ELA infos 102
supplément
Juillet 2018 • 4€ • Revue trimestrielle de l'Association Européenne contre les Leucodystrophies

Colloque ELA familles/chercheurs 2018

Colloque ELA : Familles / Chercheurs
23 et 24 mars 2018- Paris

Cette année encore les familles se sont retrouvées à l'occasion du colloque Familles/Chercheurs, et ont participé aux ateliers scientifiques. La rencontre avec les experts des leucodystrophies est toujours un moment privilégié d'échanges. Retrouvez les comptes rendus des sept ateliers dans ce supplément spécial colloque.

Sommaire

Supplément numéro 102 • Juillet 2018

Atelier ALD, AMN 3
- Florian Eichler (USA) : L'Adrénoleucodystrophie : progrès sur de nouvelles thérapies 3
- Josh Bonkowsky (USA) : Nouvelles idées et découvertes pour les leucodystrophies grâce au poisson-zèbre 3
- Eavan McGovern (France) : MIN-102, essai clinique pour le traitement de l'adrénomyéloneuropathie 4

Atelier Refsum Adulte - Refsum infantile - Zellweger- ALD 5
- Bwee Tien Poll-The (Pays-Bas) : Troubles du spectre de Zellweger : aperçu clinique et approches de gestion de la maladie 5

Atelier MLD - KRABBE 6
- Caroline Sevin (France) Modératrice : Introduction - Mises à jour sur l'essai d'enzymothérapie - Laboratoire Shire 6
- Valeria Calbi (Italie) : Mise à jour sur la sécurité et l'efficacité de la thérapie génique HSC pour la leucodystrophie métachromatique 7
- Angela Gritti (Italie) : Perspective sur les thérapies innovantes pour les leucodystrophies 7
- David Wenger (USA) : Maladie de Krabbe - Optimisation des conditions de traitement du modèle murin pour la traduction dans un essai humain 8

Atelier MLC - CACH Syndrome - maladie d'Alexander - Canavan et autres leucodystrophies cavitaires 9
- Marjo van der Knaap (Pays-Bas) : L'épilepsie dans la leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux 9
- Marjo van der Knaap (Pays-Bas) : Leucoencéphalopathie avec perte de substance blanche - se préparer pour les essais cliniques 10
- Albee Messing (USA) : Suppression antisens du GFAP comme traitement de la maladie d'Alexander 10
- Volkmar Gieselmann (Allemagne) : Petites molécules : une option de traitement pour la maladie de Canavan 11

Atelier PMD - PMD-like (MCT8) Paraplégies spastiques de type 2 - Pol R III Autres leucodystrophies hypomyélinisantes 11
- Geneviève Bernard (Canada) : Leucodystrophie reliée à l'ARN polymérase III : Le point sur la recherche 11
- Matthias Klugmann (Autriche) : Modèles précliniques et approches thérapeutiques pour le trouble de la substance blanche HBSL 12
- Paul Tesar (USA) : Approches utilisant les cellules souches pour comprendre et traiter la maladie de Pelizaeus Merzbacher 13

Atelier AGS 13
- Yanick Crow et John Livingston (RU) : Traitements dans le syndrome d'Aicardi-Goutières (AGS) 13

Atelier LDI (leucodystrophies indéterminées) et génétique 14
- Nicole Wolf (Pays-Bas) : Qu'est-ce que la substance blanche du cerveau ? Une introduction 14

Lexique 15

SUPPLÉMENT ELA infos n° 102 :
2 rue Mi-les-Vignes • CS 61024 • 54521 LAXOU CEDEX
Tél. 03 83 30 93 34 • Fax 03 83 30 00 68
• Courrier électronique : ela@ela-asso.com
• Directeur de la publication : Pascal Prin
• Conception et réalisation : Phonem Création Design Communication
• Impression : La Nancéienne d'Impression
• Crédit photos : André D., INSERM, Nathalie Savale
• Abonnement annuel : 16 €
• Numéro : 4 €
Commission paritaire : n° 0121 H 84204 •

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

Atelier ALD, AMN

L'Adrénoleucodystrophie : progrès sur de nouvelles thérapies

Florian Eichler - Massachusetts General Hospital Boston, USA

Aujourd'hui, nous élargissons le champ des cibles de traitement dans l'adrénoleucodystrophie (ALD) et l'adrénomyéloneuropathie (AMN). Les approches évaluées s'étendent de la thérapie génique à des stratégies d'abaissement des niveaux de lipides, en passant par l'immunomodulation et l'utilisation d'antioxydants, mais elles incluent également l'évaluation des traitements symptomatiques. Pour la thérapie génique, nous avons appris que les phénotypes qui sont différents dans l'adrénoleucodystrophie et dans l'adrénomyéloneuropathie, déterminent le calendrier de traitement optimal, les différentes approches nécessaires, et les voies de délivrance à utiliser. Pour l'adrénoleucodystrophie cérébrale, un premier essai de correction des cellules de la moelle osseuse avec un vecteur lentiviral a dévoilé des données de sécurité rassurantes. Fait important, l'essai a démontré la capacité de cette approche à stopper la maladie inflammatoire progressive du cerveau (l'adrénoleucodystrophie cérébrale). Cependant, pour le phénotype plus commun de l'adrénomyéloneuropathie, une autre approche pour cibler la moelle épinière sera nécessaire. Actuellement, la délivrance directement dans l'espace du liquide céphalorachidien, d'une copie fonctionnelle saine du gène défectueux, est explorée dans un modèle animal d'adrénomyéloneuropathie. Cette approche utilise un virus adéno-associé pour délivrer le gène fonctionnel. Au-delà de la thérapie génique, de nouvelles stratégies d'abaissement des niveaux de lipides sont poursuivies. Par exemple, des études examinent de nouvelles façons d'améliorer l'expression d'un gène étroitement apparenté, ABCD2, via l'activation d'un élément de réponse aux hormones thyroïdiennes fonctionnel. D'autres stratégies novatrices incluent la lutte contre l'inflammation et le stress oxydatif. Un dendrimère conjugué au puissant antioxydant N-acétylcystéine, un médicament approuvé qui cible les cellules inflammatoires dans le système nerveux central, est prometteur dans divers modèles animaux et semble prolonger les effets de N-acétylcystéine observés précédemment. D'autres approches utilisant des antioxydants dans le traitement de l'adrénomyéloneuropathie comprennent MIN-102, un métabolite de la pioglitazone. Il est actuellement à l'étude dans le cadre d'un essai clinique en Europe et bientôt aux États-Unis. Au-delà des médicaments expérimentaux, il est important de garder à l'esprit les traitements symptomatiques. Dans une étude rétrospective chez des patients du Massachusetts General Hospital, les symptômes urinaires et intestinaux étaient une plainte fréquente. Les médicaments et les stratégies de gestion que les patients trouvent utiles, restent un domaine de recherche actif.

En résumé, les options de traitement pour l'adrénoleucodystrophie et l'adrénomyéloneuropathie sont en nombre croissant. Bien que l'obtention de l'autorisation de nouveaux médicaments semble être un processus lent, en raison des obstacles réglementaires et financiers associés à la réalisation des essais cliniques, beaucoup d'enseignements peuvent être tirés du partage par les patients de leur expérience des traitements symptomatiques actuels. Prises dans leur totalité, ces connaissances collectives optimiseront le traitement et conduiront à de meilleurs soins pour les patients atteints d'adrénoleucodystrophie et d'adrénomyéloneuropathie.

Nouvelles idées et découvertes pour les leucodystrophies grâce au poisson zèbre

Josh Bonkowsky - University of Utah School of Medicine Salt Lake City, USA

Il existe un besoin critique de traitements pour les leucodystrophies. Le développement de nouveaux médicaments est difficile en raison des coûts substantiels en temps et en argent. Nous avons développé une nouvelle approche pour découvrir des thérapeutiques en utilisant le modèle du p0etit vertébré qu'est le poisson zèbre. Parce que les poissons zèbres se développent rapidement, que leur élevage est peu coûteux, et qu'ils sont petits, nous les utilisons dans des tests à haut débit pour identifier les composés qui arrêtent ou ralentissent la perte de myéline. Les poissons zèbres sont des vertébrés, tout comme les humains, et les mêmes gènes qui font la myéline chez les humains font également de la myéline chez le poisson-zèbre. Nous pouvons effectuer chez eux des tests pour une fraction du coût et du temps par rapport aux souris.

