

LA FONDATION GROUPAMA POUR LA SANTÉ, CRÉÉE EN 2000 À L'OCCASION DU CENTENAIRE DE GROUPAMA, EST ENTIÈREMENT DÉDIÉE À LA LUTTE CONTRE LES MALADIES RARES.

ELLE S'EST FIXÉ 3 MISSIONS FONDAMENTALES :

- Favoriser le diagnostic par la diffusion des connaissances sur ces maladies
- Faciliter le quotidien des patients et de leur famille en soutenant leurs associations
- Encourager la recherche médicale par l'attribution de bourses

Cet engagement est relayé par les Caisses Régionales Groupama.

JOURNÉE
INTERNATIONALE DE
**SENSIBILISATION
SUR L'ATAXIE**

➤ Mardi 25 septembre 2012

LES DIFFÉRENTS PARTENAIRES



espoirs
Collection Maladies Rares

Éditeur : Fondation d'entreprise Groupama pour la santé
Siège social : 8/10 rue d'Astorg - 75008 Paris
Tél : 01 44 56 32 18 - info@fondation-groupama.com
www.fondation-groupama.com



SOMMAIRE

- 2 ➤ OUVERTURE
- 5 ➤ SESSION 1
- 19 ➤ SESSION 2
- 47 ➤ SESSION 3
- 81 ➤ SESSION 4

Ouverture



Giovanni STEVANIN
Docteur en biologie,
Directeur de recherche
Inserm à l'Institut du
Cerveau et de la Moelle
épineuse, Professeur à
l'École Pratique des
Hautes Études

■ Giovanni STEVANIN

Bonjour à toutes et à tous.

Soyez les bienvenus à cette journée internationale de sensibilisation à l'ataxie, qui a pour but d'informer les patients et leurs familles sur les avancées de la recherche sur les causes de l'ataxie et les progrès vers la thérapie. Elle constitue également l'occasion, pour les chercheurs, d'être confrontés aux questions des malades, ce qui n'arrive pas assez souvent. Il s'agit également de mieux sensibiliser à cette maladie, qui souffre de ne pas être suffisamment connue à la fois du public et des scientifiques. Nous sommes heureux d'accueillir de futurs chercheurs qui seront amenés, pour la plupart d'entre eux, à travailler sur les maladies humaines, voire les maladies génétiques rares et peut-être même l'ataxie. Il s'agit d'étudiants de l'École Supérieure des Techniques de Biologie Appliquée (ESTBA, niveau licence) et de l'École Pratique des Hautes Études (EPHE, deuxième et troisième cycles universitaires).

Je remercie l'association française contre l'ataxie de Friedreich (AFAF) et l'association Connaître les Syndromes Cérébelleux (CSC) qui ont rendu possible cette journée, ainsi que tous les orateurs qui s'exprimeront, dont certains font partie du réseau international Spatax coordonné par le docteur Alexandra Durr. Tous participent à la recherche sur l'ataxie.

Je remercie également l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, qui nous accueille aujourd'hui, ainsi que nos deux sponsors : GATC-Biotech, une société qui réalise des prestations pour les chercheurs (séquençage d'ADN, exome et bioinformatique pour l'industrie et la recherche académique) et

la Fondation Groupama pour la santé, qui a rendu possible cet événement et aidera à la réalisation des actes de cette journée.

Je remercie également pour sa présence, Claire Rochette, du Généthon et de l'École de l'ADN qui a tenu à être présente aujourd'hui.

Chaque intervention scientifique ne sera suivie que d'une très courte séance de questions, mais des échanges approfondis pourront avoir lieu entre les scientifiques, les médecins, le public et les patients dans le cadre de la table ronde prévue en toute fin de journée.

Je vous remercie pour votre présence et je cède sans tarder la parole à Gabriel de Montfort, Délégué général de la Fondation Groupama pour la santé.

■ Gabriel de MONTFORT

Je suis très heureux d'être présent parmi vous aujourd'hui. Voilà près de huit ans que la Fondation Groupama pour la santé, l'AFAF et CSC travaillent ensemble. Nous avons tissé de véritables liens de confiance avec Juliette Dieusaert et Hubert Bœuf, et nous accomplissons de nombreux projets pour les patients et les chercheurs.

La Fondation Groupama pour la santé est exclusivement consacrée à la lutte contre les maladies rares, et ce depuis 12 ans. Elle a été créée en même temps que d'autres institutions, comme l'Alliance Maladies rares qui fédère plus de 200 associations de personnes atteintes d'une maladie rare. Nous travaillons également avec Orphanet et, depuis cette année, avec la Fondation maladies rares, créée par les pouvoirs publics dans le cadre du deuxième plan national maladies rares.

La Fondation Groupama pour la santé agit dans trois domaines : l'errance diagnostique, l'accompagnement et la recherche.

Le parcours d'une personne atteinte d'une maladie rare commence souvent par une période d'errance diagnostique. A cet égard, nous travaillons avec les associations pour améliorer la diffusion de l'information sur les maladies rares. Nous avons, par exemple, élaboré avec l'association CSC un fascicule pour que les enseignants puissent mieux prendre en charge leurs élèves atteints d'une maladie rare.



Gabriel de MONTFORT
Délégué général de la Fondation
Groupama pour la santé

Ensuite, une fois que le diagnostic a été posé et que le patient sait quelle est sa maladie, il a besoin d'être accompagné, de rencontrer d'autres personnes – aussi peu nombreuses soient-elles, dès lors qu'il s'agit d'une maladie rare. Aussi encourageons-nous les associations à rompre la solitude. Avec les associations AFAP et CSC, nous avons soutenu un beau projet d'écoute téléphonique, dans le cadre duquel deux psychologues sont à disposition des patients un après-midi par semaine, pour les accompagner au fur et à mesure de l'évolution de l'ataxie. L'accompagnement des familles et des malades est primordial pour leur permettre de mieux affronter la vie quotidienne.

Enfin, les familles accordent toute son importance à la recherche, qu'elles soutiennent et encouragent. Pour notre part, nous soutenons régulièrement de jeunes chercheurs qui se destinent à faire une thèse dans le domaine des maladies rares. C'est notamment le cas à la Pitié-Salpêtrière, où un médecin chercheur effectue actuellement sa thèse sur la dystonie. A ce jour, la Fondation Groupama pour la santé a soutenu 26 jeunes chercheurs dont le sujet de thèse concernait les maladies rares.

J'espère que nous travaillerons de longues années encore avec les associations AFAP et CSC pour aider les patients, soutenir la recherche, mais aussi mieux informer le grand public et les médecins sur ces pathologies.

■ Giovanni STEVANIN

Je vous propose d'entamer notre première session, qui prendra la forme de témoignages de patients et de membres de leurs familles.



1. SESSION 1

Témoignages CSC

- 6 ➤ Pourquoi je crois en la recherche ?
- 8 ➤ L'ataxie indéterminée au quotidien

Témoignages AFAP

- 11 ➤ L'ataxie de Friedreich
- 13 ➤ Vivre avec une ataxie récessive au quotidien

Témoignages CSC

➤ Pourquoi je crois en la recherche ?



Cécile HUCHET
Présidente de CSC

Chers amis, je suis très heureuse que nous soyons ensemble aujourd'hui. Les associations de patients, leurs familles et amis, les chercheurs, les cliniciens, le réseau SPATAX et tous les acteurs concernés par ce combat œuvrent ensemble. Cette journée en est la preuve. Ce combat juste nous est commun. C'est le nôtre. Chacun apporte sa pierre pour que, demain, guérir soit une réalité.

Croyons-nous en la recherche ? Je pense que si la réponse se trouvait être négative, nous ne serions pas là aujourd'hui ! Ma réponse à cette question est donc oui. La recherche représente l'espoir, pour moi. Et l'espoir, c'est tout simplement la vie ! Cette vie qui, souvent, est injuste. Comment faire pour continuer un bout de chemin avec elle sans espérer des jours meilleurs ?

