno-associé) qui donne habituellement et seulement une petite infection à type de rhinite qui ont permis de concevoir de nouveaux vecteurs "médicaments" capables de transférer chez l'homme et sans risque un gène "médicament". En pratique, on part du virus initial, en ne modifiant rien de ses capacités à pouvoir pénétrer dans une cellule et à y apporter du matériel génétique, mais on le modifie de telle sorte qu'une fois dans la cellule (et ce contrairement au virus sauvage), ce virus-



Pr. Patrick Aubourg



médicament soit incapable de se reproduire et donc d'être délétère pour l'homme. Même pour le virus du SIDA, on y est arrivé même si cela a pris un certain temps.

Thérapie génique, oui, mais pour quelles leucodystrophies ?

Il existe un premier groupe de leucodystrophies pour lesquelles l'approche de thérapie génique repose sur l'autogreffe de *cellules souches hématopoïétiques* que l'on a préalablement corrigées en y introduisant une version normale du gène. Cette approche est limitée aux leucodystrophies pour lesquelles la greffe de moelle osseuse classique a un effet clinique.

Avant tout

l'adrénoleucodystrophie liée à l'X, mais également la leucodystrophie métachromatique et la maladie de Krabbe. Dans ce domaine, la thérapie génique de cellules souches hématopoïétiques est devenue réalité dans l'adrénoleucodystrophie (deux patients ont déjà été traités) ; pour la leucodystrophie métachromatique, l'essai est à un stade de développement pour entrer en phase clinique probablement d'ici un ou deux ans. Pour la maladie de Krabbe, on en est toujours à faire la preuve du concept d'efficacité dans un modèle de souris de cette maladie.

Une autre approche de thérapie génique consiste à introduire directement le gène "médicament" dans le cerveau ; pour le moment cette approche est surtout limitée aux leucodystrophies qui sont dues au déficit d'une protéine qui peut être sécrétée (c'est-à-dire sortir des cellules qui la produisent et être recaptée par d'autres cellules qui ne la produisent pas). Un premier essai a eu lieu dans la leucodystrophie de Canavan. Dans la leucodystrophie métachromatique, après avoir la preuve de l'efficacité du concept

chez une souris malade, on en est à un stade de développement, avec la possibilité d'envisager un essai clinique d'ici deux ans, une fois que l'on aura obtenu toutes les autorisations requises. Pour la maladie de Krabbe, on en est toujours à la démonstration d'une preuve d'efficacité chez la souris tout en sachant qu'un traitement combiné (injection intra-cérébrale plus injection de cellules souches hématopoïétiques génétiquement corrigées) semble avoir plus d'efficacité que le transfert intra-cérébral du gène seul ou la greffe de cellules souches hématopoïétiques corrigées seule.

D'autres approches combinées de thérapie cellulaire et génique ont été évaluées dans un modèle de souris de leucodystrophie métachromatique. En particulier, l'injection intracérébrale de cellules souches embryonnaires ou l'injection intracérébrale de *progéniteurs d'oligodendrocytes* génétiquement modifiés pour faire exprimer l'enzyme. Ce type d'approche pourrait sur le plan théorique s'appliquer à beaucoup de leucodystrophies. Il se heurte cependant à un problème pratique aujourd'hui : l'obtention en nombre et qualité suffisante de cellules souches embryonnaires humaines ou de progéniteurs d'oligodendrocytes humains. Si ces problèmes sont quasiment résolus chez la souris, il y a encore pas mal de progrès à faire pour envisager leur utilisation chez l'homme.

Les progrès en biologie ont permis également d'envisager une forme de thérapie génique dans certaines leucodystrophies, là où l'on pensait que c'était encore impossible il n'y a même pas trois – quatre ans. Entre le gène et la protéine il y a un intermédiaire que l'on appelle ARN (Acide RiboNucléique). Parmi la famille des ARN, outre ceux qui fabriquent les protéines, on a découvert qu'il existait aussi des ARN impliqués dans le développement (micro-

ARN) et des ARN (appelés siRNA) dont le rôle est d'inhiber la fonction des autres ARN. Dans les leucodystrophies comme la maladie d'Alexander ou la maladie de Pelizaeus-Merzbacher, introduire une version (une copie) normale du gène dans les *astrocytes* ou les oligodendrocytes ne servirait à rien, car dans ces deux leucodystrophies les mutations du gène GFAP ou PLP entraînent en fait la formation d'une protéine qui a une fonction anormale et toxique pour la cellule. Il faut donc avoir recours à une stratégie permettant d'empêcher la fabrication de cette protéine dans les cellules gliales du cerveau. Ceci est possible avec ces petits ARN appelés siRNA. Cette approche est en train d'être testée et validée chez la souris, aussi bien pour la maladie d'Alexander que pour la maladie de Pelizaeus-Merzbacher.

Une approche pharmacologique ciblée : qu'est-ce qui est possible aujourd'hui ?

Dans certaines leucodystrophies, et c'est en particulier le cas pour le syndrome CACH, la protéine enzymatique garde encore une activité résiduelle importante. Dans le syndrome CACH, l'enzyme mature est formée de cinq sous-unités. C'est une de ces cinq sous-unités qui est déficiente, les quatre autres ayant une fonction normale. Ceci explique que l'enzyme mature garde encore une activité résiduelle importante. On peut envisager d'essayer de trouver des molécules (des médicaments) qui puissent augmenter cette activité résiduelle. Grâce aux techniques de criblage à haut-débit permettant de tester des centaines et des centaines de molécules-médicaments à la fois, cette approche est en train d'être testée dans le syndrome CACH.

Thérapie cellulaire, thérapie génique, l'approche pharmacologique : un long chemin...

Pour chaque type de leucodystrophie, le temps qui sépare "l'idée" de tel ou tel traitement à la preuve de concept d'efficacité chez l'animal est de plus en plus court.

Cependant une fois cette preuve de concept d'efficacité faite, chaque essai rentre dans une phase de développement avant le démarrage véritable de l'essai. Cette phase de développement nécessite de trouver :

- un partenaire industriel qui sache produire les cellules "médicaments", le vecteur "médicament" de thérapie génique ou la molécule pharmacologique,
- d'obtenir les accords des agences nationales et internationales de santé, du comité d'Éthique dans le pays où se déroulera l'essai.

Trouver les financements est essentiel pour chaque nouvel essai ; non seulement pour les études préalables visant à démontrer l'innocuité (l'absence d'effets indésirables) du nouveau traitement, mais aussi pour pouvoir couvrir les coûts de la production du "médicament" (vecteur, cellule, molécule), les surcoûts liés à la mise en œuvre de l'essai clinique lui-même, et l'assurance des patients. À titre d'exemple, le traitement de cinq patients avec un vecteur médicament coûte environ trois millions d'euros.

Mais toutes ces nouvelles approches ne sont pas lointaines et hypothétiques. Elles ont commencé à rentrer en phase d'essai clinique chez les patients atteints de leucodystrophie.

Cellules souches et remyélinisation

Orateurs : Pr. Monique Dubois-Dalcq (France), Dr. Annick Baron (France), Salvador Martinez (Espagne).



Dr. Annick Baron

L'intérêt des cellules souches réside dans le fait qu'elles sont capables de se diviser et de donner des cellules plus différenciées qui forment les différents tissus de l'organisme. Il existe des cellules multipotentes comme les cellules souches embryonnaires qui potentiellement peuvent donner l'ensemble des types cellulaires des différents tissus, et des cellules pluripotentes qui sont spécifiques d'un tissu donné comme les cellules souches neurales qui se différencient en cellules du système nerveux comme les neurones, astrocytes et oligodendrocytes. Les cellules souches neurales peuvent être dérivées à partir du cerveau fœtal ou adulte. Elles peuvent être amplifiées de façon efficace en évitant leur différenciation en les maintenant en suspension dans un milieu de culture. C'est la technologie des "neurosphères". Les neurosphères peuvent alors être greffées dans des modèles animaux de pathologies de la myéline, ce qui permet de vérifier leur capacité à former la

myéline et à restituer la fonction perdue.