Nous avions deux objectifs principaux pour la période de deux ans de ce projet. Tout d'abord, nous devions faire les modèles de poisson-zèbre, et les valider, pour s'assurer que le poisson-zèbre avait les mêmes caractéristiques de la maladie que chez les humains. Sans cette validation, tout médicament découvert chez le poisson zèbre pourrait très probablement ne pas être efficace chez l'homme. Notre deuxième objectif majeur était de commencer à utiliser le modèle des poissons zèbres pour tester des médicaments. Nous avons fait des poissons-zèbres mutants pour l'adrénoleucodystrophie (ALD) et la leucoencéphalopathie avec perte de substance blanche (Syndrome de CACH) qui démontrent la même pathologie de la maladie que l'homme.

Pour l'adrénoleucodystrophie, notre article initial décrivant nos recherches a été publié (Strachan et al., 2017). Dans cet article, nous décrivons et validons le modèle ALD du poisson zèbre. Maintenant, en utilisant le modèle de poisson zèbre ALD, nous avons mené et complété un test de nouveaux traitements. Nous avons analysé 2500 composés et trouvé une famille de composés (trois médicaments différents utilisant le même mécanisme) qui protègent contre la perte de myéline. Nous effectuons maintenant des tests secondaires sur cette famille de médicaments, pour nous assurer que c'est vraiment efficace. Avant de commencer les essais cliniques, nous testerons également ce médicament dans des modèles ALD murins et humains.

Pour la leucoencéphalopathie avec perte de substance blanche nous avons établi et validé le modèle de poisson-zèbre. Un article est sur le point d'être publié (Keefe et al., article soumis). Nous avons également développé un protocole de test, et nous commençons tout juste à rechercher de nouveaux composés.
Le soutien d'ELA a été essentiel à cet effort. Nous sommes très enthousiastes par la rapidité avec laquelle nous sommes passés de l'élaboration des modèles à leur utilisation pour découvrir de nouveaux traitements potentiels.

MIN-102, essai clinique pour le traitement de l'adrénomyéloneuropathie

Eavan McGovern - Neurologiste, la Pitié-Salpêtrière, France

Ma présentation a porté sur une nouvelle thérapie actuellement à l'essai chez des patients masculins atteints d'adrénomyéloneuropathie.

Pour replacer un peu le contexte - Dans chaque cellule on trouve des peroxysomes qui sont impliqués dans le métabolisme des acides gras à très longue chaîne. Dans la membrane de ces peroxysomes, une protéine appelée ALDP est importante pour l'oxydation des acides gras à très longue chaîne, c'est-à-dire leur dégradation en plus petites molécules. Cette protéine est fabriquée par le gène ABCD1. Dans l'adrénomyéloneuropathie, une mutation est présente dans ce gène et, en conséquence, le métabolisme des acides gras à très longue chaîne est interrompu. Les acides gras à très longue chaîne s'accumulent alors dans les nerfs et la colonne vertébrale, entraînant une inflammation. Ils s'accumulent également dans les glandes surrénales avec une altération ultérieure de la fonction surrénalienne. Le médicament de cette étude, qui s'appelle MIN-102, agit au niveau des peroxysomes. C'est un agoniste sélectif des récepteurs des peroxysomes, qui accélère le métabolisme des acides gras à très longue chaîne. Ce médicament est un métabolite actif de la pioglitazone, un traitement déjà utilisé chez les patients diabétiques.

Des études menées chez l'animal ont démontré un effet potentiel pour MIN-102 dans le traitement de l'adrénomyéloneuropathie. Des modèles de souris, dépourvues du gène ABCD1 impliqué dans l'adrénomyéloneuropathie, ont été créés. Dans ces modèles, une élévation des niveaux d'acides gras à très longue chaîne a été mise en évidence dans la moelle épinière, qui a entrainé une réponse inflammatoire. Dans d'autres études utilisant ces modèles, les animaux ont reçu de la pioglitazone, le métabolite actif de MIN-102, puis plus récemment MIN-102, pour observer les effets anti-inflammatoires résultants. Il y avait à la fois un effet anti-inflammatoire et une amélioration des symptômes cliniques. L'innocuité de MIN-102 a été évaluée dans un essai clinique impliquant des hommes en bonne santé âgés de 21 à 54 ans. Aucun effet indésirable grave n'a été observé. Trois patients ont éprouvé des effets légers et limités, dont des maux de tête. Au total, 105 patients masculins seront recrutés dans huit centres en Europe et dans deux centres aux États-Unis. Vingt-cinq patients sont recrutés en France.

Les principaux critères d'inclusion sont les suivants :
- Patients âgés de 18 à 60 ans
- Diagnostiqué avec une AMN par un test génétique et la démonstration d'un niveau élevé d'acides gras à très longue chaîne
- Capable de marcher pendant 6 minutes
- Capable de rester les yeux fermés et les pieds écartés pendant vingt secondes
- Une contraception adéquate

Les principaux critères d'exclusion sont les suivants :
- Diabète de type 1 ou 2
- Historique de cancer
- Fumeur de 25 cigarettes ou plus par jour

L'essai est un essai contrôlé par placebo, c'est-à-dire que pour deux patients recevant le médicament, un patient recevra un placebo. En outre, il s'agit d'une étude en double aveugle, ce qui signifie que ni le patient ni le médecin impliqué dans l'étude ne sauront qui reçoit le médicament et qui reçoit le placebo. Ceci afin de s'assurer que les résultats observés sont un effet réel du médicament, et non un effet du placebo. L'étude durera deux ans et se déroulera à la Pitié-Salpêtrière à Paris. Pendant cette période, les participants se rendront à l'hôpital pour une visite de sélection afin de s'assurer qu'ils répondent à tous les critères d'inclusion et après cela, ils auront cinq visites principales au cours desquelles des évaluations seront effectuées. L'évaluation principale sera le test de marche de six minutes pendant lequel nous enregistrerons la distance parcourue par chaque patient en six minutes. Ce sera le principal critère d'évaluation - pour voir si le médicament a un effet sur la distance parcourue par les patients pendant six minutes. Les critères d'évaluation secondaires comprennent l'évaluation de la force de la hanche, des échelles cliniques pour mesurer la progression de la maladie, des questionnaires pour évaluer la qualité de vie, un test pour mesurer l'équilibre du corps. Chaque évaluation sera effectuée tous les six mois. De plus, deux IRM seront effectuées, une au début de l'étude et une avant la fin de l'étude.

Toutes les évaluations auront lieu à la Pitié-Salpêtrière à Paris et les patients recevront une carte bancaire pour payer leur voyage et leur hébergement si nécessaire.

Tous les patients auront la possibilité de participer à une étude de prolongation, à l'issue des deux années, pendant laquelle ils auront la possibilité de prendre le médicament de l'essai.

Si vous-même ou un membre de votre famille êtes intéressés à participer à cette étude, n'hésitez pas à prendre contact avec moi ou ma collègue Marie-Pierre qui participe également à l'étude. Nos adresses e-mail sont : eavanmcgovern@gmail.com / mariepierre.luton@icm-institute.org

Atelier Refsum Adulte - Refsum infantile - Zellweger - NALD

Troubles du spectre de Zellweger : aperçu clinique et approches de gestion de la maladie

Bwee Tien Poll-The, VU University Medical Center Amsterdam, Pays-Bas

Les troubles du spectre de Zellweger (ZSD) résultent de défauts dans les fonctions des structures cellulaires appelées péroxysomes, et sont également appelés troubles de la biogenèse des péroxysomes ou troubles péroxysomaux généralisés. Le peroxysome effectue dans la cellule un certain nombre de fonctions importantes, qui sont nécessaires pour aider les différents organes à fonctionner correctement, y compris le système nerveux, le foie, les reins et les glandes surrénales. Les personnes atteintes de troubles du spectre de Zellweger ont une présentation clinique pouvant varier de relativement légère à sévère.

Le diagnostic des troubles du spectre de Zellweger peut être définitivement établi par des examens biochimiques dans le sang et / ou les urines, suivis d'une confirmation réalisée sur des fibroblastes cutanés en culture. Les tests biochimiques spécialisés sont: les acides gras à très longue chaîne, l'acide phytanique et l'acide pristanique, les acides biliaires, l'acide pipécolique dans le plasma; les plasmalogènes dans les membranes érythrocytaires; l'acide pipécolique, les acides biliaires, l'oxalate dans les urines. Il est important que différentes voies peroxysomales soient représentées dans ces tests, car le diagnostic peut être manqué si une seule est étudiée.

Des mutations dans l'un des 13 gènes PEX ont été identifiées dans les troubles du spectre de Zellweger. PEX1 est la cause la plus fréquente des troubles du spectre de Zellweger, associée à environ 70 % de tous les individus atteints.