Je m'explique et me présente. Je m'appelle Cécile Huchet. J'ai 37 ans. J'ai appris accidentellement – les oreilles des enfants n'étant parfois pas toujours là où les adultes le voudraient – à l'âge de 7 ans que mon grand-père, que j'avais toujours connu en fauteuil roulant, y était précisément parce qu'il était atteint d'une maladie. Jusque-là, rien de très effrayant. Mais ma mère commençait elle aussi à être atteinte des mêmes troubles que mon grand-père. Imaginez-vous, à 7 ans, comprendre qu'il existe un mal dans la famille, une maladie qui non seulement vous cloue dans un fauteuil roulant mais qui, de plus, vous empêche de vous mouvoir et de vous exprimer ! Et que cette maladie, votre grand-père vient d'en décéder et votre mère en est atteinte. Alors... Et vous ? Et moi ?

11 ans plus tard, le baccalauréat en poche, je décide de faire des études de pharmacie. Pas pour avoir une officine, non ! Pour travailler en

laboratoire, faire de la recherche. Ne réussissant pas à passer la barrière du *numerus clausus* deux années de suite, je change mon fusil d'épaule. La maladie de ma mère est alors génétiquement identifiée, grâce aux progrès réalisés par les scientifiques et au Téléthon : il s'agit de l'ataxie de type SCA3 (Spino Cerebelar Ataxia de type 3). J'en apprend un peu plus à la bibliothèque de médecine pharmacie, notamment que cette maladie porte également le nom de maladie de Machado-Joseph. Peu de temps après, j'apprends l'existence d'une association française qui lutte contre toutes les ataxies : l'association Connaitre les Syndromes Cérébelleux. Désormais, je me battraï à ses côtés.

Je ne voulais toutefois pas occuper de poste à responsabilités – tant que j'étais en activité du moins. Eh oui, car ce mal, ce monstre, cette maladie neurodégénérative a fini par me toucher également. J'avais 29 ans quand on m'a certifié que les pertes d'équilibre que je ressentais n'étaient pas seulement psychosomatiques. Et, suite à deux opérations importantes – sans lien avec l'ataxie –, celle-ci a profité de ma convalescence pour évoluer.

Je préside aujourd'hui CSC depuis plus de deux ans. Mon combat ne se limite plus à une ataxie, mais concerne les ataxies et d'autres symptômes cérébelleux de l'adulte ou de l'enfant.

Que j'aimerais que beaucoup de parents puissent enfin dire, comme cette maman, que son enfant est né « indemne du monstre qui détruisait sa famille » après avoir eu recours au diagnostic prénatal (DPN) ! Pour que les DNP ou les DPI (diagnostic préimplantatoire) soient possibles, la maladie doit au moins être localisable, voire identifiable génétiquement. Pour moi, la recherche n'est plus simplement celle que l'on fait dans les tubes à essai et qui est montrée au grand public, appelée recherche fondamentale. C'est également celle qui vise à améliorer les conditions de vie, la qualité de la vie : la recherche dite clinique. En effet, la fatigue, la douleur, les problèmes de vision ou encore de déglutition ne doivent pas être oubliés.

Même si je sais que je ne verrai peut-être pas le résultat de mon combat, le jour où ces ataxies seront guéries, j'ai encore les manches relevées et je suis prête à continuer à me battre ! Chercheurs, continuez à travailler, pour donner de l'espoir, de la vie. Accompagnez-moi ! Accompagnez-nous ! Ensemble, plus fort que tout ! Merci à vous nos chers, très chers chercheurs et à vous patients, si patients. Merci à tous !

⏪ Je suis prête à continuer à me battre... ⏩

Cécile Huchet

Témoignages CSC

➤ L'ataxie indéterminée au quotidien



Sylvain LEVEILLE

En l'absence de Sylvain Leveille, ce témoignage a été lu par Hubert Bœuf.

Bonjour, je voudrais tout d'abord remercier Hubert Bœuf de me donner l'occasion de témoigner devant vous. En effet, je ne peux pas être présent aujourd'hui. J'habite près de Toulouse. Je suis obligé de limiter mes déplacements et, de plus, j'ai aujourd'hui un rendez-vous fixé depuis un an avec le neurologue qui me suit.

Je me nomme Sylvain Leveille. J'ai 47 ans. Je suis marié et nous avons deux garçons de 15 et 10 ans. Mon ataxie a été diagnostiquée il y a une dizaine d'années, fin 2001, suite à une visite chez un médecin spécialiste du sport pour un problème de genoux, à Bordeaux. Sa curiosité, sa clairvoyance, ses connaissances et son ouverture d'esprit ont contribué à m'orienter vers un neurologue. J'avais fait, comme il me l'avait prescrit, une IRM du crâne. Je vous laisse imaginer ma première réaction, sachant que je le consultais pour une douleur ponctuelle aux deux genoux ! Il s'est avéré que mes douleurs aux genoux étaient dues à un syndrome rotulien d'origine mécanique et majorées par la pathologie neurologique.

J'ai fait des recherches généalogiques et avec un généticien, le docteur Goizet de l'hôpital Pellegrin à Bordeaux, des analyses spécifiques qui n'ont pas abouti à des résultats probants et ne m'ont malheureusement pas permis de mettre un nom précis sur mon ataxie. Le médecin a pu préciser un peu son diagnostic en octobre 2003, et m'annoncer que mon ataxie semblait être une ataxie cérébelleuse sporadique d'allure dégénérative, soit une dégénérescence spino-cérébelleuse de début précoce dans la vie et d'évolution très lentement progressive. L'ataxie se serait déclarée lorsque j'étais adolescent (des souvenirs que je peux



en avoir), mais mes problèmes d'élocution n'avaient pas paru, alors, alarmants. Les quelques examens faits depuis, à Toulouse, n'ont guère précisé les choses. Il s'avère que je semble être le seul ou le premier à avoir cette maladie dans ma famille.

Professionnellement – j'étais ingénieur consultant –, si les conséquences n'ont pas été immédiates, j'ai pris les devants vis-à-vis de mon employeur et me suis assez rapidement retrouvé au siège de la société à un poste sédentaire et, dixit le médecin du travail, « sans confrontation orale avec la clientèle ». Je travaille à mi-temps depuis 2005. Si au début cela me semblait plus prévisionnel et relevant du principe de précaution, cela s'avère maintenant indispensable à cause de ma fatigabilité accrue. Depuis 2007 environ, je bénéficie d'un service de transport qui assure mes trajets domicile-travail étant donné que je ne conduis plus que pour des petits trajets, et si possible pas « en ville ».

Je vois la durée quotidienne de mes journées se raccourcir et la sieste est devenue progressivement absolument indispensable. Elle ponctue mes journées. Mon investissement associatif s'est trouvé lui aussi limité, même si je continue à m'investir dans quelques associations locales de personnes handicapées ou de parents d'élèves et surtout CSC. De façon générale, je mets beaucoup plus de temps pour faire les choses, comme le bricolage, par exemple, et les ruptures de rythme me demandent un temps d'adaptation de plus en plus long ! La fatigue me tombe dessus sans que je puisse faire quelque chose. Je peux continuer à m'activer, c'est juste une question de temps et de rythme.

❖ L'ignorance dans laquelle nous sommes est difficile pour nous et tous les nôtres. ❖

Sylvain Leveille

Je ne sais pas si vous connaissez la publicité pour les piles Duracel®. Deux lapins jouent ou font la course. Evidemment, celui qui a les piles Duracel® reste sur piste plus longtemps que l'autre. Cette publicité en reprend une autre des années 80, je crois, dans laquelle Bernard Tapie s'activait grâce à l'énergie de ses « piles ». Que les jeunes m'excusent pour cette référence ! Je trouve, cependant, l'image très parlante – sachant que je m'identifie au lapin (ou à celui) qui s'arrête rapidement...