Une équipe de chercheurs italiens a introduit des cellules souches neurales chez l'animal via la circulation sanguine. Les résultats ont montré que leur présence dans le cerveau s'accompagne d'une amélioration des signes cliniques résultant probablement de leur effet répressif sur le système immunitaire.

Chez l'homme, des difficultés apparaissent dès qu'il s'agit d'obtenir des oligodendrocytes à partir de souches neurales et embryonnaires. Afin de contourner cette difficulté, des chercheurs américains ont isolé des précurseurs d'oligodendrocytes, cellules immatures sources d'oligodendrocytes, les ont triés et transplantés dans le cerveau de souris pour qu'elles fabriquent de la myéline. Les cellules fœtales mettent beaucoup de temps à se différencier, mais migrent plus facilement que les cellules adultes. La multiplication des points de greffe donne lieu à une myélinisation très importante. La question actuelle est de savoir si la nouvelle myéline est fonctionnelle,



Pr. Monique Dubois-Dalcq



Atelier Pathologies

c'est-à-dire si elle se traduit par une amélioration motrice.

Les cellules souches embryonnaires peuvent dans certaines conditions se différencier en cellules du sang, nerveuses, musculaires, de la peau. Leur potentiel de prolifération est également très important et permet d'envisager la possibilité de les congeler dans le but d'une utilisation différée. Néanmoins la difficulté consiste à orienter de façon fiable les cellules souches embryonnaires vers une différenciation en cellule souche neurale qui fabriquera des précurseurs d'oligodendrocytes. De plus, après greffe, ces cellules devront s'intégrer, migrer et se différencier de manière stable afin de réparer l'absence ou la perte de myéline. Les questions à résoudre sont :

- Quelle quantité de cellules sera nécessaire pour recoloniser un cerveau humain ?
- Ces cellules pourront-elles corriger des déficits enzymatiques et fonctionnels chez l'homme ?
- Pourront-elles et dans quel délai, être utilisées à des fins thérapeutiques ?

Des cellules souches sont également présentes chez les personnes adultes et sont capables de régénérer les tissus abîmés de façon naturelle. Elles sont présentes dans la moelle osseuse et le système nerveux central. Dans le cerveau, elles sont localisées dans des régions discrètes de l'encéphale comme les parois des ventricules latéraux. L'équipe du Dr Baron-Van Evercooren a démontré que ces cellules peuvent donner des nouveaux oligodendrocytes chez la souris et chez l'homme. Le problème est de savoir comment les prélever et comment les faire multiplier ? Dans la moelle osseuse, le prélèvement se fait par aspiration et est plus facile. Il existe deux types de cellules :

- Les cellules souches très primitives (cellules stromales de la moelle) qui se multiplient très vite. Des essais cliniques en cours dans des maladies neurologiques permettent une amélioration après la greffe.
- Les cellules hématopoïétiques sont capables de coloniser le cerveau et de produire d'autres types de cellules, par exemple des cellules remyélinisantes.

Atelier ALD/AMN

Thérapie génique - Dr. Nathalie Cartier- Lacave (France)

La répartition ALD (formes cérébrales de l'enfant)/AMN observée en France est de 45% d'ALD et de 55% d'AMN. Cependant, 35% des patients atteints d'AMN peuvent développer une atteinte cérébrale (toujours avant l'âge de 40 ans). Au total, 65% des garçons ou hommes ALD développent une atteinte cérébrale. Les femmes conductrices ne développent jamais d'atteinte cérébrale. Depuis 1990, la greffe de moelle osseuse a été effectuée sur plus de 200 enfants atteints de forme cérébrale d'ALD. Plusieurs d'entre eux ont maintenant atteint l'âge adulte et se portent parfaitement bien. Malgré les progrès importants fait dans ce domaine médical, la greffe de moelle osseuse reste la greffe la plus difficile, puisque l'on greffe en fait un nouveau système immunitaire au patient. La greffe de moelle osseuse comporte chez l'enfant un risque de mortalité d'environ 20%, que ce soit par rejet du greffon (la greffe ne prend pas), de réaction de greffon contre l'hôte (les cellules du donneur "attaquent" les cellules du receveur) ou de reconstitution immunitaire médiocre avec ses complications infectieuses souvent fatales. Il faut par ailleurs pouvoir trouver très rapidement un donneur : dans l'ALD, en règle générale dans les trois mois qui suivent l'apparition des premières anomalies à l'IRM cérébrale. Même si depuis plusieurs années le nombre de donneurs et de sangs de cordon disponibles a considérablement

augmenté, on ne trouve pas toujours de donneur à temps : en pratique, dans l'ALD, une fois sur deux seulement. Ce risque est imprévisible, même à qualité identique des cellules du donneur.

L'alternative à la greffe de moelle osseuse est la thérapie génique utilisant les propres cellules souches hématopoïétiques du patient. Le principe revient à y introduire une version (une copie) normale du gène ALD et les réinjecter au patient.

De l'idée (dès 1993) au premier patient traité (2007), le parcours fut long:

- **1993** : Clonage du gène impliqué dans l'ALD
- **1993-1999** : Les cellules ALD sont corrigées en utilisant un premier vecteur médicament *rétroviral*. Les résultats sont décevants car on ne peut en fait corriger les véritables cellules souches hématopoïétiques. L'apparition de nouveaux vecteurs médicament *lentiviraux* conduit à la production d'un vecteur HIV-ALD seul capable de rentrer dans une cellule souche pour y introduire le gène médicament. Cette stratégie permet de corriger 50 à 60% des cellules souches de la moelle osseuse.
- **1999-2002** : La preuve de concept d'efficacité est démontrée en 2002
- **2002-2006** : 4 ans ont été nécessaires pour obtenir l'autorisation de démarrer l'essai thérapeutique avec toutes les étapes.
 - > 1) trouver une compagnie de biotechnologie qui sache produire le virus "médicament" pour un usage thérapeutique chez l'homme
 - > 2) trouver une compagnie de biotechnologie qui accepte de prendre le risque de le faire
 - > 3) valider que le virus

- “médicament” était sans danger pour une utilisation chez l’homme
- > 4) valider que les cellules souches de moelle osseuse corrigées avec ce virus “médicament” étaient sans danger
 - > 5) valider que tous les produits utilisés pour faire ce traitement étaient sans danger
 - > 6) obtenir l’accord d’un comité d’éthique
 - > 7) obtenir l’accord de l’Agence Française du Médicament (AFSSAPS)
 - > 8) enfin trouver les premiers financements pour faire les premiers essais.
- 2007 : L’essai a démarré chez 2 patients.

Suite aux travaux sur l’animal, il a fallu adapter le protocole à l’utilisation clinique et montrer en particulier l’absence de risques liés au virus médicament qui est dérivé du virus du SIDA.

L’objectif de ce premier essai dit de phase I-II est de montrer que le traitement n’est pas toxique. C’est le premier essai clinique de ce genre au monde.

Et maintenant ? Il faut continuer l’essai et produire de nouveaux lots de vecteur médicament pour traiter d’autres patients. Le problème est que peu de laboratoires peuvent le faire et que la production de vecteurs à grande échelle coûte très cher. Un lot de vecteur médicament pour traiter 2 patients coûte 450 000 euros.

Questions

- La thérapie génique est-elle envisageable pour l’AMN ?
C’est ce que l’on est en train de démontrer (preuve de concept d’efficacité) dans un modèle de souris qui développe des signes cliniques d’AMN.
- Quand pourrait démarrer cet essai ?
Il faudra au moins 3-4 ans pour obtenir toutes les autorisations

nécessaires. Le problème le plus important est de parvenir à trouver les 3 millions d’euros nécessaires au démarrage du premier essai clinique.