L'évolution clinique de ces maladies est variable et peut inclure des retards de développement intellectuel et moteur, une perte auditive, une déficience visuelle, un dysfonctionnement hépatique et des anomalies craniofaciales (légères). Les enfants peuvent d'abord attirer l'attention suite à l'échec d'un test d'audition raté et/ou de problèmes visuels. La dysfonction hépatique peut être observée chez les enfants présentant des épisodes hémorragiques provoqués par un défaut de coagulation sensible à la vitamine K. Les enfants peuvent également souffrir d'insuffisance surrénalienne. L'évolution clinique globale peut être stable, mais la maladie évolue lentement et l'audition, la vision et la marche s'aggravent avec le temps. Certaines personnes peuvent développer une leucodystrophie, ce qui peut entraîner une perte de compétences. D'autres peuvent se présenter chez l'adulte avec des déficits principalement sensoriels ou seulement de l'ataxie (anomalie du mouvement). Puisque les individus atteints de troubles du spectre de Zellweger peuvent atteindre l'âge adulte, les manifestations cliniques doivent être suivies et traitées: 1. Alimentation et nutrition; 2. prothèses auditives; 3. correction de la vision; 4. Foie, supplémentation en vitamines liposolubles, y compris la vitamine K; 5. Insuffisance surrénale, supplémentation en cortisol; 6. Calculs rénaux d'oxalate de calcium, traitement oral au citrate pour prévenir la formation des calculs. Des thérapies expérimentales sont à l'étude, telles que l'administration d'acides biliaires (acide cholique), d'acide docosahexaénoïque et d'une alimentation pauvre en acide phytanique. Les données actuelles sont insuffisantes pour conclure que le traitement à l'acide cholique est bénéfique pour les patients atteints de troubles du spectre de Zellweger.

Jusqu'à présent, les options thérapeutiques des troubles du spectre de Zellweger sont principalement symptomatiques et favorables.

Atelier MLD - KRABBE

Modératrice : Introduction - Mises à jour sur l'essai d'enzymothérapie - Laboratoire Shire

Caroline Sevin - Hôpital Bicêtre Le Kremlin Bicêtre, France

La leucodystrophie métachromatique (LDM) est une maladie neurodégénérative sévère de l'enfant affectant la myéline du système nerveux central et périphérique. Cette maladie de surcharge lysosomale héréditaire est liée au déficit d'une enzyme lysosomale, l'arylsulfatase A (ARSA). Les formes de LDM les plus fréquentes (formes précoces) touchent des enfants entre l'âge de 1 an et 4 ans. Une fois que les premiers symptômes moteurs apparaissent, l'évolution de la maladie est très rapide, conduisant à une dégradation rapide et majeure des fonctions motrices et cognitives des enfants.

Il n'y a à l'heure actuelle pas de traitement pour guérir les enfants ayant une forme précoce de LDM quand des signes cliniques sont déjà présents. La prise en charge des différents symptômes est donc essentielle (raideur, douleur, état nutritionnel, troubles de déglutition et problèmes respiratoires, problèmes orthopédiques).

Parmi les essais cliniques en cours, deux essais concernent les patients atteints de formes précoces à un stade symptomatique : l'enzymothérapie intrathécale et la thérapie génique intracérébrale.

L'enzymothérapie intrathécale (administration régulière de l'enzyme ARSA dans le liquide céphalo-rachidien) a été évaluée chez 24 patients par le laboratoire SHIRE. Trois doses ont été évaluées (10 mg, 30 mg et 100 mg toutes les 2 semaines). La tolérance a été bonne. La dose de 100 mg a montré une supériorité par rapport aux autres doses (tendance positive sur la dégradation de la fonction motrice, sur la diminution des sulfatides dans le LCR, sur le score de démyélinisation sur l'IRM cérébrale). Shire travaille sur la suite de cet essai (design du protocole, soumission aux instances règlementaires).

L'injection intracérébrale d'un vecteur médicament AAV-ARSA permettant de faire exprimer l'enzyme ARSA dans le cerveau a été évaluée chez 4 enfants (essai de thérapie génique de phase I-II, financé par l'association ELA). Le vecteur médicament a été injecté dans 12 régions de la substance blanche cérébrale. Les résultats montrent que la procédure chirurgicale est bien tolérée et qu'il n'y a pas d'effets secondaires graves liés au vecteur de thérapie génique. Une augmentation significative de l'enzyme ARSA a été observée dans le liquide céphalorachidien des 4 enfants traités, témoignant de la fonctionnalité du vecteur médicament. Malgré ces résultats biologiques encourageants, les résultats cliniques chez les 4 enfants traités ne montrent pas l'efficacité souhaitée. Ces résultats décevants ont conduit à arrêter cet essai et donc à ne pas inclure d'autres enfants. Des modifications du protocole d'administration du vecteur médicament doivent être discutées pour améliorer l'efficacité de ce traitement de thérapie génique.

Mise à jour sur la sécurité et l'efficacité de la thérapie génique HSC pour la leucodystrophie métachromatique

Valeria Calbi - Ospedale San Raffaele Milan, Italie

La leucodystrophie métachromatique est une maladie lysosomale démyélinisante fatale, due à un déficit en arylsulfatase A (ARSA) et sans traitement définitif. Nous développons une approche de thérapie génique utilisant des cellules souches hématopoïétiques (autologues) dérivées du patient, modifiées avec un vecteur lentiviral codant pour l'ADNc ARSA, et perfusées après une chimiothérapie au Busulfan. Entre 2010 et 2015, nous avons traité 20 patients dans l'essai clinique MLD-GT et 1 patient dans le cadre d'un programme d'utilisation compassionnelle. Des résultats préliminaires encourageants ont été publiés par Biffi et al. dans le journal Science en 2013 et par Sessa, Lorioli et al. dans la revue Lancet en 2016. Après l'arrêt complet de l'enrôlement dans l'essai clinique, 8 patients supplémentaires ont été traités dans le cadre de programmes hospitaliers d'exemption ou d'usage compassionnel. Les patients éligibles à l'essai MLD-GT comprenaient des patients, à un stade présymptomatique, ayant un variant associé à une forme infantile tardive de leucodystrophie métachromatique ou des patients ayant un variant associé à une forme juvénile précoce de leucodystrophie métachromatique (apparition attendue ou réelle de la maladie entre 30 mois et 6 ans d'âge), soit présymptomatique, soit à un stade symptomatique précoce. Ceci est une mise à jour de l'analyse ad hoc des 21 premiers patients atteints de leucodystrophie métachromatique traités par thérapie génique HSC-GT expérimentale. Certaines des données présentées ici ne sont pas publiées et doivent être considérées comme préliminaires. Neuf patients avaient une forme infantile tardive et 12 avaient une forme juvénile précoce, ce dernier groupe incluant 1 patient classé comme intermédiaire. L'âge médian au moment du traitement était de 39,3 mois (extrêmes 7,7 - 141,7 mois) ; huit patients avec une forme infantile tardive et 4 patients avec une forme juvénile précoce ont été traités avant l'apparition manifeste de maladie. Nous avons comparé les résultats cliniques à ceux d'une cohorte de 28 patients atteints de leucodystrophie métachromatique n'ayant pas reçu le traitement et suivis dans le cadre d'une étude de l'histoire naturelle de la maladie (16 ayant une forme infantile tardive et 12 ayant une forme juvénile précoce).

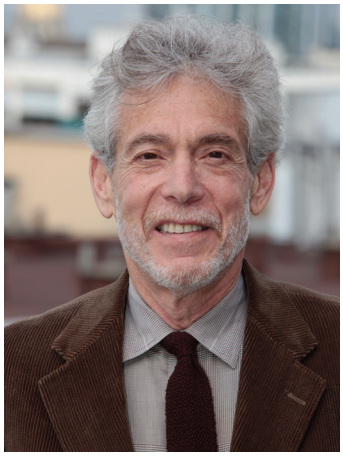
Dix-neuf patients sont en vie ; deux patients ayant une forme juvénile précoce traités après l'apparition des symptômes sont décédés en raison de la progression de la maladie. Il n'y a pas eu de mortalité liée au traitement, pas de signe de prolifération clonale anormale et pas d'effets indésirables liés au traitement. Nous avons observé une prise de greffe persistante de cellules avec le gène corrigé, avec une augmentation marquée de l'activité ARSA dans le sang périphérique et dans le liquide céphalo-rachidien. Les patients avec une forme infantile tardive, traités avant l'apparition des symptômes, ont montré une meilleure performance motrice et cognitive par rapport à la cohorte historique non traitée. La prévention de la démyélinisation progressive sur l'IRM cérébrale, la stabilisation des vitesses de conduction nerveuse, et la maturation des potentiels évoqués auditifs du tronc cérébral, ont été observées chez la majorité des patients avec une forme infantile tardive. La stabilisation ou l'amélioration des vitesses de conduction nerveuse et des potentiels évoqués auditifs du tronc cérébral, ont souvent été précédées d'une période de détérioration de ces paramètres immédiatement après la thérapie génique.