Outre les incertitudes pour moi-même et mon épouse quant à l'évolution de ma maladie et de mes capacités, je me retrouve dans l'incapacité de pouvoir répondre précisément aux inquiétudes de mes enfants et de pouvoir les rassurer quant à leur devenir vis-à-vis de la maladie. Cette incapacité est largement renforcée par le fait que je ne peux pas, tout simplement, mettre de nom précis sur ma maladie.

Il est souvent regrettable que la maladie soit peu connue ou par peu de spécialistes. Malheureusement, c'est un peu le propre des maladies rares. J'apprécie de pouvoir faire connaître cette maladie ou de rencontrer des personnes du milieu médical connaissant la pathologie ou voulant en connaître plus, et qui peuvent nous aider. Pour moi, la recherche est donc très importante, même si comme l'a si bien dit un chercheur lors d'une présentation à une réunion de CSC : « Le temps du chercheur n'est pas celui du malade », qui voudrait qu'elle aille plus vite ! J'y contribue donc autant que je peux et je regrette, par exemple, de ne pas pouvoir participer à l'étude BIOSCA étant donné que mon ataxie est idiopathique. La fatigue apparaît souvent comme très handicapante pour les personnes atteintes d'ataxies, elle l'est pour moi. Mon espoir réside donc dans une prochaine solution réduisant cette fatigue.

Mesdames, Messieurs les chercheurs et les médecins aidez-moi s'il vous plaît. Aidez-nous. Identifiez vite l'origine de nos ataxies sporadiques et idiopathiques. L'ignorance dans laquelle nous sommes est difficile pour nous et tous les nôtres. Mon espoir, le nôtre, celui de nos familles, c'est vous !

Je vous remercie pour votre attention et votre bienveillance.

Témoignages AFAF ➤ L'ataxie de Friedreich

Je suis vice-présidente de l'AFAF dont je représente la présidente Juliette Dieusaert qui n'a pas pu être présente aujourd'hui. Je suis moi-même mère d'un fils ataxique qui nous a quittés voilà quatre ans déjà – période à laquelle j'ai décidé de m'investir davantage encore dans l'association. Je souhaite rendre hommage à Bernard Verne, fondateur de l'AFAF il y a 32 ans et présent avec nous aujourd'hui. Il a plus de 60 ans et est grand-père. Vous voyez donc que les symptômes de la maladie varient significativement d'un individu à un autre.

Avant le témoignage de Gwénaél Martin sur la vie des malades au quotidien, permettez-moi de dire un mot sur l'ataxie de Friedreich elle-même. Contrairement aux ataxies dites dominantes, représentées par notre association jumelle CSC, l'ataxie de Friedreich est récessive. Son annonce arrive comme un coup de tonnerre dans les familles.

Cette maladie, qui débute très souvent vers l'âge de 7 ans par des troubles de l'équilibre, se caractérise par des pieds creux et une déformation de la colonne vertébrale. Ses symptômes ne sont pas aisément identifiés, même si les neurologues sont de plus en plus informés et si un test génétique permet désormais de poser un diagnostic indiscutable. Les troubles de l'équilibre, de la marche et de l'élocution qui handicapent significativement la vie sociale des malades s'accompagnent d'une intelligence intacte – ce qui est à la fois une bonne chose et une grande difficulté puisque les malades sont pleinement conscients de leur état dégénératif.



Claudie BALEYDIER

Si la recherche fondamentale progresse, la recherche clinique pour l'amélioration du quotidien des malades avance moins rapidement.

Claudie Baleydiier

Lorsqu'on a diagnostiqué l'ataxie de mon fils, à une époque où les connaissances étaient très restreintes, le neurologue – qui était un grand ponte – m'a affirmé que seuls les garçons pouvaient être atteints de cette maladie. C'est faux, puisqu'il s'agit d'une maladie autosomique (non liée au sexe) ! Il m'a aussi indiqué, pour me « consoler », que ces malades étaient dotés d'une intelligence exceptionnelle. Je pense que les choses sont un peu différentes aujourd'hui, notamment grâce à la Fondation Groupama pour la santé et au dispositif d'écoute téléphonique qu'elle a mis en place pour l'ataxie de Friedreich et pour CSC. Lorsqu'ils dépriment – ce qui est fréquent –, les malades peuvent trouver une écoute attentive et professionnelle par deux psychologues qui connaissent très bien ces maladies.

J'aurais également beaucoup à dire sur la recherche fondamentale, qui a significativement progressé depuis une quinzaine d'années. Pierre Rustin, autorité mondiale en la matière et présent aujourd'hui, y participe largement. La recherche fondamentale s'effectue désormais au niveau mondial, les équipes françaises étant en relation avec des équipes européennes et américaines. Il existe d'ailleurs un consortium européen pour les études translationnelles sur l'ataxie de Friedreich (EFACTS), qui a notamment la délicate mission d'établir des registres. D'importantes avancées ont également été enregistrées par le laboratoire d'Ilkirsch, grâce aux travaux d'Hélène Mathieu sur la transformation des cellules souches en neurones.

En revanche, si la recherche fondamentale progresse, la recherche clinique pour l'amélioration du quotidien des malades avance moins rapidement. Grâce à la découverte d'un antioxydant voilà une dizaine d'années par Pierre Rustin, par exemple, nos malades peuvent se voir prescrire de l'idebenone (Mnesis). Malheureusement, le Mnesis bénéficie uniquement d'une ATU (autorisation temporaire d'utilisation). Or depuis la loi Bertrand visant à renforcer la sécurité du médicament suite au scandale du Mediator, nous ignorons si cette ATU sera maintenue. Cette molécule permet pourtant d'améliorer significativement le quotidien des malades, en réduisant leur fatigabilité et leurs difficultés d'élocution.

Pour finir, je vous informe que notre association lance chaque année des appels à bourse. Or cette année, nous n'avons reçu que quatre demandes, dont une était en dehors du champ de l'ataxie de Friedreich. Je vous invite donc, jeunes étudiants futurs chercheurs, à vous orienter dans ce domaine, en particulier celui des biotechnologies puisque le métier de bioinformaticien se développe de plus en plus avec notamment le criblage des molécules à haut débit.

Témoignages AFAF

Vivre avec une ataxie récessive au quotidien

Bonjour à toutes et à tous. Je m'appelle Gwénaél Martin. J'ai 36 ans. Je suis atteint de l'ataxie de Friedreich depuis ma douzième année. Je gère actuellement le forum internet de l'AFAF, que j'ai l'honneur de représenter ici.

Ma première rencontre avec l'ataxie de Friedreich date du printemps 1988. J'avais alors 12 ans. A cette époque, mon manque d'endurance et mon équilibre devenu précaire affectaient mon quotidien. Un judicieux neurologue de l'hôpital de Bourg-en-Bresse, où je résidais à l'époque, m'a diagnostiqué une « maladie » de Friedreich. Le flou dans lequel baignait alors la connaissance de la maladie obligeait à taire le mot « ataxie ».

J'étais donc malade. Cette annonce ne m'est pas apparue comme une fin en soi. Je ressentais, au contraire, le devoir de vivre pleinement cette vie que l'on disait courte et amoindrie. Ma famille et mes amis se sont rangés à mes côtés. En effet, quoi de mieux que de se sentir aimé et soutenu quand le temps et l'espace vous semblent si peu présents, si absents ?

J'ai peu à peu appris à vivre avec la maladie. J'ai fait le deuil de la marche et de la natation. Je me suis accommodé à vivre. Est ensuite arrivé le temps du passage en fauteuil, que j'ai vécu comme une véritable libération, une renaissance avec une plus grande autonomie.