- Quand le traitement sera généralisé, pourra-t-on dépister la maladie ?
On peut en effet envisager que l’on pourra dépister l’ALD à la naissance chez tous les bébés et proposer ce traitement à titre préventif chez tous les patients. Mais avant cela, il faudra avoir suffisamment de recul chez les enfants et adultes traités par cette approche de thérapie génique.

La souris ALDKO comme moyen de développer des outils thérapeutiques - Dr. Aurora Pujol (Espagne)

L’adrénoleucodystrophie (ALD) est une maladie génétique liée au chromosome X qui peut débuter dans l’enfance (CCALD), l’adolescence ou l’âge adulte (AMN). Elle se caractérise par une démyélinisation du système nerveux central et une insuffisance *surrénalienne*. Dans ses formes cérébrales (les plus graves), la maladie débute entre 5 et 12 ans et évolue rapidement vers un état grabataire, puis la mort. Le défaut biochimique est un déficit de l’oxydation *peroxysomale* des acides gras à très longue chaîne (AGTLC) qui s’accumulent dans les tissus. Le gène muté dans la maladie a été cloné dans notre laboratoire (Mandel/Aubourg), et code une protéine (ALDP) de transport localisée dans la membrane des peroxysomes. Il a été montré que l’inactivation de ce gène (ou “KO”) chez la souris ne produit pas de symptômes similaires à la forme précoce (CCALD) mais à la forme adulte de la maladie humaine. En effet, en effectuant deux types de tests de comportements différents

(rotarod ou open-field), nous avons identifié des problèmes de coordination des membres inférieurs et une hypoactivité à partir de 15 mois. À 22 mois, plusieurs phénomènes apparaissent dans la moelle épinière de cette souris ALDKO comme une *astrocytose*, une *microgliose*, une dégénération de la myéline et un problème de dégénération *axonale*. Dans la moelle épinière, nous avons trouvé des lésions dues au *stress oxydatif* qui surviennent avant les premiers symptômes neurologiques (12 mois) ce qui pourrait être l’une des causes de la maladie. Ces lésions pourraient être utilisées comme marqueur de la maladie et comme cible thérapeutique. Une protéine très proche de ALDP, appelée ALDRP est également localisée dans la membrane du peroxysome. Nous avons démontré que la surexpression de cette protéine ALDRP chez les souris ALD KO permettait la prévention de la maladie. Donc, des produits qui augmentent la quantité d’ALDRP deviendraient des médicaments potentiels. En collaboration avec Patrick Aubourg, des patients X-ALD ont été traités avec de l’acide valproïque (calmant et anticonvulsivant) ; nous avons mesuré l’expression d’ALDRP et le taux des AGTLC ; les résultats sont en cours d’analyse. Nous avons aussi généré des souris *double KO* pour ALDP et ALDRP. Ces souris sont plus gravement et plus précocement atteintes, ce qui facilite leur utilisation pour étudier la physiopathologie de l’X-ALD et mesurer l’efficacité des traitements potentiels. Notamment, Nathalie Cartier utilise nos souris DKO afin de mesurer l’efficacité d’une greffe *allogénique*. Un résultat positif ouvrira la possibilité d’utiliser chez les patients AMN l’*allogreffe* de moelle osseuse. Pour étudier la physiopathologie de l’X-ALD, nous avons utilisé des nouvelles technologies



comme les puces d'ADN, car elles permettent d'analyser l'expression de l'ensemble des gènes d'un tissu. Nous avons identifié plusieurs voies dérégulées sur lesquelles nous focalisons nos efforts actuellement.

La synthèse des AGTLC est augmentée dans l'ALD : quelles conséquences - Dr. Stephan Kemp (Pays-Bas)

La conséquence de la mutation du gène ALD est une accumulation d'acides gras à longue chaîne (AGTLC) qui ne peuvent être dégradés.

Il existe plusieurs sortes d'acides gras :

- A chaîne courte (avec 2 à 4 atomes de carbone)
- A chaîne moyenne
- A chaîne longue
- A chaîne très longue ou AGTLC (avec plus de 24 atomes de carbone)

Dans la catégorie des AGTLC, on trouve des acides gras saturés, monoinsaturés ou polyinsaturés comme les oméga 3 et les oméga 6. Les AGTLC saturés et monoinsaturés sont utilisés à titre diagnostique dans l'ALD.

D'où proviennent-ils ? Le régime alimentaire en apporte très peu. Il n'existe donc pas de lien entre un régime alimentaire et le taux d'AGTLC. Les AGTLC sont synthétisés par le corps à partir d'autres acides gras.

Dans une cellule, les acides gras sont présents dans le *cytoplasme* de la cellule. Leur dégradation s'effectue dans les peroxysomes et les *mitochondries*. Dans l'ALD, les acides gras ne sont plus dégradés au niveau du peroxysome car la protéine ALD a disparu à cause d'une

mutation génétique.

La myéline est un composant qui se reproduit régulièrement. L'excès de myéline est dirigé vers les oligodendrocytes, cellules qui dégradent les AGTLC. Quand trop d'AGTLC s'accumulent, il y a saturation, la myéline est détruite et l'axone peut être endommagé à long terme.

Afin de limiter l'accumulation de ces acides gras, les travaux de recherche étudient la synthèse des acides gras et des facteurs permettant de la réduire.

Normaliser les AGTLC dans le sang avec un régime pauvre en cholestérol et les statines - Dr. Marc Engelen (Pays-Bas)

La lovastatine est un médicament de la famille des statines inhibant la synthèse du cholestérol au niveau du foie et pouvant réduire l'accumulation des AGTLC.

Des études ont montré que la prise de lovastatine accompagnée d'un régime alimentaire permettait de réduire le cholestérol de 50 à 60 %.

L'efficacité de ce traitement anti-cholestérol a été mise en évidence il y a maintenant 10 ans. Mais cette réduction du cholestérol s'effectue seulement au niveau sanguin et pas au niveau cellulaire.

Des travaux de recherche en Autriche (Pr. Johannes Berger) ont montré que l'AGTLC C26 peut être diminué grâce à un traitement par statine (autre que la lovastatine). Au Pays-Bas, aucune diminution de l'AGTLC C26 n'a été constatée lors d'un essai thérapeutique réalisé sur 7 enfants traités avec une autre statine, la simvastatine, sans régime alimentaire particulier. De plus, l'équipe du Pr. Aubourg a traité des souris avec de la simvastatine et de la

pravastatine et a observé au contraire que ce traitement entraînait une accumulation des AGTLC dans le cerveau des souris ALD. Que faut-il faire, traiter avec de la lovastatine ou pas ? Un essai clinique associant 40 mg de lovastatine à un régime faible en cholestérol a démarré aux Pays Bas. Quatorze hommes de plus de 18 ans avec une AMN ont été recrutés. Ils doivent se rendre 7 fois par an à l'hôpital pour faire vérifier le taux d'AGTLC et de cholestérol dans le plasma et les cellules sanguines. Pour le moment (6 mois après le démarrage de l'étude), aucun effet secondaire n'a été observé. Les résultats sont en cours d'analyse mais il apparaît déjà que le taux de cholestérol diminue de 6 à 7% au bout de 2 à 3 mois.

Atelier MLD/Krabbe

MLD

Description de la maladie et Génétique Dr. Caroline Sevin (France)

La leucodystrophie métachromatique (MLD) est une maladie *autosomique récessive*. Sa fréquence est relativement élevée : 1 cas pour 40 000 naissances en France, toutes formes confondues. La MLD est causée par un déficit



Dr. Caroline Sevin

d'une enzyme appelée arylsulfatase A (ARSA). Cette enzyme est dans un compartiment de la cellule appelé "lysosome" et est responsable de la dégradation d'un composant lipidique important de la myéline appelé "sulfatide". Le déficit en ARSA conduit à une accumulation de sulfatides, une démyélinisation du système nerveux central (cerveau et moelle épinière) et périphérique (les nerfs des jambes et des bras).