Nous confirmons que la thérapie génique HSC-GT est bien tolérée. Les patients pré-symptomatiques avec une forme infantile tardive, présentent un bénéfice clinique persistant. Un suivi prolongé fournira des informations supplémentaires sur la sécurité à long terme, l'efficacité clinique et les facteurs prédictifs de résultat après une thérapie génique HSC-GT, en particulier chez les patients ayant une forme juvénile précoce.

Sur la base de ces résultats prometteurs, nous avons commencé un essai clinique en utilisant une formulation cryopréservée du même médicament. La formulation cryoconservée augmente la durée de conservation du médicament et peut potentiellement permettre son utilisation clinique à l'échelle globale. L'essai clinique (ClinicalTrials.gov Identifier : NCT03392987) recrute maintenant des enfants pré-symptomatiques ayant des formes de leucodystrophie métachromatique Infantiles tardives et juvéniles précoces.

Maladie de Krabbe : Optimisation des conditions de traitement du modèle murin pour la traduction dans un essai humain

David Wenger -Sidney Kimmel College of Medicine à l'Université Thomas Jefferson, USA



Depuis plus de 46 ans, ce laboratoire a été impliqué dans la recherche liée à la maladie de Krabbe. Cela comprend des études sur le développement de meilleurs tests diagnostiques, la première purification de la galactocérébrosidase (GALC) et le clonage du gène GALC, et le développement de méthodes d'administration in vitro et in vivo de l'activité GALC aux cellules cultivées et aux cellules souches neurales, et plus récemment aux modèles animaux de la maladie de Krabbe. Des études dans le modèle de souris appelé twitcher (twi) utilisant un vecteur viral nommé AAVrh10 contenant l'ADNc de GALC de souris seul, combiné à une greffe de moelle osseuse (GMO) sont à la base des études précliniques en cours. À ce stade, nos études montrent que la combinaison de cellules souches hématopoïétiques (par greffe de moelle chez la souris et habituellement avec des cellules souches de sang de cordon ombilical chez l'homme) avec AAVrh10-GALC, permet un effet synergique important par rapport à l'un ou l'autre traitement testé seul. En utilisant les conditions de dosage et de synchronisation que nous avons publiées en 2015, nous avons prolongé la durée de vie moyenne des souris malades, de 40 jours à près de 400 jours, avec certaines souris traitées vivant 2 ans, c'est-à-dire une durée de vie normale. Les souris traitées montrent une myélinisation normale du cerveau et du nerf périphérique. En ce moment, nous poursuivons les études chez les souris twitcher, pour modifier le moment et le dosage, afin d'obtenir une réponse optimale. Nous savons déjà que l'abaissement de la dose d'AAVrh10-GALC entraîne une durée de vie plus courte que celle que nous avons publiée, mais une dose plus élevée pourrait-elle être encore meilleure? En outre, nous avons montré que le fait de retarder l'injection d'AAV après la greffe de moelle osseuse, passant d'une injection le lendemain à une injection après cinq ou dix jours, entraîne également un effet synergique positif similaire. Certaines souris vivent encore et auront besoin d'une évaluation attentive. Il est critique de déterminer si l'injection d'AAV peut être retardée encore plus longtemps, par exemple jusqu'à 30 jours après la greffe de moelle osseuse, à un moment où il y a des défauts évidents de la myéline, et si l'injection du vecteur viral peut corriger les défauts de myélinisation, en particulier dans le système nerveux périphérique. Ces souris vivront probablement un ou deux ans et ont besoin d'une évaluation minutieuse. Si fournir une thérapie génique beaucoup plus tard peut corriger la démyélinisation du SNP, et ne pas seulement la prévenir, cela aura des implications cruciales pour le traitement des patients en thérapie génique qui ont déjà subi une greffe de moelle osseuse et qui présentent maintenant des signes de lésions nerveuses périphériques.

En plus des études chez les souris twitcher, nous avons également effectué un nombre limité d'études sur le modèle canin de la maladie de Krabbe. En utilisant le dosage du vecteur viral similaire à celui utilisé chez les souris twitcher ayant reçu également une greffe de moelle osseuse, nous avons également vu une prolongation de la durée de vie d'environ 17 semaines à plus d'un an. Il y avait une bonne activité de GALC dans le cerveau et les systèmes nerveux périphériques et une nette amélioration de la myélinisation observée. La raison pour laquelle les chiens n'ont pas fait mieux peut se rapporter au dosage du vecteur utilisé. Actuellement, un chien reçoit une dose virale plus élevée après la greffe de moelle osseuse et il se porte bien. Les études chez la souris et le chien, ainsi que les études en cours chez le rat, demandées par l'agence du médicament américaine FDA, devraient conduire dans un proche avenir à un essai chez l'homme de ce traitement chez les nourrissons atteints de la maladie de Krabbe. Nous voulons être sûrs que le traitement est à la fois sûr et efficace. Alors que certains patients en bas âge peuvent être trop affectés lors du diagnostic pour avoir ce traitement, d'autres peuvent être considérés en raison d'un dépistage néonatal d'un frère ou d'une sœur déjà atteints. Il faudra un certain temps pour identifier les patients idéaux pour l'essai initial, mais avec l'apport de mon laboratoire de diagnostic et des programmes de dépistage néonatal, nous espérons que l'essai humain débutera d'ici 2019.

Perspective sur les thérapies innovantes pour les leucodystrophies

Angela Gritti - Ospedale San Raffaele Milan, Italie

Des défauts dans les enzymes lysosomales, l'arylsulfatase A (ARSA) et la ß-galactocérébrosidase (GALC) conduisent, respectivement, à la leucodystrophie métachromatique et à la leucodystrophie à cellules globoïdes (maladie de Krabbe). Plusieurs approches thérapeutiques fournissent divers degrés de correction du phénotype biochimique et clinico-pathologique dans ces maladies. Cependant, aucun de ces traitements n'est capable d'arrêter la maladie, ni dans des modèles animaux ni dans des essais cliniques, ne parvenant pas à traiter la pathologie complexe touchant plusieurs organes, ni à fournir un rétablissement enzymatique efficace dans le tissu nerveux. Sur la base de ces observations, il est envisagé que de nouvelles stratégies combinées qui pourraient assurer des niveaux thérapeutiques d'enzymes lysosomales fonctionnelles dans tous les tissus et les organes affectés, à un moment opportun, deviendraient d'un intérêt grandissant pour le développement clinique de nouveaux traitements.

Notre objectif à long terme est d'améliorer et de compléter le mode de traitement unique que constituent les approches de thérapie génique, pour développer des stratégies thérapeutiques combinées innovantes et plus sûres, répondant aux exigences spécifiques posées par ces leucodystrophies sévères pour lesquelles nous manquons encore d'options curatives efficaces. Pour atteindre cet objectif, nous croyons fermement qu'une meilleure compréhension est requise, des événements pathogènes sous-jacents à l'apparition et la progression de la maladie, et des mécanismes thérapeutiques résultant de la thérapie génique (par exemple la circulation des enzymes et la correction croisée). Nous abordons ces questions dans des modèles expérimentaux murins et humains pertinents, y compris des dérivés neuraux des cellules souches pluripotentes induites (iPSC) spécifiques au patient, qui offrent une opportunité sans précédent de récapituler la pathologie cérébrale in vitro et, à long terme, fournir une source de cellules autologues pour des thérapies géniques ex-vivo.

Atelier MLC - CACH Syndrome - maladie d'Alexander - Canavan et autres leucodystrophies cavitaires

L'épilepsie dans la leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux

Marjo van der Knaap - VU University Medical Center Amsterdam, Pays-Bas

La leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux (MLC) présente deux variantes de la maladie: la maladie de forme classique et celle présentant des améliorations. La maladie classique est caractérisée par le développement d'une grosse tête au cours de la première année de vie. Après cela, le taux de croissance de la tête devient normal et la tête reste trop grande. Avec un retard de plusieurs années, les problèmes moteurs commencent à apparaitre avec une progression lente. Les patients deviennent le plus souvent dépendants d'un fauteuil roulant à l'adolescence. L'IRM de la forme classique de la maladie montre des anomalies diffuses de la substance blanche du cerveau dès la première année, avec un gonflement de la substance blanche anormale. 90 % des patients ont 2 mutations récessives dans le gène MLC1, 10 % ont des mutations dans le gène GLIALCAM. Les parents portent chacun l'une des mutations et n'ont pas de signes de la maladie. Les patients atteints de leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux présentant des améliorations progressent au départ de la même façon, mais montrent une amélioration à partir de l'âge de 2 ans, bien que certains continuent à avoir une grosse tête, un retard mental ou un autisme. Les anomalies de la substance blanche à l'IRM disparaissent en grande partie. L'un des parents a également eu la maladie lorsqu'il était enfant et ces patients ont une seule mutation dominante dans le gène GLIALCAM, partagée par le parent affecté.