J'ai poursuivi mes études avec une soif insatiable de connaissances. J'ai toujours trouvé dans l'Histoire des modèles spirituels ou humains à suivre, ainsi qu'une forme de plénitude. J'ai donc suivi un cursus d'histoire et d'histoire de l'art, qui m'a permis d'entrer au musée du



Gwénaél Martin

Louvre et d'y occuper depuis dix ans un poste de documentaliste. Mais je subis actuellement un processus de reclassement professionnel.

Désormais, je pense être inscrit humblement dans le sens de l'Histoire. Cette maladie m'aura appris à me dépasser sans cesse, à relativiser les choses et à suivre ma route sans préjuger du lendemain. J'ose croire que c'était un mal pour un bien, tout comme j'ose croire bien sûr que la recherche saura mettre à bas cette épreuve.

Je vous remercie.

■ Claudie BALEYDIER

Ainsi qu'il l'a indiqué, Gwénaél est notre documentaliste pour le forum de l'AFAP. Il nous communique toutes les dernières nouvelles, en matière législative ou pharmaceutique. Il nous est très précieux ! Merci, Gwénaél.

■ Giovanni STEVANIN

Merci pour ces témoignages qui vont certainement amener beaucoup de questions de la salle.



Échange avec la salle

Le passage en fauteuil est parfois vécu par les malades comme une étape obligatoire et terrible. Votre témoignage m'a touchée, car vous avez comparé le passage au fauteuil à une renaissance et un surplus d'autonomie.

■ Claudie BALEYDIER

Je pense en effet que nombre de malades redoutent ce passage. L'image du fauteuil fait peur mais, en réalité, c'est une libération. Nous essayons de réunir sur notre forum des témoignages qui vont dans ce sens. Le fauteuil procure une plus grande autonomie.

■ Gwénaél MARTIN

C'est d'abord une peur en effet, mais il faut savoir passer outre. Bien sûr, ce n'est pas simple. Mais l'amélioration de la vie quotidienne est telle que le passage au fauteuil est comme une nouvelle vie.

■ Claudie BALEYDIER

L'ataxie de Friedreich se caractérise par une démarche ébrieuse. De nombreux jeunes malades se font arrêter dans la rue car ils donnent le sentiment d'avoir trop bu – ce qui est très douloureux à vivre. Au moins, lorsqu'ils sont en fauteuil, l'ambiguïté est levée : ils sont malades et non pas « soûls ».

■ Giovanni STEVANIN

Vous avez précisé que vous n'aviez pas reçu suffisamment de candidatures à des bourses de recherche. Avez-vous le sentiment que moins de chercheurs travaillent sur l'ataxie de Friedreich qu'auparavant ? Est-ce une réalité ?

■ **Claudie BALEYDIER**

Non, au contraire. Mais les chercheurs disposent désormais d'autres sources de financement.

■ **Pierre RUSTIN**

En effet, les équipes qui travaillent sur l'ataxie de Friedreich reçoivent depuis trois ou quatre ans d'autres types de financements (financements européens, financement ANR, etc.). C'est probablement ce qui explique la baisse des demandes de bourses.

■ **Claudie BALEYDIER**

Les chercheurs qui travaillent sur l'ataxie de Friedreich sont toujours très nombreux mais, et c'est tant mieux, ils reçoivent d'autres financements. En tout cas, la majorité du budget de l'AFAF est consacré à l'octroi de bourses de recherche. Je pense qu'un nouvel appel à bourses sera lancé au mois de novembre ou décembre, du fait du peu de candidatures au mois de juin dernier.

■ **Giovanni STEVANIN**

Vos associations reçoivent-elles des aides de l'État ?

■ **Claudie BALEYDIER**

Non, malheureusement !

■ **Hubert BŒUF**

L'association CSC non plus. Et un certain nombre d'organismes qui nous accordent des aides au titre du fonctionnement ne veulent surtout pas le faire pour des programmes de recherche, qui les engageraient sur le long terme. L'aide de la Fondation Groupama pour la santé nous est très précieuse et sert surtout à notre fonctionnement ou à celui de services comme le dispositif d'écoute psychologique. Un conseil général, une caisse primaire d'assurance maladie ou un Lions Club ne nous accordent des subsides que pour du fonctionnement ou des actions spécifiques comme l'édition d'un bulletin d'information. Nous ne recevons aucune aide de l'État.

■ **Claudie BALEYDIER**

Nos donateurs nous font confiance et savent que la majeure partie de nos dépenses concerne les bourses de recherche. Mais, comme je l'ai indiqué, la recherche fondamentale et la recherche clinique n'avancent pas au même rythme.

Aujourd'hui, seul un essai est en cours, à l'hôpital Robert Debré et à l'initiative de Pierre Rustin. Si nous ne percevons pas de subsides de l'État, nous bénéficions d'une aide solide de l'AFM – l'association qui recueille les dons du Téléthon. L'AFM nous soutient très souvent, en particulier pour la mise en place partielle d'essais cliniques qui, comme vous le savez, coûtent horriblement cher car, pour nos maladies dégénératives, ces essais ont besoin d'être conduits dans la durée.

■ **Pierre RUSTIN**

L'essai en cours à l'Hôpital Robert Debré porte sur quatre ans. Il bénéficie désormais d'une aide de l'État pour sa réalisation. Elle a été très difficile à obtenir et a imposé un certain déroulé, qui n'est pas nécessairement celui que j'aurai retenu, mais elle a le mérite d'exister.

■ **Cécile HUCHET**

A partir du moment où nous souffrons de maladies sans médicament, nous n'arrivons pas à obtenir des subventions de laboratoires. Cela fait la différence avec beaucoup d'autres associations qui concernent des maladies pour lesquelles il existe un médicament, et qui bénéficient de subventions significatives de la part des laboratoires.

■ **Giovanni STEVANIN**

Merci à tous pour vos témoignages et ces échanges qui nous permettent, à nous chercheurs, de mieux comprendre vos maladies.

Nous allons désormais aborder les aspects scientifiques de cette journée. Comme vous le verrez, des étudiants, des médecins ou des scientifiques vont présenter différents aspects de la recherche sur les ataxies, des causes aux essais thérapeutiques.

☒ L'image du fauteuil fait peur mais, en réalité, c'est une libération. ☒

Claudie Baleydiér



2. SESSION 2

- 20 ➤ Réseaux de recherche et état des connaissances en génétique des formes dominantes
- 28 ➤ État des lieux des connaissances en génétique des formes récessives
- 38 ➤ Approche exome pour identifier de nouveaux gènes : exemple des formes dominantes

➤ Réseaux de recherche et état des connaissances en génétique des formes dominantes



Giovanni STEVANIN
Docteur en biologie,
Directeur de recherche
Inserm à l'Institut du
Cerveau et de la Moëlle
épineuse, Professeur à
l'École Pratique des
Hautes Études

1. QU'EST-CE QU'UNE ATAXIE DOMINANTE ?

Permettez-moi de commencer en parlant des formes dominantes.

Une ataxie dominante est une forme héréditaire. Elle résulte d'une anomalie située sur un chromosome dans la molécule d'ADN qui supporte le code génétique d'un individu, et se transfère de génération en génération. Dans une famille, un individu atteint reçoit toujours l'anomalie d'un autre individu atteint ou porteur de la même anomalie, étant entendu qu'il suffit d'une copie de cette anomalie pour développer la maladie.

Cette anomalie est également autosomique, ce qui signifie qu'elle atteint autant les femmes que les hommes et n'est pas associée aux chromosomes sexuels.

2. COMMENT IDENTIFIER LES GÈNES RESPONSABLES DE MALADIES HÉRÉDITAIRES ?

Deux situations peuvent être rencontrées :

- soit on connaît la fonction qui est perturbée dans une maladie, par exemple un globule rouge qui présente une structure anormale ;
- soit on n'a aucune idée de ce qui cause la maladie et des raisons pour lesquelles les neurones du cervelet dégèrent par exemple.