Les signes cliniques :

Il existe 3 formes cliniques de la maladie selon l'âge de début des premiers symptômes :

- Forme infantile (début entre 1 et 3 ans) :
 - > Avant tout par des signes moteurs : troubles de la marche, de la station debout, pour se déplacer
 - > Aggravation très rapide des signes neurologiques et perte de toutes les fonctions motrices et intellectuelles
- Forme juvénile (début entre 4 et 12 ans) :
 - > Évolution plus progressive au début avec des signes moteurs, des difficultés intellectuelles ; la maladie évolue d'autant plus vite qu'elle débute tôt avec à moyen terme (2-4 ans) la même évolution que dans les formes dites infantiles.
- Forme adulte (début après 12 ans) :
 - > Une fois sur deux, présence de signes psychiatriques, détérioration mentale progressive (changement de personnalité, chute de performance professionnelle, évoluant vers une démence). Peut aussi se révéler par une *paraparésie* spastique, des troubles de l'équilibre rapidement suivis cependant par une détérioration des fonctions intellectuelles.

Le diagnostic de MLD, suspecté

sur des signes cliniques évocateurs, une diminution des vitesses de conduction nerveuse des nerfs périphériques (surtout dans les formes "infantiles") et la présence d'une démyélinisation à l'IRM cérébrale, est confirmé par le dosage de l'activité ARSA (effondrée) dans les globules blancs ou les fibroblastes et la présence d'une excrétion urinaire de sulfatides.

La prise en charge non spécifique :

- Lutte contre la raideur et la douleur liées à la *spasticité*, contre l'épilepsie (survenant dans 25 % de la forme infantile et 50 % des formes juvéniles), les troubles alimentaires et de la déglutition (responsables de fausses routes et de troubles respiratoires)
- Multidisciplinarité des interventions : kinésithérapie, nutritionniste, ergothérapeute...

La seule possibilité pour stabiliser ou améliorer les formes juvéniles ou adultes de la maladie : la greffe allogénique de moelle osseuse. Ce traitement n'est pas efficace dans la forme infantile tardive de la maladie. La greffe de moelle osseuse est cependant totalement inefficace dans les formes infantiles.

Génétique :

Plus de 115 mutations du gène ARSA ont été identifiés à ce jour. Celles-ci se répartissent en 2 types :

- mutations conduisant à une activité enzymatique "nulle"
- mutations conduisant à une activité résiduelle de l'enzyme

Les enfants atteints de forme "infantile" ont le plus souvent 2 mutations "nulles", et il existe une relative corrélation entre la mutation retrouvée et les signes cliniques dans cette forme de MLD. Dans les formes juvénile et adulte, il existe le plus souvent

peu de corrélation entre les mutations retrouvées, l'activité résiduelle de l'enzyme et la sévérité de la maladie.

Le diagnostic anténatal est possible, mais il faut avoir bien caractérisé l'activité de l'ARSA et le type de mutation chez les parents avant, pour le proposer en toute fiabilité.

Les différentes étapes nécessaires au développement d'un "médicament" - Jens Fogh (Zymenex, Danemark)

Durée : 7 à 10 ans en moyenne avant que le médicament ait une autorisation de mise sur le marché (AMM), condition indispensable à sa large utilisation.

Les étapes de production d'une enzyme comme l'ARSA sont :

- 1- La production dans des conditions permettant son utilisation en clinique grâce à l'introduction de l'ADN codant pour le gène (ici l'ARSA) dans une cellule
- 2- Le développement de différents tests pour vérifier la pureté de l'enzyme
- 3- La production à grande échelle de l'enzyme / Identification et vérification de la pureté de l'enzyme (absence de contamination).
- 4- Déterminer chez l'animal la dose optimale tolérée et procéder à des études toxicologiques en injectant des doses d'enzyme supérieures à celles qui seront utilisées en clinique.
- 5- Soumettre un projet d'essai thérapeutique chez l'homme et obtenir l'accord des autorités sanitaires.
- 6- En moyenne, il faut 5 années de développement avant de pouvoir démarrer un essai de phase I visant uniquement à



- démontrer que le médicament est bien toléré par le patient
- 7- Une fois la tolérance démontrée, il faut démontrer que le traitement est efficace. Cette démonstration faite, une demande d'autorisation de mise sur le marché peut alors être déposée.

Les essais précliniques pour un traitement par substitution de l'enzyme déficiente - Dr. Ulrich Matzner (Allemagne)

Dans la MLD, l'approche d'enzymothérapie dite "substitutive" consiste à délivrer l'ARSA par voie systémique (injection dans une veine). L'enzyme circulante pourra alors être recaptée et internalisée par les tissus périphériques (foie, rate et nerf périphérique). Afin que le traitement soit efficace, l'enzyme injectée doit arriver dans les lysosomes de la cellule pour pouvoir dégrader les sulfatides s'y accumulant. Il est nécessaire de vérifier que l'enzyme produite a gardé toutes les propriétés pour le faire, et parfois même de le modifier pour augmenter ces propriétés. Chez la souris, après une injection intraveineuse, on constate une augmentation rapide de l'ARSA dans le plasma puis les tissus périphériques (près de 30% de l'enzyme injectée est retrouvée dans les organes comme le foie, le rein, le nerf) et une diminution significative et transitoire de la quantité de sulfatides dans ces tissus. Après des injections répétées, on constate une diminution significative de la surcharge dans les nerfs périphériques (jambes, bras), associée à une amélioration des vitesses de conduction nerveuses et des anomalies motrices chez les souris traitées. Bien que l'enzyme ne pénètre pas dans le cerveau et de

manière surprenante, on observe chez la souris une réduction de la quantité de sulfatides accumulés (de l'ordre de 13%). Des études sont en cours pour améliorer l'efficacité thérapeutique de l'ARSA recombinante (type de cellules productrices, modifications de la structure de l'enzyme).

Les objectifs des premiers essais d'enzymothérapie - Dr. Christine Dali/Jens Fogh (Zymenex, Danemark)

Après accord d'un comité d'Éthique et des autorités sanitaires danoises, un essai thérapeutique d'enzymothérapie dans la MLD, dont le promoteur est le Laboratoire Zymenex, a débuté en janvier 2007. Avant le démarrage de l'essai, un comité d'experts a déterminé *les critères d'inclusion et d'exclusion* pour les patients ainsi que les doses qui seront administrées. L'enfant traité recevra 50 unités d'enzyme/kg, puis 100 unités/kg. Si aucun effet néfaste n'est observé, la dose sera augmentée à 200 unités/kg.

Les critères d'inclusion et d'exclusion retenus pour ce premier essai de phase I sont les suivants :

- Le diagnostic d'une forme infantile de MLD doit être confirmé.
- Le diagnostic doit être récent et l'enfant doit avoir encore des fonctions motrices résiduelles significatives. Les enfants doivent avoir moins de 6 ans et être issus de pays européens.

Une douzaine de patients provenant de 6 pays différents ont été inclus et séparés en 3 *cohortes* pour être traités avec des doses d'enzyme différentes. Lors de cet essai thérapeutique, différents paramètres seront

mesurés comme la vitesse de conduction nerveuse.

D'ici les six prochains mois, l'observation des patients sera complétée par les examens suivants :

- IRM cérébral
- *Ponction lombaire*
- Tests fonctionnels et moteurs
- Tests *cognitifs*
- Tests des conditions de vie

Les premiers résultats de cet essai qui vise à déterminer la bonne tolérance à l'enzyme injecté sont attendus pour l'été 2007. Une deuxième étape de l'essai devrait débuter à l'été 2008. Celle-ci visera à démontrer que le traitement aura une efficacité.