Les défauts génétiques dans la leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux causent un problème d'homéostasie (d'équilibre) de l'eau et des ions dans le cerveau, entraînant un gonflement de la substance blanche. Des anomalies ioniques peuvent également provoquer une épilepsie.

Méthodes

Nous avons étudié l'épilepsie chez 141 patients ayant des mutations récessives du gène MLC1 et 17 patients ayant des mutations récessives du gène GLIALCAM. Nous avons également étudié l'épilepsie chez des souris mutantes présentant la maladie.

Résultats

Environ 75 % des patients avec des mutations du gène MLC1 ou du gène GLIALCAM ont connu au moins 1 crise d'épilepsie avant l'âge de 25 ans. Chez la majorité des patients, l'apparition de l'épilepsie s'est faite avant l'âge de 4 ans, c'est-à-dire tôt dans la maladie, lorsque les lésions cérébrales étaient encore limitées. Un léger traumatisme crânien était un facteur déclenchant important, provoquant au moins 1 crise chez 55 % des patients. 17 % des patients avaient un ou plusieurs épisodes de status epilepticus. Ce nombre est élevé, en particulier compte tenu du fait que l'épilepsie dans la leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux est généralement légère.

Chez les souris mutantes, nous avons confirmé qu'elles avaient souvent des crises d'épilepsie subtiles. L'administration d'acide kaïnique (Kaïnate) chez les souris, pour provoquer l'épilepsie, a entrainé des crises plus sévères chez les souris mutantes que les souris témoins. L'utilisation d'électrodes sensibles aux ions dans des coupes de cerveau provenant de souris mutantes, nous a permis de confirmer que les concentrations d'ions étaient anormales après une stimulation électrique, en particulier lorsque la fréquence de stimulation était élevée.

Conclusion

Des anomalies de la régulation du volume des astrocytes peuvent conduire à un œdème de la substance blanche et à un seuil de déclenchement d'épilepsie abaissé. L'épilepsie dans la leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux n'est pas secondaire à une lésion cérébrale, mais fait partie de la maladie primaire et est causée par une homéostasie ionique anormale, c'est-à-dire à une mauvaise balance entre l'eau et les ions.

Les patients ayant des mutations dominantes du gène GLIALCAM montrent que l'œdème de la substance blanche peut être réversible, il y a donc une fenêtre pour le traitement.

Leucoencéphalopathie avec perte de substance blanche - se préparer pour les essais cliniques

Marjo van der Knaap - VU University Medical Center Amsterdam, Pays-Bas

La leucoencéphalopathie avec perte de substance blanche, également appelée syndrome de CACH, est caractérisée par un déclin neurologique chronique provoqué par le stress, affectant principalement les enfants. On sait qu'il y a une grande variabilité dans l'apparition de la maladie, allant d'une apparition prénatale à une apparition chez l'adulte âgé. Il y a aussi une grande variation dans l'évolution de la maladie, le décès pouvant survenir au bout de quelques mois ou après plusieurs décennies. Le défaut génétique sous-jacent à la maladie a été découvert en 2001, mais aucun traitement n'est encore disponible. Cependant, les développements thérapeutiques sont en cours et les médecins, les patients et les familles doivent se préparer à être prêts pour des essais cliniques, afin qu'ils puissent être ouverts dès que quelque chose semble disponible. Pour être prêt pour les essais cliniques, nous avons besoin de :

- 1 - Comprendre les mécanismes de la maladie : que devons-nous tester ?
- 2 - Avoir des modèles cellulaires et animaux (souris) : pour tester les thérapies en premier.
- 3 - Connaitre le cours naturel de la maladie : comment mettre en place l'étude ?
- 4 - Un registre de patients : où sont quels patients ; quel est leur phénotype et quel est leur génotype ?

Mécanismes de maladie

Le défaut initial dans la leucoencéphalopathie avec perte de substance blanche, est situé au cœur des mécanismes de réponse des cellules au stress. C'est une réponse complexe qui permet une régulation à différents niveaux.

Modèles de cellules et de souris

Nous et d'autres avons montré que les modèles cellulaires sont d'une utilisation limitée dans la leucoencéphalopathie avec perte de substance blanche et qui souvent ne répliquent pas la maladie. Nous avons cependant développé des modèles de souris mutantes qui répliquent la maladie. Ces souris peuvent être utilisées pour tester des médicaments ou d'autres traitements afin de savoir à quel point ces traitements sont bénéfiques ou nocifs. Cela doit être fait pour s'assurer que le traitement n'aggrave pas l'état des patients au cours d'un essai.

Cours naturel de la maladie

Nous avons réalisé une étude longitudinale prospective multicentrique de l'histoire naturelle chez 296 patients ayant une leucoencéphalopathie avec perte de substance blanche. Nous avons évalué l'index de qualité de vie HUI3 chez les patients de plus de 2 ans, et l'échelle d'incapacité neurologique GNDS chez les patients de plus de 8 ans. Ces questionnaires mesurent l'état de santé et permettent le calcul de l'indice de santé sur la base de 8 (HUI) et de 12 (GNDS) domaines. Nous avons également collecté des données rétrospectives en utilisant un questionnaire personnalisé. Nous avons constaté que la majorité des patients avaient déclaré la maladie avant l'âge de 6 ans. L'apparition précoce de la maladie était associée à une mortalité plus élevée et à un handicap plus sévère. L'évolution de la maladie était plus rapide chez les patients ayant déclaré la maladie avant l'âge de 4 ans, alors qu'elle était plutôt similaire pour tous les patients ayant déclaré la maladie après l'âge de 4 ans. La marche et la dextérité ont été les plus gravement touchées chez les jeunes enfants, tandis que les émotions et la cognition ont été touchées plus tôt chez les patients présentant un début plus tardif de la maladie. Cet ensemble de données permet de faire des choix pour la configuration d'essais cliniques et permet de calculer la puissance statistique des essais.

Registre

Nous développons un registre en ligne sur le Web (Castor), dans lequel tous les patients atteints de leucoencéphalopathie avec perte de substance blanche / syndrome de CACH, dont le diagnostic est confirmé par ADN, peuvent être enregistrés. Les patients et les familles intéressés peuvent faire connaître leur intérêt via RegisterVWM@vumc.nl. Nous demanderons ensuite des résultats ADN et donnerons accès au registre.

Suppression antisens du GFAP comme traitement de la maladie d'Alexander

Albee Messing - Université du Wisconsin-Madison, USA

La maladie d'Alexander est une leucodystrophie causée par des mutations autosomiques dominantes entrainant un gain de fonction du gène de la protéine de l'acide fibrillaire gliale (GFAP), une protéine qui est principalement exprimée dans les astrocytes du cerveau et de la moelle épinière. En janvier 2018, nous avons publié les résultats d'un travail fait à long terme pour développer un traitement de cette maladie, en utilisant l'approche des oligonucléotides antisens (ASO) pour favoriser la dégradation de l'ARN messager de la GFAP et réduire ainsi les niveaux de la protéine GFAP. Nous avons utilisé des modèles murins de la maladie d'Alexander, traités par injection

directe d'oligonucléotides antisens dans le liquide céphalo-rachidien. Des injections uniques chez des souris adultes présentant une pathologie bien établie, ont entraîné une élimination presque complète et durable de la GFAP au niveau du cerveau, de la moelle épinière et du liquide céphalo-rachidien. Les fibres de Rosenthal (les agrégats protéiques caractéristiques qui s'accumulent dans les astrocytes) ont disparu et d'autres symptômes de la maladie ont été inversés. Ces résultats démontrent l'efficacité de la suppression par oligonucléotides antisens en tant qu'approche thérapeutique convaincante pour la maladie d'Alexander et justifient la planification d'essais cliniques futurs chez des patients humains.

Petites molécules : une option de traitement pour la maladie de Canavan

Volkmar Gieselmann - University of Bonn, Allemagne

Mon groupe essaie de développer une thérapie à base de petites molécules pour la maladie de Canavan. La maladie de Canavan est causée par la déficience de l'enzyme qui dégrade le N-acétyl-aspartate, l'aspartoacylase. Comme le N-acétyl-aspartate ne peut plus être dégradé, il s'accumule. Nous savons d'après les modèles murins de la maladie que cette accumulation cause la maladie.