Dans le premier cas, le médecin peut imaginer que c'est peut-être l'hémoglobine, ce pigment rouge qui transporte l'oxygène dans le globule rouge, qui est anormale et envisager quelle protéine et donc quel gène

(ou support de l'information génétique) contient l'anomalie, la mutation. Dans le second cas, plus fréquent, des outils de génétique permettent de localiser l'anomalie génétique sur l'un des chromosomes, sans toutefois préciser quelle fonction est perturbée. Cette technique dite de cartographie a été rendue possible à la fin des années 80 grâce à l'avènement des cartes génétiques, notamment développées au Généthon. L'identification de repères sur les chromosomes permet de suivre, au sein d'une famille, quel chromosome a été transmis d'un individu atteint à un autre individu atteint. Il est ainsi possible de savoir quel chromosome porte l'anomalie. Connaître la localisation génétique de l'anomalie dans une famille permet de travailler sur une échelle plus petite pour identifier le gène en cause en décryptant son code (séquence d'ADN). Ensuite, connaître la protéine en cause permet non seulement de proposer un diagnostic génétique de la maladie dans la famille – avec les problèmes éthiques que cela pose, dont nous pourrions discuter si vous le souhaitez –, mais également de déterminer la fonction perturbée et d'envisager un traitement.

3. COMMENT SE SONT DÉVELOPPÉES LES CONNAISSANCES GÉNÉTIQUES DANS LES ATAXIES ?

C'est à la fin des années 80 qu'ont pu être développés les outils de génétique, grâce notamment au Généthon. Jusqu'en 1990, nous connaissions une seule région chromosomique contenant un gène d'ataxie dominante, en l'occurrence le gène SCA1 sur le chromosome 6. Il a ensuite fallu attendre 2006 pour en avoir localisé 28 (SCA1, SCA2, SCA3, etc.), sur quasiment tous les chromosomes, et en connaître véritablement 14. En effet, la localisation du gène responsable ne permet pas systématiquement d'identifier l'anomalie en son sein. Enfin, ces dernières années, la génétique a connu un véritable boom technologique avec des techniques plus résolutive : nous sommes ainsi passés de l'identification de 28 à 30 régions chromosomiques impliquées mais surtout de 14 à 24 gènes en cause connus.

4. QUELS SONT LES DIFFÉRENTS TYPES D'ANOMALIES ?

Les anomalies identifiées sont de nature différente et peuvent être classées suivant trois grands groupes :

- les expansions de triplets (CAG) dans des régions codantes pour des protéines ;
- les expansions non codantes ;
- les mutations ponctuelles dans les gènes.

45 % des patients ne connaissent pas encore l'explication moléculaire et génétique de leur maladie.

Giovanni Stevanin

Les anomalies les plus connues sont les expansions de triplets CAG, qui sont trois constituants de la molécule d'ADN. Ces triplets se répètent un nombre anormal de fois, pouvant aller d'une dizaine en situation saine à plusieurs centaines de copies chez un individu atteint de la maladie. Ces expansions de triplets peuvent avoir des conséquences au niveau de la protéine qui est synthétisée à partir du gène. Devenue déficiente ou anormale, en raison des expansions de glutamine codée par ces triplets CAG, la protéine n'assure plus sa fonction ou perturbe l'expression d'autres gènes.

Alors que nous pensions ne plus trouver de nouveaux gènes marqués par des expansions de répétitions dans les chromosomes, nous en avons récemment identifié deux : SCA31 et SCA36. Cette dernière semble être présente en France, où elle concernerait une douzaine de familles. C'est une forme à début tardif (aux alentours de 50 ans), qui entraîne des troubles oculaires et auditifs en sus du syndrome cérébelleux.

L'autre grand groupe d'anomalies – qui tend à connaître un véritable essor actuellement – est celui des mutations ponctuelles, ou mutations fines puisqu'un seul des constituants de la molécule de l'ADN à l'intérieur du gène change. L'exemple type est celui du gène SCA13 qui a été localisé sur le chromosome 19 au sein d'une famille française puis au sein d'une famille originaire des Philippines. Dans ces deux familles, une anomalie fine a été localisée dans le gène codant pour un canal potassium (KCNC3). Ce canal, qui est enchâssé dans la membrane de chaque cellule, sert à assurer le transfert des ions potassium de part et d'autre de la membrane. Dans la mutation française, le port de ce canal reste ouvert en permanence. En revanche, il apparaît que la mutation philippine entraîne sa fermeture. Si les deux situations semblent complètement inverses, la conséquence est identique : le neurone souffre et dégénère.

Les mutations dans les gènes connus expliquent environ 55 % des cas dominants d'ataxie en France, les formes à expansion de triplets CAG étant les plus fréquentes – notamment la forme SCA3 (20 % des cas). Cela signifie que 45 % des patients ne connaissent pas encore l'explication moléculaire et génétique de leur forme de maladie.

5. COMMENT ACCÉLÉRER L'IDENTIFICATION DES GÈNES ?

Il est désormais possible de combiner plusieurs approches dites à haut débit depuis quelques années : la recherche de réarrangements (recherches de grandes modifications des chromosomes), la localisation chromosomique (identification de la région dans laquelle se trouve le gène responsable

de la maladie) ou encore l'exome (séquençage/décryptage de nouvelle génération de tous les gènes des chromosomes et identification des mutations dans les familles). Le coût d'un exome est très élevé, puisqu'il est de 1 000 à 3 000 euros.

Le premier challenge, compte tenu de la masse de données à analyser, est celui de la bioinformatique. L'avenir, pour les étudiants, c'est la bioinformatique ! Or les bioinformaticiens sont encore très peu nombreux aujourd'hui. Je crois d'ailleurs qu'il n'y en a qu'une seule parmi nous aujourd'hui, aussi bien parmi les étudiants que les scientifiques.

Un autre challenge est celui de l'analyse fonctionnelle. Pour prouver que l'anomalie qui a été trouvée dans un gène est bien causale, il est indispensable de travailler sur des modèles, *in vitro* ou chez l'animal – ce qui est à la fois long et très coûteux. En effet, comprendre pourquoi et comment la maladie survient est primordial afin d'identifier les voies défaillantes entraînant la maladie et qui vont ainsi permettre d'identifier des molécules thérapeutiques. Ces molécules seront d'abord testées sur des modèles avant l'homme.

Un modèle a par exemple été réalisé pour la forme SCA1 chez la souris, par surexpression, c'est-à-dire injection du gène humain avec une expansion de 82 CAG dans le cervelet d'une souris. On observe alors que non seulement la souris développe une ataxie, comme attendu, mais qu'elle présente également une dégénérescence des cellules de Purkinje du cervelet et une perte de l'arborisation dendritique (prolongements qui constituent les moyens de communication des neurones). On retrouve en outre dans les neurones de la souris – de même que chez les patients atteints de toutes les formes d'ataxie dues à des triplets CAG ou des expansions de glutamine dans les protéines – des agrégats, des dépôts protéiques qui contiennent à la fois la protéine synthétisée avec une expansion de glutamine et de nombreuses autres protéines. Cela entraîne des conséquences sur le fonctionnement de la cellule.

6. COMMENT TRAITER LES FORMES À TRIPLETS CAG, LES PLUS FRÉQUENTES ?

Je passerai sur la protection par des facteurs de croissance – c'est dangereux – et sur la restauration par les greffes de cellules souches – les résultats des essais sur l'homme n'étant pas encore probants –, pour envisager plutôt la suppression de la toxicité due à ces expansions.