Questions

- Pourquoi ne pas tester, si les parents sont d'accord, ce traitement sur des enfants plus atteints puisque de toute façon ils n'ont plus rien à perdre ?
Par souci éthique. Si des enfants sont sélectionnés sans tenir compte des critères d'inclusion et d'exclusion, l'essai thérapeutique peut être définitivement arrêté ce qui enlèverait tout espoir de guérison aux enfants atteints de MLD. De plus, l'arrêt d'un essai thérapeutique dans ces conditions placerait le laboratoire dans une grande difficulté financière, les essais thérapeutiques étant extrêmement coûteux.
- Y-a-t-il un groupe placebo dans l'essai thérapeutique ?
Non. Tous les patients reçoivent le traitement.

Thérapie génique reposant sur l'autogreffe de cellules de moelle osseuse - Dr. Alessandra Biffi (Italie)

Notre groupe a récemment montré qu'une approche basée sur la transplantation de cellules souches hématopoïétiques (CSH) génétiquement modifiées permettait de délivrer efficacement l'ARSA déficiente dans le système nerveux central et périphérique de la souris et de prévenir/corriger les anomalies motrices observées chez les souris MLD. L'efficacité de ce traitement dépend du niveau d'activité de l'ARSA dans les CSH. La faisabilité et la sécurité de cette approche ont récemment été démontrées sur des CSH humaines. Ces résultats encourageants conduisent à proposer un essai clinique utilisant la greffe de CSH modifiées pour traiter les patients atteints de MLD ; cet essai devrait débuter début 2008. Les critères d'inclusion et les éléments de suivi des patients ont été définis en fonction des résultats d'une étude de suivi sur 6 ans d'une large cohorte de patients MLD.

Thérapie génique reposant sur le transfert intra-cérébral du gène ARSA - Dr. Caroline Sevin (France)

Thérapie génique *in vivo*

- Principe de la thérapie : le gène de l'ARSA est délivré dans le cerveau via l'injection intracérébrale d'un vecteur viral (AAV).
- Avantages : Ce traitement a une action rapide, nécessaire du fait de la rapidité

d'évolution de la maladie. D'autre part, il permet de cibler spécifiquement des régions atteintes du cerveau.

- Résultats pré-cliniques L'étude chez la souris MLD a montré que l'injection intracérébrale du vecteur AAV/ARSA permet de restaurer une expression importante et diffuse de l'ARSA, et de prévenir la surcharge en sulfatides, les anomalies *histologiques* et les difficultés motrices jusqu'à l'âge de 18 mois.

Avant d'envisager un essai clinique chez les patients, une étude est en cours chez le gros animal (singe) pour vérifier qu'un nombre limité d'injections de vecteur permet une diffusion suffisante de l'ARSA dans un cerveau de plus gros volume, et n'entraîne pas de toxicité. Les résultats préliminaires montrent une diffusion importante de l'enzyme à partir des sites d'injection, une augmentation significative de l'activité ARSA dans l'hémisphère injecté, et l'absence de signe de toxicité. À la vue de ces résultats encourageants, une demande d'autorisation va être déposée à l'AFSSAPS pour le traitement de patients atteints de formes rapidement évolutives de MLD à un stade précoce de la maladie.

Questions

- Est-il possible d'envisager une double stratégie thérapeutique ?

À terme, on peut l'envisager, mais dans un premier temps, chaque forme de thérapie génique sera évaluée de manière isolée.



Pr. David Wenger (USA)

Krabbe

Description, génétique, approches thérapeutiques de la maladie de Krabbe - Pr. David Wenger (USA), Pr. Marie-Thérèse Vanier (France)

La maladie de Krabbe est une maladie héréditaire du métabolisme. La protéine impliquée est une enzyme lysosomiale intervenant dans le métabolisme du galactocérebroside, un des deux lipides majeurs constituant de la myéline (l'autre étant le sulfatide, impliqué dans la leucodystrophie métrachromatique). La fréquence de la maladie de Krabbe est de l'ordre de 1 / 100 000 naissances, aussi bien aux USA qu'en France. Chaque année, environ 40 patients sont diagnostiqués aux USA, pour 5 en France. Une majorité des patients (85-90%) présente une forme grave, débutant très tôt (vers 3-6 mois) et rapidement évolutive, mais il existe aussi des formes tardives, y compris des formes de l'adulte, dont certaines très peu symptomatiques.

La greffe de moelle a été proposée pour le traitement des formes tardives, mais cette



Atelier CACH, Alexander, MLC

Syndrome CACH - Dr. Anne Fogli (France)

Le syndrome CACH est une maladie héréditaire autosomique récessive c'est-à-dire que les deux parents sont porteurs d'une anomalie génétique. Les gènes en cause codent pour des sous-unités du facteur eIF2B qui intervient dans la synthèse des protéines surtout en cas de stress. Même si ce gène est muté dans toutes les cellules de l'organisme, la maladie affecte principalement le cerveau. Sur 78 patients avec une IRM positive évoquant un syndrome CACH, 68 patients soit 87% possèdent une mutation au niveau du facteur eIF2B. Cette mutation se traduit par une anomalie de la substance blanche qui est remplacée par de l'eau.

Plusieurs formes de sévérité du syndrome CACH existent selon l'âge du début de la maladie :

- <2 ans : Forme du nourrisson. La dégradation du patient est brutale et le décès survient en quelques mois.
- 2-5 ans : Troubles de la marche, atteintes cognitives. La dégradation vers un état



Dr. Anne Fogli

approche thérapeutique donne de mauvais résultats chez les patients avec la forme infantile classique greffés à 6 mois ou plus, donc déjà très symptomatiques. Un travail récent d'une équipe américaine (Université Duke en Caroline du Nord), publié en 2005, a par contre observé de bons résultats avec un recul de 2-3 ans chez des patients diagnostiqués avant leur naissance et ayant eu une greffe de sang de cordon ombilical avant l'âge de 2 mois, c'est-à-dire avant l'apparition des symptômes. Bien que le recul soit encore court, ces résultats ont suscité la mise en route à titre expérimental d'un dépistage néonatal systématique de la maladie de Krabbe pour tout l'état de New York. Le laboratoire du Pr. Wenger (Philadelphie) participe à ce dépistage pour confirmation et études complémentaires des cas suspects. Le test initial est effectué sur des tâches de sang sur papier buvard obtenues chez chaque nouveau-né, en parallèle avec le dépistage de la *phénylcétonurie*, etc. Un des problèmes est de ne pas laisser passer un patient sans toutefois avoir trop de prélèvements "suspects" car cela génère beaucoup d'angoisse dans les familles. Compte tenu des difficultés particulières du diagnostic biologique de cette maladie, ce n'est en pratique pas si simple. Les nouveau-nés "suspects" sont immédiatement reconvoqués pour un prélèvement de sang, et réétudiés dans la semaine par la méthode de référence (isolement de *leucocytes* à partir d'un prélèvement sanguin et étude enzymatique par le substrat naturel radioactif), Si nécessaire une étude de l'ADN est réalisée le plus rapidement possible. Cette dernière étude peut aider à confirmer le diagnostic (il existe des pièges d'enzymologie) et éventuellement à affiner le pronostic entre forme infantile ou forme adulte. En effet, si le

diagnostic de maladie de Krabbe infantile est confirmé, la recherche d'un donneur compatible doit être réalisée extrêmement vite (les banques de sang de cordon sont très précieuses à cet égard), et la procédure de greffe engagée immédiatement.

Cette procédure ne représente toutefois pas le traitement ultime de la maladie. Tout d'abord, il est peu probable que le dépistage néonatal de cette maladie puisse être généralisé, en tout cas pas pour l'instant, et il faudrait vraiment trouver une approche qui puisse être applicable à des enfants qui viennent d'être diagnostiqués du fait de leurs symptômes. Par ailleurs les enfants greffés gardent un handicap moteur, dont l'évolution à long terme n'est pas encore connue. En conséquence, d'autres voies thérapeutiques continuent à être explorées en parallèle, plus particulièrement la thérapie génique *ex vivo* et *in vivo*.