De ce fait, une bonne approche thérapeutique consisterait à inhiber la synthèse du N-acétyl-aspartate. Cela réduirait son accumulation et nous savons d'après les modèles murins que la diminution de cette concentration est capable d'améliorer sensiblement la pathologie. Nous avons donc développé un test qui permet de mesurer l'activité de l'enzyme synthétisant le N-acétyl-aspartate de manière très robuste. Ce test a été utilisé pour cribler une bibliothèque d'environ 2000 médicaments déjà utilisés pour diverses maladies. Nous avons trouvé un inhibiteur de cette enzyme, mais beaucoup trop faible pour être utilisé comme thérapie. Le problème avec le dosage de l'enzyme synthétisant le N-acétyl-aspartate est qu'il nécessite la production de grandes quantités d'enzyme. Dans ce but, nous essayons de produire cette enzyme dans des cellules d'insectes spéciales, pour obtenir de grandes quantités.

À ce stade, cependant, nous ne sommes toujours pas en mesure de purifier de grandes quantités de cette enzyme à partir des extraits de cellules d'insectes. Nous travaillons actuellement sur l'optimisation de cette procédure. Dès que nous obtiendrons des quantités suffisantes d'enzymes, nous prévoyons de tester une grande bibliothèque de composés naturels, en collaboration avec un groupe de recherche en Australie. En outre, en utilisant cette enzyme pour trouver des médicaments, nous avons besoin d'un composé appelé acétyl-CoA. Ce composé est cher et l'offre disponible dans le commerce semble être limitée. Par conséquent, nous avons développé une procédure pour synthétiser ce composé par nous-mêmes. Cela reste cher, mais beaucoup moins cher que l'achat d'acétyl-CoA.

Atelier PMD - PMD-like (MCT8) Paraplégies spastiques de type 2 - Pol R III Autres leucodystrophies hypomyélinisantes

Leucodystrophie liée à l'ARN polymérase III : Le point sur la recherche

Geneviève Bernard -University of McGill Montréal, Canada

La leucodystrophie liée à l'ARN polymérase III (POLR3-HLD), aussi appelée leucodystrophie 4H, est une leucodystrophie hypomyélinisante entraînant un spectre de manifestations neurologiques et non-neurologiques avec un âge de début typiquement dans la jeune enfance. Les caractéristiques cliniques neurologiques de POLR3-HLD incluent des manifestations cérébelleuses importantes (problème d'équilibre, difficulté à bien prononcer les mots, imprécision des mouvements), avec ou sans tremblements, des manifestations pyramidales telles que spasticité (raideur) et réflexes vifs, ainsi que des manifestations dites extra-pyramidales qui consistent en général en de la dystonie (raideur dans les bras et les jambes, qui fluctue avec les émotions et avec des postures anormales associées). Les caractéristiques non-neurologiques de la maladie incluent des anomalies dentaires (exemples : dents petites, dents manquantes, retard d'éruption des dents, anomalies dans l'ordre d'éruption de dents, etc.), des anomalies endocriniennes telles qu'une petite taille et, plus typiquement, anomalies pubertaires (i.e. arrêt pubertaire ou absence de puberté), et myopie. Plusieurs leucodystrophies décrites dans les années 2000 sont maintenant regroupées sous cette leucodystrophie puisqu'elles ont des caractéristiques cliniques similaires et sont causées par des mutations dans les mêmes gènes ; le syndrôme de 4H (Hypomyélinisation, Hypodontie et Hypogonadisme Hypogonadotrope), l'ADDH (« Ataxia, Delayed Dentition and Hypomyelination »), la leucodystrophie TACH (« Tremor-Ataxia with Central Hypomyelination »), la leucodystrophie avec oligodontie et le syndrôme HCAHC (« Hypomyelination with Cerebellar Atrophy and Hypoplasia of the Corpus Callosum »).

POLR3-HLD est une maladie dite autosomale récessive, causée par des mutations dans les gènes POLR3A, POLR3B ou POLR1C. Jusqu'à ce jour, plus de 100 patients avec cette maladie ont été publiés avec des mutations dans un ou l'autre de ces gènes. Les

gènes POLR3A et POLR3B codent pour les deux plus grandes sous-unités d'une enzyme nommée ARN polymérase III, et, ensembles, forment le centre actif ou catalytique du complexe composé de 17 sous-unités. Le gène POLR1C code pour une sous-unité commune à l'ARN polymérase I et l'ARN polymérase III. Aucun patient ne possède deux mutations nulles, c'est-à-dire deux mutations qui entraineraient l'absence complète de la protéine pour laquelle le gène code. En effet, ceci n'est pas surprenant étant donné le rôle primordial de l'ARN polymérase III : la transcription d'ADN codant pour de petits ARNs primordiaux pour la survie de la cellule. Les travaux afin de comprendre la raison pour laquelle des mutations dans les gènes POLR3A, POLR3B et POLR1C causent une leucodystrophie hypomyélinisante ont démontré que les mutations peuvent avoir un effet sur l'assemblage de l'enzyme en altérant les interactions entre les sous-unités, causer altérer l'importation de l'enzyme dans le noyau ou encore avoir un effet sur la liaison du complexe avec l'ADN. Tous ces mécanismes entrainent ultimement une transcription anormale de l'ADN en ARN. Des efforts ont été déployés dans les dernières années afin de développer un modèle animal de la maladie. Malheureusement, la souris avec mutations dans Polr3a est en parfaite santé. D'autres études sont en cours pour bien comprendre l'effet des gènes mutés sur le développement de la myéline, qui, nous l'espérons, ouvriront la porte sur des stratégies thérapeutiques dans le futur. Un nouveau gène causant une leucodystrophie hypomyélinisante, EPRS, a été récemment publié. Ce gène code pour une protéine ayant un rôle important dans la traduction de l'ARN en protéines. Les patients avec des mutations dans ce gène présentent une maladie à la frontière entre la leucodystrophie 4H et la leucodystrophie HBHL causée par des mutations dans le gène de la même famille, DARS. Le nombre de gènes identifiés qui codent pour des protéines importantes pour la production de protéines, soit parce qu'ils sont impliqués dans la transcription ou la traduction, ne cesse d'augmenter. Cela nous laisse croire à un mécanisme similaire pour ce sous-groupe de leucodystrophies hypomyélinisantes. Notre hypothèse est que l'hypomyélinisation survient parce que la myélinisation du cerveau demande aux oligodendrocytes (cellules qui produisent la myéline) une énorme synthèse protéique durant le développement.

La découverte de nouveaux gènes associés à des leucodystrophies hypomyélinisantes a permis à de nombreux patients et leurs familles d'obtenir un diagnostic génétique précis et un conseil génétique approprié. Des études cliniques, radiologiques et pathophysiologiques sont toujours en cours afin de mieux comprendre l'étendue des manifestations cliniques et radiologiques, des anomalies génétiques et bien entendu, la pathophysiologie de cette maladie afin de pouvoir éventuellement développer des stratégies thérapeutiques.

Matthias Klugmann - School of Medical Science Sydney, Australie

Modèles précliniques et approches thérapeutiques pour le trouble de la substance blanche HBSL

L'hypomyélinisation avec atteinte du tronc cérébral et de la moelle épinière et spasticité des jambes (HBSL) est une leucoencéphalopathie récemment identifiée présentant des anomalies motrices, une déficience cognitive et un profil distinct d'hypomyélinisation. HBSL est une maladie dont le spectre clinique s'étend d'une apparition précoce de la maladie avec une déficience sévère, à l'apparition tardive avec une présentation clinique légère. La maladie est causée par une aspartyl-ARNt synthétase cytoplasmique défectueuse, l'enzyme codée par le gène neuronal DARS. La fonction canonique de l'enzyme DARS est de construire des polypeptides, un mécanisme biologique fondamental connu sous le nom de traduction de protéine. On estime que toutes les mutations connues entraînent une réduction de la fonction de l'enzyme DARS. Des modèles animaux ou cellulaires ne sont pas disponibles pour cette maladie, excluant les études d'étiologie de la maladie (étude des causes) et de validation des traitements expérimentaux.