Revenons sur la protéine synthétisée à partir du gène anormal : le gène est traduit en protéine avec une expansion de glutamine. Nous savons que cette protéine subira alors des modifications, normales ou anormales, notamment des clivages (coupures), et qu'elle acquerra une mauvaise conformation. En effet, à cause de ce nombre trop important de glutamines codées par les répétitions de CAG, des dépôts protéiques s'agrègent et séquestrent de nombreuses autres protéines, ce qui entraîne des conséquences sur plusieurs systèmes cellulaires. Comment intervenir ? Nous pouvons tout d'abord imaginer intervenir dès le départ, en empêchant la synthèse de la protéine. Sandro Alves nous présentera d'ailleurs cet après-midi une stratégie d'ARN antisens.

Nous pouvons également imaginer aider la protéine à avoir une conformation normale. Des essais positifs ont été conduits chez l'animal, mais ils s'avèrent difficilement applicables chez l'homme.

Enfin, nous pouvons essayer de contrecarrer les conséquences. Elles sont nombreuses et incluent des problèmes de machinerie de dégradation des protéines (cela a été présenté par Annie Sittler et Alice Chort lors d'une AG de CSC). Cela inclut aussi le déficit métabolique/énergétique, notamment les effets sur la dépense d'énergie de la cellule touchée. Fanny Mochel nous dira un mot de ce type de traitement cet après-midi.

7. COMMENT DÉTERMINER LA FENÊTRE OPTIMALE DE TRAITEMENT ET MESURER SON EFFICACITÉ ?

Dans le cadre de la présentation du projet BIOSCA, cet après-midi, nous verrons que l'objectif est de suivre des patients et des personnes qui n'ont pas encore déclaré la maladie afin de déterminer le moment opportun de traitement : avant que la maladie ne soit trop avancée et que les symptômes ne soient trop nombreux, c'est-à-dire avant que la réaction du corps pour compenser les problèmes engendrés par les protéines anormales ne soit plus suffisante. Le concours des patients et de leur famille est essentiel, dans cette démarche.

Il importe également de pouvoir affirmer de façon objective et quantitative que le traitement fonctionne, pour faire accepter un médicament par les instances éthiques. Cela impose de rechercher des biomarqueurs. L'équipe de Jean-Christophe Corvol et Sandro Alves, par exemple, a mis en évidence que l'accumulation d'une protéine impliquée dans les systèmes de dégradation dans la cellule est d'autant plus importante que le score de sévérité de la maladie est élevé. Cette donnée est quantifiable dans le sang. Ainsi, si on donne un traitement, cela permettra de vérifier que

le score de sévérité de la maladie se réduit et donc valider l'intérêt du traitement testé.

8. ALTERNATIVE DE TRAITEMENT

Enfin, l'expansion de triplets de CAG peut être qualifiée de double peine : outre la déclaration de la maladie en elle-même, plus le nombre de répétitions CAG est important et plus l'âge de début est abaissé. Cette injustice peut être utile pour essayer de mieux comprendre la maladie et d'en retarder le démarrage. Cette compréhension peut constituer une voie alternative au traitement. À cet égard, la stratégie d'exome qui permet de comparer le code génétique de deux individus a de l'avenir. Jean-Christophe Corvol a, par exemple, montré que dans le cadre du traitement de la maladie de Parkinson avec la L-Dopa, certains patients développent la maladie cinq ans plus tard que les autres en raison de la forme particulière d'une protéine présente dans leur organisme et qui dégrade moins le médicament.

Pour finir, je souhaite vous remercier de votre attention. Je remercie également nos nombreuses sources de financement, ainsi que l'association CSC pour son soutien permanent depuis de nombreuses années, la Banque d'ADN et de cellules, tous nos collaborateurs et les réseaux EuroSCA et Spatax sans qui notre travail ne serait pas possible. Le réseau Spatax, initié voilà une quinzaine d'années par Alexandra Dürr, regroupe 36 équipes de recherche de 17 pays. Sa mission vise à optimiser le travail de recherche en limitant la concurrence, en favorisant le partage des informations et du matériel biologique des patients, mais également en organisant des réunions d'information. Un congrès Spatax se tiendra d'ailleurs au mois de juin 2013 dans cette même salle.

Je suis prêt à répondre à quelques-unes de vos questions, si vous le souhaitez, étant entendu que nous pourrions débattre plus longuement dans le cadre de la table ronde prévue à la fin de la journée.

Le concours des patients et de leur famille est essentiel.

Giovanni Stevanin

Échange avec la salle

Quel pourrait être le rôle de l'ADN « poubelle » découvert récemment dans le cadre du projet Encode ?

Je pense que vous parlez de l'ADN non codant. Il constitue peut-être une source d'explication pour beaucoup de patients, mais nous ne le comprenons pas encore complètement et il nous reste sans doute énormément à découvrir. Il s'agit de régions difficiles à explorer, d'un point de vue technique. En tout cas, c'est une voie d'avenir pour expliquer nombre de maladies génétiques.

Comment expliquer les formes plus précoces de la maladie ? Plusieurs membres de ma famille sont atteints de la SCA3. Ma mère l'était aussi. Elle est décédée à l'âge de 60 ans. Mon frère a déclaré la maladie beaucoup plus tôt que ma sœur. La précocité est-elle liée au sexe masculin ?

Non. Elle est liée à la taille de la mutation (nombre de triplets), qui peut varier d'un individu à l'autre, mais également en raison d'autres facteurs génétiques que nous ne connaissons pas encore et que nous essayons d'identifier en comparant le profil génétique des individus.

Ma question concerne les agrégats. J'ai vu qu'une équipe internationale travaillait actuellement pour éviter que les agrégats aillent dans le noyau. Qu'en est-il de ce projet et que peut-il apporter aux autres projets ?

Une équipe anglaise essaie en effet d'empêcher l'ataxine 3, c'est-à-dire la protéine de la SCA3, d'aller former des agrégats dans le noyau où se trouve le matériel génétique de l'individu. Cette stratégie n'est pas nouvelle. Elle a déjà été essayée sur la souris SCA1. Si l'on empêche la protéine d'aller dans le noyau, il n'y aura pas d'agrégats, et pas d'ataxie. Le problème est que si elle se rend dans le noyau, c'est sans doute qu'elle

y exerce une fonction. Il faut donc aussi envisager les effets à plus long terme de cet empêchement. C'est aussi une voie qui nous intéresse à l'ICM, notamment Martina Marinello sur l'ataxie SCA7.

La formation d'agrégats dans le noyau est-elle systématique ?

Les agrégats se forment presque toujours dans le noyau, à l'exception de la SCA2 et de la SCA6 où l'on en trouve quelques-uns dans le cytoplasme, donc en dehors du noyau. Si on empêche la protéine d'aller dans le noyau, c'est-à-dire que si l'on modifie génétiquement la souris, il n'y a pas plus d'ataxie. Cela étant, il est éthiquement interdit de modifier le patrimoine génétique d'un individu. Il faut donc trouver des voies pharmacologiques, ce qui requiert plus de temps.

Je vous propose d'entendre maintenant la présentation de Cyril Goizet, de l'université de Bordeaux, sur les progrès accomplis dans la recherche sur les ataxies récessives.



État des lieux des connaissances en génétique des formes récessives



Cyril GOIZET

Génétiicien clinicien au CHU de Bordeaux, Professeur de génétique médicale à l'université de Bordeaux

Je reçois en consultation de nombreux patients atteints d'ataxie, qui se posent de nombreuses questions sur l'origine de leur maladie mais aussi sur leur prise en charge et les médicaments à venir.

1. QU'EST-CE QU'UNE MALADIE RÉCESSIVE ?

Les maladies récessives, qu'elles touchent le cervelet ou non, sont des maladies héréditaires liées à la présence de deux mutations simultanées dans le même gène chez un même individu. Cela sous-entend que chacun des deux parents porte cette mutation à l'état unique – ce qui lui permet d'avoir une bonne copie compensant la mutation, lui évitant ainsi d'être malade. Seule la réunion de la mutation maternelle et de la mutation paternelle chez un des enfants entraîne l'apparition de la maladie. Une maladie récessive ne se transmet donc pas de génération en génération, mais uniquement au sein d'une fratrie.