Actuellement, ces travaux ne concernent que les modèles animaux de la maladie, essentiellement chez la souris. Des résultats encourageants ont été observés en associant greffe de moelle et thérapie génique intracérébrale. Certains travaux suggèrent aussi un effet de la thérapie enzymatique substitutive par voie veineuse. Il est probable que plusieurs approches conjointes seront nécessaires. Par ailleurs, il est important d'améliorer notre connaissance de la maladie, en particulier de trouver des marqueurs fiables de prédiction de l'évolution (les mutations peuvent aider, mais il existe d'autres facteurs). Les modalités de traitement devront tenir compte de la forme clinique et du stade d'évolution de la maladie.

grabataire est progressive et aboutit généralement au décès au bout de 5-10 ans.

- >5 ans (adolescent, adulte) : Troubles du comportement et moteurs sont souvent révélateurs. La dégradation se fait de manière très lente et le décès est tardif.

Des phases d'aggravation ou de dégradation de la maladie sont déclenchées chez l'enfant comme chez l'adulte lors d'épisodes de stress (fièvres, traumatismes crâniens et infections). La répétition de ces stress peut accélérer la dégradation de la maladie.

Une corrélation entre la sévérité de la maladie et l'anomalie génétique a été établie.

Un diagnostic moléculaire visant à identifier l'anomalie génétique en cause est effectué en routine à Clermont-Ferrand dans le laboratoire de Biologie Moléculaire du Pr. Creveaux. Un conseil génétique et un diagnostic anténatal sont également disponibles.

La molécule eIF2B évite l'accumulation de protéines mal formées. En cas de stress, eIF2B ne fonctionne plus correctement



Pr. Enrico Bertini (Italie)

et les protéines mal formées s'accumulent.

Pour l'aide au diagnostic et au pronostic, deux stratégies sont considérées :

- La mesure de l'activité eIF2B sur les *lymphoblastes*,
- La recherche de biomarqueurs dans les fluides (plasma, urine, liquide céphalorachidien).

L'étude des mécanismes du stress cellulaire impliqué dans la dégradation cellulaire a permis d'identifier 5 molécules restaurant l'activité du facteur eIF2B (travaux en collaboration avec le Dr. Pavitt au Royaume-Uni).

MLC – Pr. Enrico Bertini (Italie)

Dans la leucodystrophie de type MLC (Leucoencéphalopathie mégaencéphalique avec *kystes*), les patients présentent une grosse tête (macrocéphalie), des convulsions, de l'*ataxie* et de la *spasticité*. Certains enfants présentent un trouble de l'apprentissage.

70-80% des familles possèdent une mutation du gène MLC1. Les autres gènes impliqués restent inconnus. Le gène MLC1 est exprimé dans les astrocytes, cellules ne fabriquant pas de la myéline mais importantes pour les échanges au sein de la substance blanche. Dans cette maladie, des troubles dans la régulation des échanges d'eau

Les familles d'ELA





Questions

- Qu'est ce que la geldamycine ?
C'est une molécule avec des propriétés antitumorales qui induit l'expression de protéines chaperones. Elle ne dissout pas les agrégats mais empêche leur formation.
- Quand le modèle animal de souris pour la maladie d'Alexander sera-t-il disponible ?
Dans quelques mois.

Atelier PMD, SPG2

Pr. Odile Boespflug-Tanguy, Dr. Mélina Begou, Dr. Annick Baron, Dr. Catherine Vours-Barrière (France).

Au cours du développement du système nerveux central, la formation de la myéline est un phénomène relativement tardif qui parachève les structures nerveuses fonctionnelles. Les progrès scientifiques ont permis d'individualiser les leucodystrophies dues à des troubles dans la formation de myéline et de rechercher les gènes en cause. Par exemple, des mutations du gène des protéolipoprotéines (PLP), principales protéines constitutives de la myéline, ont été identifiées dans la maladie de Pelizaeus-Merzbacher (PMD) et la paraplégie spastique de type 2 (SPG2). Le gène PLP étant situé sur le chromosome X, ces maladies sont plus sévères et fréquentes chez les garçons. La PMD s'identifie du fait de troubles du développement neuromoteur dès la première année de vie (*hypotonie* avec absence d'acquisitions de la tenue tête ou de la tenue assise) associés à des mouvements involontaires et saccadés touchant les yeux (nystagmus), le tronc (ataxie) et les membres

sont responsables de l'aspect "gonflé" de la substance blanche et de la formation de kystes. Aucune relation entre les mutations et les troubles de l'apprentissage n'a été mise en évidence. Aucun traitement n'est disponible à l'heure actuelle. Les chutes et les crises épileptiques sont les facteurs déclencheurs de l'aggravation de la maladie.

Maladie d'Alexander – Drs. Diana Rodriguez (France), Danielle Pham-Dinh (France)

Elle a été décrite en 1949 du fait de la perte myélinique associée à la présence d'agrégats (les fibres de Rosenthal). Il en existe très peu de cas. La grande majorité des patients est atteinte de la forme infantile (<2 ans) qui se caractérise par une grosse tête et un retard dans les activités psychomotrices. La forme juvénile est rare et s'accompagne de troubles de la déglutition, tout comme la forme

adulte qui peut parfois se présenter comme une pseudo sclérose en plaques. Le pronostic est très variable. La maladie d'Alexander, caractérisée par la formation d'agrégats, est causée par la mutation du gène de la GFAP de l'astrocyte. Sur les 130 patients répertoriés dans le monde, 50 mutations ont été identifiées. Les stratégies de traitement reposent sur :

- La stimulation de la voie d'élimination de la GFAP mutée.
- L'inhibition de l'expression du gène muté.

Sur des cultures d'astrocytes, l'antibiotique geldamycine diminue la taille des agrégats. L'ajout de protéines chaperones (qui ont pour rôle d'entourer les molécules anormales afin de favoriser leur élimination dans la cellule) à l'antibiotique accentue cette diminution.

Les intervenants scientifiques



(choréoathetose). Au-delà de 4-5 ans apparaît une raideur anormale des membres (spasticité). Dans la SPG2, les troubles apparaissent au-delà de 1 an au niveau de la marche (pas d'acquisition, instabilité) associés au développement d'une spasticité de plus en plus sévère. Chez les femmes, la présence de la mutation peut se manifester par l'apparition d'une spasticité au-delà de 30-40 ans. Les troubles cognitifs sont toujours plus modérés que les troubles moteurs. Il existe une relation directe entre le manque de myéline, le niveau de développement moteur et les capacités cognitives. L'anomalie présente dans 80% des cas est une duplication du gène PLP. Même si la mutation est identique chez deux individus, leur patrimoine génétique étant différent, la maladie peut avoir une expression différente.

L'étude d'une base de données d'environ 300 familles a permis de constater que les troubles héréditaires de formation de la myéline se répartissent à 80% sous la forme PMD et à 20% sous la forme SPG. Le gène PLP n'est pas toujours responsable de la maladie. En effet, 41% des familles identiques à la population PMD ne présentent pas de mutation du gène PLP. Cette population de patients est appelée Pelizaeus Merzbacher-Like Disease (PMLD). Récemment le gène GJA12 (Gap junction 12) a été impliqué dans environ 10% de ces PMLD. La protéine GJA12 permet l'accolement et la communication au sein des couches de myéline. Aujourd'hui, l'analyse de l'activité du gène PLP peut être mesurée à partir des fibroblastes provenant d'une biopsie de la peau. Certains PMLD ont une activité trop importante comme les PMD porteurs d'une duplication du gène PLP. Des études en collaboration

avec des équipes de cliniciens (neurologues, neuropédiatres, généticiens) et de chercheurs ont été menées dans les 3 axes suivants :

- Rechercher dans les formes liées au gène PLP des éléments cliniques et IRM permettant d'évaluer le niveau de myélinisation et de souffrance de l'axone
- Identifier les anomalies moléculaires en cause chez les patients PMLD
- Tester des stratégies thérapeutiques à partir des modèles souris à notre disposition

Questions

- Vers quelles thérapies allons-nous ?
- Après avoir évoqué les thérapies cellulaires et génétiques, l'idée de protéger l'axone (neuroprotection) reste toujours à l'ordre du jour. Grâce à une meilleure connaissance du génome humain, des recherches sur les régions chromosomiques sont en cours chez plusieurs familles.