Afin de mieux comprendre la maladie, il est essentiel d'identifier les zones du cerveau et les types de cellules qui abritent naturellement les plus hauts niveaux d'activité du gène DARS, en évaluant l'expression de l'ARNm ou de la protéine DARS. Nous avons étudié les deux aspects dans le tissu cérébral normal de la

souris ou de l'homme. Globalement, nous avons constaté que dans l'ensemble du cerveau, les quantités d'ARN reflètent celles de la protéine DARS. En accord avec les résultats observés chez la souris, la plus grande quantité de DARS est mesurée dans le cervelet. Les niveaux de DARS dans les différentes régions anatomiques du cerveau sont variables, ce qui est remarquable car cette enzyme devrait être critique dans toutes les cellules du corps. Au niveau des populations cellulaires, l'expression de DARS était la plus forte dans les neurones, un peu plus faible dans les oligodendrocytes, et très faible dans les astrocytes. Le chevauchement net des profils d'expression chez les deux espèces, souris et homme, souligne la portée des études du système de la traduction chez la souris, et montre l'utilité du modèle pour le développement d'interventions thérapeutiques.
Nous avons également caractérisé les souris ayant un allèle Dars-null, en tant que modèle potentiel pour HBSL, par des tests comportementaux spécialisés ainsi que des analyses moléculaires, biochimiques et histologiques. Alors que la fonction des gènes ne peut être étudiée chez les souris Dars-null en raison d'une létalité embryonnaire, les souris hétérozygotes, ayant un allèle fonctionnel, sont généralement normales. Cependant, ces souris transporteurs Dars-null présentent un trouble de l'attention. Ce phénotype relativement bénin est assez robuste pour servir de point de mesure pour tester l'efficacité de traitements sur la maladie HBSL. Ces animaux porteurs Dars-null se sont également révélés instrumentaux, permettant par croisements, de sensibiliser des lignées de souris mutantes dotées des mutations ponctuelles bénignes homozygotes de Dars, et provoquant HBSL. D'autre part, nous avons produit et caractérisé des vecteurs de thérapie génique virale DARS conçus pour permettre l'expression de gènes dans les neurones. Cette approche sera complétée par la production de vecteurs permettant la délivrance du gène DARS dans les oligodendrocytes. Nous émettons l'hypothèse que la possibilité de cibler différents types de cellules dans les modèles de souris HBSL, va nous permettre d'identifier la lignée cellulaire et les régions cérébrales anatomiques les plus sensibles au remplacement du gène DARS. Ces connaissances faciliteront la conception de produits thérapeutiques, non seulement pour l'hypomyélinisation avec atteinte du tronc cérébral et de la moelle épinière et spasticité des jambes, mais plus largement pour les maladies du système nerveux central causées par la perte d'autres aminoacyl-ARNt-synthétases.

Approches utilisant les cellules souches pour comprendre et traiter la maladie de Pelizaeus Merzbacher

Paul Tesar -Case Western Reserve Clevelan, USA

Les leucodystrophies sont considérées comme des maladies génétiques car elles sont causées par des mutations spécifiques dans l'ADN des patients. L'ADN fournit à la cellule un code d'instructions l'informant de la façon correcte de fonctionner, et les cellules qui ont un code d'ADN défectueux ne sont pas capables d'exécuter leurs fonctions normales. Dans les leucodystrophies, les mutations dans le code de l'ADN entraînent des lésions ou un dysfonctionnement d'un type cellulaire particulier dans le cerveau appelé oligodendrocytes. Ces cellules produisent normalement une substance appelée myéline, qui est nécessaire pour une signalisation électrique correcte dans le cerveau. Lorsque les oligodendrocytes perdent leur capacité à organiser une myélinisation adéquate, en raison de certaines mutations de l'ADN, la signalisation électrique du cerveau est perturbée. Il en résulte une maladie grave. Un remède à ces troubles nécessiterait de surmonter les effets des mutations de l'ADN dans les oligodendrocytes et de restaurer une myéline normale. Le laboratoire du Dr. Tesar a mis au point le premier système de laboratoire permettant de tester des milliers de médicaments, ceci afin de restaurer la myéline dans le cerveau des patients atteints de leucodystrophie, et en particulier ceux atteints de la maladie de Pelizaeus Merzbacher (PMD). Nous avons mis au point une nouvelle technologie permettant d'identifier les médicaments qui stimulent les cellules souches déjà présentes dans le cerveau du patient et qui leur permet d'apprendre à remplacer la couche de myéline manquante autour des nerfs. Deux de ces médicaments testés dans les modèles murins de la maladie de Pelizaeus Merzbacher ont montré leur efficacité à restaurer la fonction des cellules et améliorent la durée de vie. Ces médicaments sont actuellement évalués plus avant pour envisager des tests cliniques chez les patients atteints de la maladie de Pelizaeus Merzbacher.

Atelier AGS

Traitements dans le syndrome d'Aicardi-Goutières (AGS)

Yanick Crow et John Livingston- Institut Imagine et Hôpital Necker Enfants Malades Paris, France

Le syndrome d'Aicardi-Goutières (AGS) est une maladie génétique qui endommage la substance blanche du cerveau. En collaboration avec des familles et des médecins du monde entier, nous avons identifié 7 gènes qui, lorsqu'ils sont altérés, provoquent le syndrome d'Aicardi-Goutières. Ces gènes fournissent les instructions pour la fabrication de produits chimiques impliqués dans l'élimination de « déchets » d'ADN et d'ARN produits pendant le cycle de vie normal de nos cellules. Il est important de noter que les humains utilisent l'ADN et l'ARN « étrangers » comme un signal pour répondre à la présence de virus dans nos cellules. Ainsi, un échec du processus d'auto-nettoyage dans le syndrome d'Aicardi-Goutières provoque l'accumulation de l'ADN et de l'ARN, que le système immunitaire « identifie » alors comme un virus et tente d'attaquer en produisant un produit chimique appelé interféron. Cette réponse auto-immune entraîne une inflammation du cerveau,

une perte de substance blanche et de graves problèmes physiques et mentaux. Par notre travail clinique, nous savons que bien que le processus inflammatoire du syndrome d'Aicardi-Goutières commence habituellement dans la petite enfance, ce « processus dommageable » dure plusieurs mois. Par conséquent, si les traitements étaient commencés assez tôt, nous croyons qu'il pourrait être possible de réduire les dommages cérébraux dévastateurs qui autrement surviennent.

Sur la base de travaux réalisés sur un modèle animal d'une forme génétique du syndrome d'Aicardi-Goutières, et de données expérimentales relatives à tous les types de syndrome d'Aicardi-Goutières actuellement connus, nous avons décidé de déterminer si le traitement des patients AGS avec des inhibiteurs de la transcriptase inverse - qui sont utilisés pour traiter certains virus, en particulier le VIH - pourrait aider les patients atteints du syndrome d'Aicardi-Goutières en réduisant la quantité de signalisation interféron. C'est le sujet de notre essai clinique. Avec toutes les autorisations nécessaires en place, nous avons pu commencer à traiter notre premier patient en septembre 2015. Nous avons recruté 11 patients au total. Nous n'avons observé aucun effet secondaire majeur ou inattendu avec les médicaments testés. Cependant, certains patients ont éprouvé des difficultés à prendre le médicament en raison des volumes de sirop requis, aggravés par les difficultés neurologiques à avaler de certains enfants. Par conséquent, 8 patients ont pu compléter 12 mois de traitement.

En analysant les données, nous avons observé une réduction importante de la quantité du signal interféron chez les patients pendant le traitement, par rapport à la quantité du signal avant et après l'essai. Nous avons également observé des changements marqués dans le flux sanguin dans le cerveau pendant le traitement chez 3 des 8 patients.

En raison de la taille limitée de l'essai, il n'est pas possible de tirer des conclusions définitives. Cependant, les résultats que nous avons obtenus indiquent que les inhibiteurs de la transcriptase inverse pourraient avoir un effet chez certains patients atteints du syndrome d'Aicardi-Goutières, suggérant que nous avons apporté de nouvelles connaissances importantes pour savoir comment traiter cette maladie.

Atelier LDI (leucodystrophies indéterminées) et génétique

Nicole Wolf - VU University Medical Center Amsterdam, Pays-Bas

Qu'est-ce que la substance blanche du cerveau ? Une introduction

Environ la moitié de la substance blanche du cerveau est constituée de myéline, une couche membranaire entourant les fibres nerveuses, et produite par les oligodendrocytes. L'autre moitié est constituée de fibres nerveuses (« axones »), d'astrocytes, de la microglie et de petits vaisseaux sanguins. Dans les leucodystrophies, tous ces composants peuvent être affectés. Certains gènes impliqués dans les leucodystrophies affectent directement le développement de la myéline ou des oligodendrocytes, mais beaucoup affectent les processus cellulaires généraux comme la synthèse des protéines. Pourquoi, dans ce dernier cas, la substance blanche du cerveau est affectée alors que d'autres organes ne le sont pas ; Cela n'est pas encore compris.

En utilisant des méthodes génétiques modernes comme le séquençage de nouvelle génération (NGS) de panels de gènes, ou le séquençage de l'exome entier (WES), le groupe des leucodystrophies « indéterminées » (= leucodystrophies sans diagnostic génétique) est toujours en diminution. Dans notre cohorte de leucodystrophies hypomyélinisantes, le pourcentage de cas non résolus a chuté d'environ 50 % il y a 4 ans, à environ 10-15 % maintenant (et dans le dernier groupe non diagnostiqué, tous les patients n'ont pas encore eu un séquençage de l'exome entier). Les cas encore non résolus sont des troubles « ultra-rares », rendant indispensable la collaboration entre les centres. Pour ce faire, les chercheurs utilisent des contacts personnels, des collaborations existantes, mais aussi de plus en plus de grandes bases de données. Cependant, il n'est pas toujours possible de résoudre le problème de la causalité même avec cette approche « globale ». Les tests fonctionnels dans des modèles animaux (poisson-zèbre, souris) pourraient aider à résoudre cette question de causalité, d'une découverte génétique donnée, mais cela prend du temps et coûte cher.