Le prototype même de l'ataxie cérébelleuse récessive autosomique est l'ataxie de Friedreich.

2. COMMENT IDENTIFIER UNE MALADIE HÉRÉDITAIRE DU CERVELET ?

Comme pour les maladies dominantes, le chemin le plus court pour évoquer une maladie héréditaire du cervelet est lorsqu'il existe une histoire familiale positive : s'il y a une transmission de génération en génération, on évoque directement les causes dominantes ; s'il y a une

transmission chez plusieurs enfants d'une même fratrie, on évoque directement une cause récessive.

Mais, dans les formes récessives, la taille des familles – en particulier en France – n'est pas toujours suffisante pour voir plusieurs enfants atteints dans la fratrie. La probabilité la plus importante est que la maladie touche un individu unique, et se présente donc sous la forme d'un cas sporadique. Dans ce cas, un bilan exhaustif est alors nécessaire pour éliminer à coup sûr toutes les causes non héréditaires qui peuvent toucher le cervelet – il en existe beaucoup. Il est important que ce bilan intervienne assez tôt dans l'évolution de la maladie. Ensuite, lorsque les causes non héréditaires ont été éliminées, c'est souvent la durée d'évolution dans le temps, avec une aggravation lente mais progressive, qui oriente vers une cause héréditaire.

Par ailleurs, contrairement aux formes dominantes qui sont de révélation plutôt tardive dans la vie d'un individu, les formes récessives présentent un début plus précoce, avant 20 ou 25 ans. C'est ainsi le cas dans la maladie de Friedreich. Cela étant, un début plus tardif n'élimine pas formellement une maladie de Friedreich. En effet, il existe des formes exceptionnelles qui débutent après 25 ans voire à 40 ou 50 ans.

Dans ces maladies récessives du cervelet, l'évolution est lente mais progressive et aboutit souvent à un handicap majeur, avec une nécessaire aide à la marche voire l'utilisation d'un fauteuil roulant avant la trentaine. Outre le cervelet, plusieurs autres structures neurologiques peuvent également être touchées par la maladie.

Enfin, parmi toutes les maladies qu'il faut savoir éliminer systématiquement, il est indispensable d'identifier les formes qui s'accompagnent d'une thérapie préventive ou curative plus ou moins efficace. J'y reviendrai au cours de mon exposé.

3. COMMENT CLASSER LES DIFFÉRENTS TYPES D'ATAXIES RÉCESSIVES ?

Au cours des 20 à 30 dernières années, le nombre d'ataxies cérébelleuses récessives connues a crû de façon exponentielle. Une nouvelle classification vient d'ailleurs d'être proposée par Mathieu Anheim et Michel Koenig.

En 2007, une vingtaine d'entités étaient réparties dans trois groupes reposant essentiellement sur des différences de symptomatologie clinique et d'imagerie cérébrale (IRM).

En 2009, la classification mettait plutôt en valeur le mécanisme physiopathologique, en vue de regrouper les maladies par grand désordre cellulaire et de faciliter l'accessibilité à des traitements. En effet, il est possible d'imaginer que des progrès thérapeutiques pour une maladie pourraient avoir des répercussions pour d'autres maladies dont les causes physiopathologiques sont similaires ou relativement proches.

4. QUELLES SONT LES AVANCÉES RÉCENTES POUR LES MALADIES CÉRÉBELLEUSES AUTOSOMIQUES RÉCESSIVES (ACAR) PAR DYSFONCTIONNEMENT DE LA MITOCHONDRIE ?

La mitochondrie est « l'usine » qui produit l'énergie dans les cellules. Elle est donc indispensable au fonctionnement du système nerveux.

• La maladie de Friedreich

Beaucoup de choses ont été dites et écrites sur l'aspect thérapeutique et physiopathologique, en particulier par Pierre Rustin qui interviendra cet après-midi.

Nous avons pensé avoir compris à quoi servait la protéine codée par le gène impliqué dans la maladie de Friedreich, la frataxine. Cette protéine très clairement mitochondriale, est impliquée dans l'homéostasie du fer (avec le fonctionnement des clusters fer/soufre). En cas de déficience de la frataxine, on observe une accumulation de fer dans les mitochondries – excès qui va induire la production d'espèces réactives de l'oxygène très néfastes pour la cellule. Finalement, aux dernières nouvelles, la frataxine assurerait d'autres fonctions mitochondriales, qui commencent à émerger dans la littérature et ouvrent un champ très important pour la suite.

Peut-être la fonction initialement supposée de la frataxine sera-t-elle remise en cause ? En tout cas, elle s'élargira à coup sûr dans les années à venir et permettra de déterminer de nouvelles cibles thérapeutiques que celles qui sont déjà connues et mises en œuvre, comme l'Idebenone. A cet égard, la question de l'ATU du Mnesis ayant été posée tout à l'heure, je tiens à préciser que l'Idebenone est produit par les laboratoires pharmaceutiques sous forme de poudre. N'importe quel pharmacien peut le produire et l'adapter aux posologies requises, dans des gélules faites à façon. Il est donc possible d'obtenir de très fortes doses d'Idebenone sans passer par l'ATU. C'est ce que nous faisons à l'hôpital de Bordeaux, où le pharmacien général produit des gélules dosées à 200 ou 300 milligrammes selon qu'elles sont prescrites à des enfants ou des adultes. Nous restons toutefois dans l'expectative des essais finaux à grande échelle lancés voilà quelques années, car des éléments un peu inquiétants

ont été publiés sur l'efficacité de ce traitement sur la myocardiopathie (remise en cause en 2011) comme sur les aspects neurologiques. En tant que clinicien prescripteur, j'ai le sentiment que les patients vont plutôt mieux que plus mal lorsqu'ils sont sous Idebenone – mais cette impression est très subjective, et comme l'a dit Giovanni Stevanin, il faut des moyens d'évaluer l'efficacité pour être certains. D'autres traitements sont actuellement à l'essai, incluant les chélateurs du fer (ils bloquent le fer). Un exposé plus précis y sera consacré cet après-midi.

• Ataxie spinocérébelleuse de début infantile (IOSCA)

Cette maladie du cervelet est très probablement liée à un dysfonctionnement de la mitochondrie. Très longtemps, nous avons pensé qu'elle était limitée à une population finlandaise. Mais depuis l'identification du gène en cause, qui code pour la protéine mitochondriale Twinkle, des mutations dans ce gène ont pu être identifiées dans d'autres populations, certes sous une forme clinique un peu différente. Quelques patients présentant une mutation du gène Twinkle ont notamment pu être identifiés en France.

• Neuropathie sensitive ataxiante avec dysarthrie et ophtalmoparésie (SANDO)

Cette maladie est liée à une mutation récessive du gène POLG, qui code pour la protéine mitochondriale polymérase gamma. Même si l'ophtalmoplégie clinique peut être encore plus sévère que dans une ataxie cérébelleuse simple. Elle doit en tout cas inciter à évoquer, en cas de symptômes associés, soit une mutation de POLG soit une mutation de Twinkle.

• Ataxie spastique récessive de Charlevoix-Saguenay (ARSACS)

Le gène SACS a été découvert en 2000, au Québec. Durant plusieurs années, nous avons pensé que cette maladie était surtout fréquente au Québec, où elle était même plus fréquente que la maladie de Friedreich. Mais il est finalement apparu que cette forme n'était pas réservée à l'Amérique du nord.