Exemple de travaux de recherche :

Trop de PLP comme chez les patients PMD avec duplication du gène PLP est délétère mais l'absence de PLP comme observée chez certains patients SPG2 est également

dommageable. Le bon "dosage" de PLP est donc primordial. Un modèle souris qui possède 14 fois le gène PLP mime parfaitement la maladie de PMD. L'objectif des recherches est donc de tester chez ces souris des stratégies thérapeutiques permettant de diminuer l'expression du PLP (stratégie de silencing). Une stratégie étudiée en collaboration avec Franca Cambi s'est avérée très efficace sur des oligodendrocytes (cellules myélinisantes du cerveau) en culture cellulaire. L'obstacle principal est maintenant de pouvoir cibler les oligodendrocytes du cerveau des souris malades. Dans ce but, différents tests sont développés chez cette souris (test de l'activité motrice, IRM, test des conductions nerveuses par les *potentiels évoqués*) afin de pouvoir suivre un effet potentiellement thérapeutique. En cas d'effet positif, des essais thérapeutiques pourront être envisagés chez les patients PMD qui possèdent une duplication du gène PLP.

Échanges entre familles



Forum : "Prévention, soin et accompagnement"

Troubles du comportement (Causes et Prise en charge) – Pr. Odile Boespflug-Tanguy & Marie-Claude Blondeau



Marie-Claude Blondeau et le Pr. Odile Boespflug-Tanguy

Les troubles du comportement sont les symptômes psychopathologiques qui mettent en cause la relation actuelle de l'enfant avec son entourage et qui provoquent des réactions comportementales dans l'entourage, qu'il soit familial, amical ou social.

Il peut s'agir :

- Comportements agressifs qui ne sont pas pathologiques en eux-mêmes ; ils sont nécessaires à l'évolution de l'enfant. L'enfant ainsi s'affirme face à autrui comme un sujet. Ils peuvent se manifester par des colères ou des oppositions actives ou passives.
- Mensonges, vols, fugues, troubles obsessionnels compulsifs (TOC) entraînant une anxiété et une souffrance importante.
- Instabilité psychomotrice.
- Troubles cognitifs : entravant la difficulté pour le cerveau de penser, de traiter et d'emmagasiner de l'information afin de résoudre certains problèmes.

Les leucodystrophies du fait de leur atteinte du cerveau peuvent provoquer un dérèglement du comportement par rapport à des événements anodins de la vie quotidienne ou lors de changements. Les difficultés cognitives associées responsables de troubles de la mémoire, du langage, de la coordination fine, de la reconnaissance des objets amplifient ces troubles du comportement.

En dehors de l'atteinte neurologique due à la maladie elle-même, de multiples facteurs aggravants peuvent intervenir tels que l'anxiété face à la maladie, la dépression, les douleurs, ou la fatigue. Le dysfonctionnement du cerveau est extrêmement déstabilisant pour la personne. La douleur pose un problème car elle peut être perçue comme une dépression.

Chaque expérience est unique, chaque souffrance est individuelle.

Questions

- À tout âge, est-ce que l'enfant a conscience de la dureté de sa maladie ? Oui, quel que soit son âge, même s'il ne l'exprime pas, tout enfant a conscience de son état et de la gravité de ce qui le touche.
- Si un enfant dit "guérissez les autres mais pas moi, je suis bien comme ça" comment réagir ? Cela exprime une crainte de perte de son environnement dans lequel il a trouvé son équilibre. Son statut actuel sera modifié et donc, s'il y a guérison, son statut sera différent et inconnu. Il peut y avoir aussi, dans ce discours, l'expression de la peur de l'opération.

• Quelles réactions avoir en tant que parents quand les troubles du comportement se traduisent par de l'agressivité : faut-il punir l'enfant ou laisser passer car les troubles sont dus à la maladie ?

Il faut continuer à "gronder" même si le comportement est expliqué par un problème neurologique et parler avec le médecin d'une possible prise en charge médicamenteuse si cela est nécessaire.

• Certains psychiatres ne veulent pas prendre en charge les patients adultes atteints de leucodystrophies lorsqu'il existe une explication organique aux troubles obsessionnels compulsifs comme la cleptomanie. Ceci provoque souvent des problèmes réels de prise en charge. Quels psychiatres "compétents" peut-on aller voir ? Existe-t-il une liste ? Une liste de médecins psychiatres ou psychologues désireux de se former et de prendre en charge ce type de patients dans chaque région de France serait certainement intéressante à établir. L'expérience des familles avec les médecins qu'ils ont rencontrés pourrait contribuer à l'enrichir.

Frères et sœurs : les risques et la vie avec un malade – Marie-Claude Blondeau

L'annonce de la maladie et son évolution provoquent un bouleversement dans les relations pour l'enfant malade, les parents et les frères et sœurs.

La souffrance est difficilement repérable dans la fratrie mais elle existe.

Le bouleversement provoqué par l'enfant malade nécessite des réajustements dans les relations, notamment dans la relation

fraternelle où le sentiment d'abandon peut exister. La fratrie se retrouve plongée en même temps que les parents dans la maladie. Il est important de ne pas exclure les frères et sœurs d'une réalité dans laquelle ils sont inclus et qui leur est imposée. Les liens fraternels sont mis à rude épreuve tout au long de la vie et le sont d'autant plus avec la maladie. Il est important que la place de l'enfant malade par rapport à ses frères et sœurs soit maintenue sans que l'adulte s'en mêle de trop. Les parents ne peuvent protéger leurs enfants de toute souffrance mais ils peuvent en parler. Quelle que soit la souffrance, quel que soit l'âge, toutes les fratries sont ébranlées.

Le silence autour de la maladie et du handicap souvent instauré par les parents en vue de protéger la fratrie risque de devenir un non dit. Parler de la souffrance la transforme en quelque chose de plus supportable. Sinon, l'enfant bien portant va avoir comme souci principal de soigner ses parents pour que tout redevienne normal. Quand un enfant voit que ses parents sont mal, il va se demander si c'est par sa faute et va penser que cela doit être vraiment très grave pour qu'on ne lui en parle pas.

Il est important de pouvoir aider ses enfants à s'armer pour pouvoir parler ou pour avoir le droit de ne pas parler de leur frère malade notamment pendant l'intégration scolaire.

L'impact de l'enfant malade handicapé qui devient l'objet de soins courants et de sollicitude exclusive des parents n'est pas sans conséquence. La fratrie pourra se sentir coupable d'être en bonne santé. La souffrance est peut-être inapparente, elle mérite toutefois d'être prise en compte. Il faut donner à la fratrie l'aide nécessaire pour pouvoir faire face à cette situation spécifique qu'est la vie avec un frère malade. La fratrie dispose souvent des

ressources pour s'adapter à une situation même douloureuse et la vivre le moins mal possible. C'est ce que l'on dénomme la résilience qui se définit comme la notion permettant de mettre en place la capacité à réussir, à intégrer dans sa vie de manière acceptable une situation de stress ou d'adversité, parce que l'on en a la connaissance et la compréhension avec :

- la communication verbale au sujet de la maladie
- la perception des parents comme assumant la maladie
- la perception de soutien apporté aux parents par l'environnement familial, amical, association ou médical...

Il est important de veiller à ne pas organiser de façon exclusive, toute la vie familiale autour de l'enfant malade. La fratrie peut et doit avoir accès à une vie sociale tout en maintenant des liens familiaux chaleureux.