Lexique scientifique

- **Acide gras :** substance chimique formée d'une chaîne d'atomes de carbone, la plupart des acides gras du corps ont une longueur de 16 à 20 atomes. On parle d'acide gras à longue chaîne pour une longueur de 14 à 22 carbones et à très longue chaîne ou AGTLC s'il y a plus de 22 carbones.

- **Acide nucléique :** les acides nucléiques sont des molécules complexes et de très grande taille présentes dans les cellules. Il existe deux types d'acide nucléique dans nos cellules : acide désoxyribonucléique (ADN) et l'acide ribonucléique (ARN).

- **ADN :** acide désoxyribonucléique. C'est une longue chaîne (ou polymère) formée de quatre nucléotides (adénosine, cytosine, guanine et thymine). Elle forme le code génétique qui fait fabriquer des protéines à la cellule.

- **ARN :** acide ribonucléique. Il est produit à partir de l'ADN.

- **Allèle :** version d'un gène sur un chromosome. Chaque individu ne peut détenir que deux allèles d'un gène, un sur chaque chromosome, localisés dans la même région chromosomique.

- **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.

- **Axone / axonal :** prolongement long (voir très long), mince et cylindrique d'un neurone qui conduit les impulsions électriques. Les nerfs sont constitués de faisceau d'axones. Les axones peuvent être entourés de myéline.

- **Barrière hémato-encéphalique :** barrière qui isole partiellement le système nerveux central de la circulation sanguine pour protéger les cellules nerveuses d'influences externes.

- **Cellule souche :** cellule pouvant donner des cellules spécialisées (différenciation) et pouvant se renouveler indéfiniment.

- **Cognitif :** faculté du cerveau de penser, d'emmagasiner et de traiter de l'information afin de résoudre certains problèmes.

- **Démyélinisation :** destruction de la gaine de myéline.

- **Enzyme :** molécule permettant des réactions chimiques biologiques, donnant un ou des produits à partir d'un ou de plusieurs éléments appelés substrats.

- **Exome :** partie du génome correspondant aux exons, c'est-à-dire aux séquences d'ADN (gène) utilisées pour synthétiser les protéines qui permettent le fonctionnement de l'organisme.

- **Génome :** ensemble du matériel génétique d'une cellule (ADN), dont les gènes.

- **Hétérozygote :** personne ayant deux allèles différents du même gène. Si un allèle est muté, la personne est dite « conductrice » de la mutation. Une personne hétérozygote composite présente deux allèles mutés d'un gène à deux endroits différents dans le gène.

- **Histoire naturelle :** évolution spontanée de la maladie.

- **Hypomyélinisation :** faible production de la myéline.

- **Leucoencéphalopathie :** désigne, de façon générale, toutes les atteintes de la substance blanche du cerveau.

- **Moelle épinière :** portion centrale du système nerveux chez les vertébrés, qui descend du cerveau en passant par les arcs des vertèbres et distribue presque tous les nerfs aux divers organes du corps.

- **Myéline :** enveloppe protectrice qui entoure les axones et permet la conduction des signaux électriques tout le long du nerf. La myéline agit comme un isolant électrique qui augmente l'efficacité de la conduction de l'influx nerveux.

- **Neurone :** cellule du système nerveux qui assure le traitement de l'information et sa communication (via les annexes).

- **Oligodendrocyte :** cellule non nerveuse du système nerveux central fabriquant la myéline.

- **Pathogène :** définit ce qui est à l'origine d'une maladie (organismes, virus, molécules).

- **Récessif :** se dit d'un gène dont le caractère ne s'exprime pas par rapport au gène dominant. Si deux copies récessives sont présentes dans le génome, le caractère récessif s'exprime (et peut être visible).

- **Spasticité / spastique :** augmentation de tonus de certains muscles, responsable d'une raideur et de contractures entraînant une restriction de la mobilité.

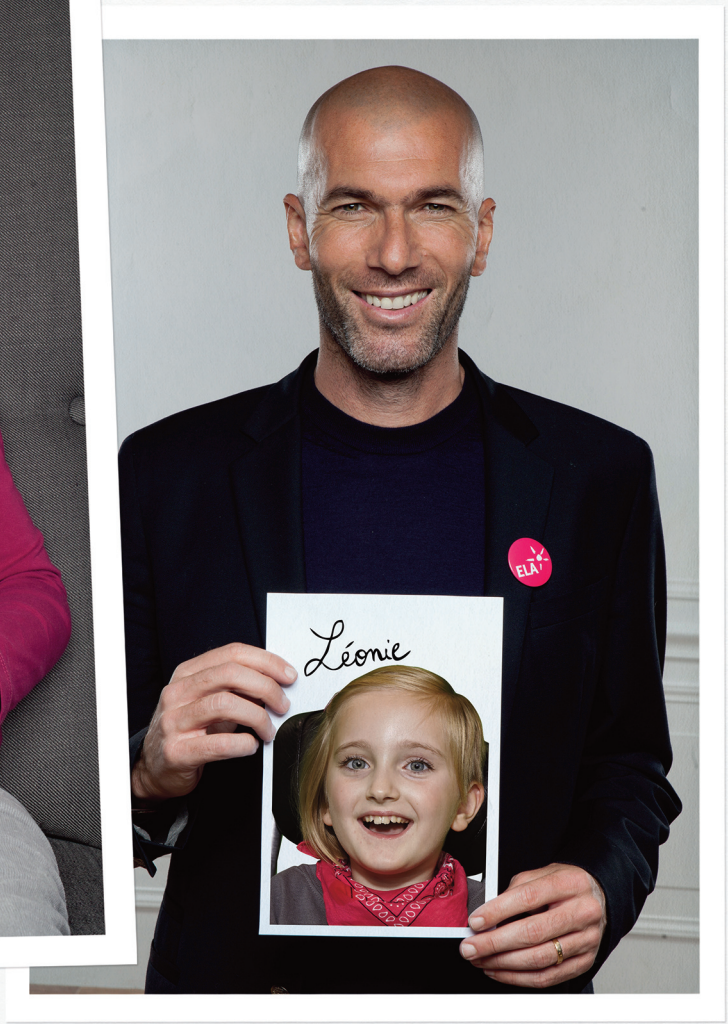
- **Substance blanche :** zone de circulation de l'information nerveuse qui contient les axones. La couleur blanche est due à la gaine de myéline qui entoure ces fibres nerveuses.

- **Substance grise :** partie du système nerveux central composée essentiellement des corps cellulaires des neurones et de certaines cellules gliales. Elle a pour rôle de réceptionner les messages et d'analyser les informations afin d'élaborer les réponses.

- **Système nerveux central (SNC) :** le système nerveux central est la partie du système nerveux située dans la boîte crânienne et la colonne vertébrale. Il se compose de tissu nerveux (neurones), glial et vasculaire. Il est entouré par les méninges.

- **Système nerveux périphérique (SNP) :** partie du système nerveux formée de ganglions et de nerfs qui fait circuler l'information entre les organes et le système nerveux central et réalise les commandes motrices et sensitives de ce dernier.

À chacun ses héros.



Vous aussi vous pouvez devenir un héros en aidant les enfants touchés par une leucodystrophie.

Léonie est atteinte d'une maladie génétique dégénérative du cerveau qui paralyse peu à peu toutes ses fonctions mentales et motrices : une leucodystrophie. Mais elle est avant tout une petite fille qui se bat avec beaucoup de courage, et c'est ce qui force l'admiration de Zinédine Zidane. Chaque semaine en France, entre trois et six enfants naissent avec cette maladie terrible. En faisant un don, vous ferez partie de la plus belle équipe du monde : celle qui veut gagner contre les leucodystrophies.

Pour faire un don : www.ela-asso.com
ELA – CS 61024 – 54521 LAXOU Cedex – CCP 03 894 57 A Nancy
Tél. : 03 83 30 93 34

DON PAR SMS

Soutenez le combat d'ELA en faisant un don par SMS !
Pour faire un don de 5€ pour ELA, envoyez ELA par SMS* au 92 912

*SMS non surtaxé. Montant prélevé sur facture pour les opérateurs éligibles. Consultez nos CGU sur notre site www.ela-asso.com

ELA
ASSOCIATION EUROPÉENNE CONTRE LES LEUCODYSTROPHIES

L'espoir est là !

LES AIGUILLEURS Photos : François Darmigny / Maybe