Une chirurgie orthopédique, pourquoi ? – Pr. Alain Tanguy

Pr. Alain Tanguy

Les leucodystrophies sont des maladies évolutives sans traitement possible qui comportent des complications orthopédiques qui peuvent être traitées. En effet, l'enjeu orthopédique engage le confort de vie de l'enfant ou l'adulte touché.

Les complications *orthopédiques*

les plus graves faisant l'objet de solutions chirurgicales sont :

- 1- la *luxation* des hanches
- 2- les problèmes de colonne vertébrale comme la scoliose.

1- Pour les problèmes de hanches :

- Une chirurgie de sauvetage par excision de la tête et du col du fémur est envisageable lorsque le patient est vu "trop tard". Conditions : douleurs importantes, déséquilibre ou perte de la station assise, impossibilité d'ouvrir les cuisses (et soins de toilettes devenus difficiles), escarres.
- Pour éviter cette chirurgie de dernier recours, il est important d'identifier les étapes qui ont été éventuellement "ratées": vérification dès le début de la maladie que la hanche va bien et que l'équilibre musculaire est normal pour avoir une croissance modelante tête fémorale-cavité articulaire du bassin.
- Dans certains cas, une première étape chirurgicale est envisageable pour jouer sur le déséquilibre musculaire. Pour d'autres cas, une opération plus lourde peut être nécessaire pour la réintégration de la tête du fémur.

2- Pour la colonne vertébrale :

La chirurgie de colonne scoliotique est trop souvent décidée quand le pire est arrivé :

- Rigidité de la colonne vertébrale, obliquité du bassin, extension de la courbure
- Atteinte importante des fonctions cardio-pulmonaires du patient et risque anesthésique
- Douleurs
- Impaction des côtes dans le bassin.

Intérêts de la chirurgie :

- Stopper la courbure de la colonne
- Préserver les fonctions cardio-pulmonaires
- Soulager les douleurs notamment de l'impact du

Lexique

- thorax dans le bassin
- Restaurer la station assise
 - Restaurer les fonctions des membres supérieurs perdues (notamment quand un bras permettait avant de stabiliser la station assise, il retrouve sa fonction propre).

Il est essentiel que les parents soient très attentifs à toute déformation de la colonne car certaines scoliozes sont présentées trop tardivement.

Questions

- Quand faut-il opérer ? Dès la preuve établie qu'une courbure évolue chez un enfant en croissance et qu'elle dépasse les 40° il faut opérer.

Conclusions

- Le suivi et les avis orthopédiques sont indispensables
- Avant de discuter de la chirurgie, il faut étudier le rôle des traitements conservateurs comme la kinésithérapie, les appareillages, la verticalisation...
- La chirurgie orthopédique est une chirurgie spécialisée qui demande une expertise chirurgicale non seulement des maladies neuro-musculaires mais plus spécifiquement des leucodystrophies.

- **Agnosie** : Affection neurologique, caractérisée par une perturbation de la reconnaissance des informations sensibles (perception, analyse des objets, des phénomènes extérieurs ou intérieurs, émotions, sensations, sentiments).
- **Allogénique (Allogreffe)** : le donneur et le receveur sont deux individus de la même espèce.
- **Aphasie** : Affection neurologique caractérisée par une perturbation de l'expression ou de la compréhension du langage parlé et écrit.
- **Apraxie** : Incapacité d'exécuter des mouvements coordonnés (écriture, marche) sans atteinte de la motricité, ni de la sensibilité.
- **Astrocyte** : Cellule de forme étoilée du système nerveux central assurant le soutien de la structure du système nerveux et participant à la réparation des tissus nerveux.
- **Astrocytose** : Modification de la forme et de la fonction des astrocytes entraînant des dégâts tissulaires.
- **Ataxie** : Troubles de la coordination, maladroites affectant l'équilibre et la marche, les mouvements des membres, des yeux et/ou l'élocution.
- **Autosomique** : Qui touche tout chromosome autre que les chromosomes sexuels X et Y. Il y a 22 paires d'autosomes dans les cellules humaines, soit 44 chromosomes non sexuels.
- **Axone** : Prolongement long, mince et cylindrique d'un neurone qui conduit les impulsions électriques. Les nerfs sont constitués de faisceaux d'axones.
- **Cellule souche** : Cellule pouvant donner des cellules spécialisées (différenciation) et pouvant se renouveler indéfiniment.
- **Clonage** : Isolation d'un fragment d'ADN dans le but de le multiplier à l'identique.
- **Cognition/Cognitif** : Faculté du cerveau de penser, de traiter et d'emmagasiner de l'information afin de résoudre certains problèmes.
- **Cohorte** : Groupe d'individus.
- **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.
- **Double KO** : dont deux gènes ont été inactivés.
- **Enzyme** : Molécule permettant des réactions chimiques biologiques, donnant un ou des produits à partir d'un ou de plusieurs éléments appelés substrats.
- **Ex vivo** : En dehors de l'organisme vivant. Se réfère souvent à une procédure médicale où les organes, cellules ou tissus sont prélevés du corps vivant pour être traités et replacés dans l'organisme.
- **Fibroblaste** : Cellule du tissu conjonctif jouant un rôle de soutien.
- **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.
- **Hypotonie** : Tonicité musculaire diminuée
- **In vivo** : Qualifie un processus biologique observé dans un organisme vivant.
- **Kyste** : Cavité anormale contenant du liquide ou une substance semi-solide voire gazeuse.
- **Leucocytes** : Globules blancs
- **Luxation** : Instabilité d'une articulation du corps favorisée par une trop grande élasticité des ligaments pouvant aller jusqu'à la sortie complète de la cavité. On parle aussi de déboîtement.
- **Lymphoblastes** : Précurseur des globules blancs.
- **Lysosome** : Structure spécialisée de la cellule contenant de nombreuses enzymes et ayant pour fonction la dégradation des nutriments.
- **Microglie** : Atteinte des cellules microgliales, cellules non nerveuses du système nerveux central impliquées dans la réponse immunitaire.
- **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.
- **Oligodendrocyte** : cellule non nerveuse du système nerveux central fabriquant de la myéline.
- **Orthopédie** : Discipline chirurgicale relative au traitement des lésions de l'appareil locomoteur.
- **Paraparésie** : Paralysie partielle affectant les membres inférieurs.
- **Peroxisome** : Structure spécialisée de la cellule dépourvue de génome et chargée de la détoxification de la cellule.
- **Phénylcétonurie** : Maladie liée à l'accumulation dans le sang de phénylalanine, un acide aminé indispensable à tous les êtres vivants.
- **Ponction lombaire** : Examen médical consistant à recueillir le liquide céphalo-rachidien pour l'étudier.
- **Potentiel évoqué** : Méthode d'exploration de la transmission des messages nerveux après stimulation.
- **Progéniteur** : Précurseur
- **Psychomotrice** : Se dit de troubles de la réalisation motrice sans cause organique.
- **Récessif** : Gène qui ne s'exprime pas par rapport au gène dominant sauf si deux copies sont présentes dans le génome.
- **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.
- **Stress oxydatif** : Agression des constituants de la cellule due aux espèces réactives oxygénées.
- **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.

La Fondation ELA

Siège

2 rue Mi-les-Vignes • BP 61024 • 54521 Laxou cedex • France

Bureau parisien

26-28, rue de Londres • 75009 Paris • France
Tél : (33) 1 78 42 37 78 • Fax : (33) 1 78 42 35 00

Directoire

• Président : Christian Gex
Tél : 03 83 33 48 53 • Fax : 03 83 30 00 68
Christian.gex@ela-fondation.com

Staff

- Coordinatrice Scientifique : Marie-Josée Duran
mj.duran@ela-fondation.com
- Chargée de Mission : Julia Alba
Julia.alba@ela-fondation.com

www.ela-fondation.com