Aucune étude extensive n'a porté sur ce gène avant 2009 en France, mais deux articles se sont récemment intéressés à la fonction de la saccine, protéine codée par le gène SACS. Cette protéine est, au moins en partie, localisée dans la mitochondrie et aurait une activité chaperonne voire d'autres propriétés au niveau de la mitochondrie. Ces résultats sont encore très préliminaires. Je les évoque car notre laboratoire à Bordeaux s'intéresse de près à cette entité ARSACS. CSC vient en outre d'attribuer une bourse de thèse à l'une de mes étudiantes qui travaille sur ce sujet en collaboration avec l'ICM à la Pitié-Salpêtrière. Nous avons déjà identifié quelques personnes porteuses de mutations de ce gène. Ces personnes

...des progrès thérapeutiques pour une maladie pourraient avoir des répercussions pour d'autres maladies...

Cyril Goizet

présentent un tableau clinique et une imagerie cérébrale (IRM et FLAIR) évocateurs de l'ARSACS, avec particulièrement une atrophie du cervelet, des hyposignaux de la substance blanche et des lésions au niveau du tronc cérébral (traduisant la perte de matières cérébrales).

Le gène codant pour la protéine est très long, puisqu'il contient 9 exons (sous-unité de base d'un gène) dont le premier compte 12 000 paires de bases. Les mutations identifiées sont réparties sur l'ensemble du gène, elles ne touchent pas une zone en particulier. Chez les patients il faut donc séquencer l'ensemble du gène, ce qui prend beaucoup de temps du fait de la taille de ce gène. Sans compter que certaines mutations échappent à la détection et nécessitent la mise en œuvre d'autres techniques, comme le dosage génique sur puce à ADN (technologie permettant d'identifier des délétions de gènes entre autres, appelée technique de CGH). Cette technique consiste à rechercher l'absence d'une ou des deux copies du gène SACS chez le patient.

Ainsi que je l'indiquais, découvrir des mutations nous a permis d'identifier des malades, souvent impliqués dans les associations et volontaires pour participer à la recherche. Certains d'entre eux nous ont ainsi donné, en plus du tissu sanguin, du tissu cutané avec une biopsie de peau. En effet, nous nous intéressons aussi à l'aspect fonctionnel de la maladie. Nos premiers résultats montrent une très nette anomalie de la morphologie du réseau mitochondrial dans la cellule d'une patiente (fibroblaste primaire en culture) : ce réseau est morcelé moins allongé que chez le témoin, avec des figures géométriques sous forme de petites boucles. La mesure de l'intensité globale montre d'ailleurs une diminution de quasiment 50 % de la fluorescence liée au réseau mitochondrial – ce qui signifierait, a priori, que cette cellule compte 50 % de réseau mitochondrial en moins par rapport à celle du témoin. Nous avons retrouvé globalement les mêmes anomalies chez un deuxième patient pour lequel nous avons identifié une mutation homozygote.

En résumé, en France en particulier mais aussi au Canada, nous travaillons beaucoup sur cette nouvelle entité ARSACS qui pourrait être, d'après les résultats préliminaires de la recherche de mutations en cours, la deuxième cause d'ataxie cérébelleuse – plus fréquente que toutes les autres, mais plus rare que l'ataxie de Friedreich.

• **Ataxie spastique récessive avec leucoencéphalopathie (ARSAL)**

Cette autre entité a également été découverte au Québec il y a quelques années. Le tableau clinique est très proche de celui d'ARSACS, mais les signes à l'IRM montrent une anomalie de la substance blanche – d'où la lettre L qui évoque la leucodystrophie associée. Le gène, présenté

lors d'un important congrès de génétique humaine voilà quatre ou cinq ans, vient tout juste d'être décrit. Il s'agit là encore d'une protéine intervenant dans le fonctionnement mitochondrial. Un modèle chez la mouche drosophile est disponible pour ce gène, ce qui offre la possibilité d'envisager des travaux plus poussés pour comprendre le mécanisme de survenue de cette ataxie.

4. QUELLES SONT LES AVANCÉES RÉCENTES POUR LES ACAR PAR DYSFONCTIONNEMENT MÉTABOLIQUE ?

Il est primordial de ne pas passer à côté de l'identification de ces maladies, puisqu'elles peuvent être traitées – certes plus ou moins efficacement.

• **Ataxie isolée par déficit en vitamine E**

Cette maladie est relativement fréquente en Afrique du nord, en particulier dans les pays du Maghreb. Le diagnostic est très simple à poser, puisqu'il repose sur une prise de sang visant à doser le taux de vitamine E dans le sang. Si ce taux est effondré, il convient de le restaurer et la maladie cesse alors d'évoluer. Il peut même arriver, qu'en l'absence de séquelles neurologiques irréversibles, la maladie régresse et que la personne redevienne saine.

Un diagnostic précoce est donc indispensable. S'il est trop tardif, les lésions du cervelet seront irréversibles et la restauration du taux de vitamine E n'aura aucun effet.

• **Abétalipoprotéïnémie (ABL)**

Cette maladie métabolique aboutit elle aussi à un important déficit en vitamine E. Un diagnostic précoce permet une restauration en vitamine E et un pronostic très différent de celui des patients non diagnostiqués ou diagnostiqués tardivement.

• **Maladie de Refsum**

Cette maladie est très exceptionnelle et son traitement, plus ou moins efficace. En tout cas, mieux vaut suivre un régime spécifique pour ralentir l'évolution de la maladie.

• **Xanthomatose cérébro-tendineuse**

Cette maladie métabolique est liée à un défaut des lipides, en particulier le cholestanol (dérivé du cholestérol) qui s'accumule en différents endroits de l'organisme, y compris dans le système nerveux. Un traitement a été décrit en 1984. Il reste d'actualité et très efficace, sous réserve d'être débuté précocement.

ARSACS ...
pourrait être,
d'après les résultats
préliminaires
de la recherche
de mutations en
cours, la deuxième
cause d'ataxie
cérébelleuse...

Cyril Goizet

Voilà deux ou trois ans, j'ai reçu en consultation à la demande de son médecin traitant un patient de 61 ans qui vivait à la Rochelle et qui s'était vu diagnostiquer une xanthomatose cérébro-tendineuse dans les années 70 à Paris. Il n'avait ensuite plus consulté et avait été opéré à plusieurs reprises de xanthomes (dépôts de cholestanol, donc de graisse, au niveau des tendons) sans que personne ne se préoccupe de lui administrer un éventuel traitement – pourtant déjà publié depuis 25 ans. Il est désormais traité, mais les espoirs d'amélioration sont extrêmement infimes.

- **PHARC**

Le gène *ABHD12*, récemment découvert, appartient à un nouveau groupe de maladies métaboliques – individualisé par nos collègues de Strasbourg –, qui concernent essentiellement le système nerveux. Cette entité semble très rare.

5. QUELLES SONT LES AVANCÉES RÉCENTES POUR LES ACAR PAR ANOMALIE DE RÉPARATION DE L'ADN ?

- **ACAR avec apraxie oculomotrice (AOM)**

Elles associent une atteinte du cervelet et du positionnement oculaire. La maladie modèle dans ce sous-groupe est l'ataxie télangiectasie. Si elle a longtemps été la deuxième ACAR la plus fréquente en France, ce n'est sans doute plus le cas et elle est désormais supplantée par ARSACS. Aucune nouveauté majeure n'est à annoncer, AOA1 et AOA2 ayant été découvertes voilà 10 ans.

6. QUELLES SONT LES AVANCÉES RÉCENTES POUR LES ACAR LIÉES À D'AUTRES PHÉNOMÈNES ?

- **ARCA 1 et ARCA 10**

Ces deux nouveaux gènes ont été découverts, mais ils sont tellement grands que pour le moment, aucune équipe au monde ne les étudie. Un premier article est paru voilà six ou sept ans, concernant deux familles, mais aucune avancée n'est à noter depuis. Peut-être les progrès technologiques qu'a présentés Giovanni Stevanin permettront-ils de proposer l'analyse génétique de ces gènes chez des malades porteurs d'ataxie cérébelleuse pure et tardive ?

7. COMMENT DRESSER UN BILAN DE PREMIÈRE INTENTION ?

Ce bilan doit être adapté en fonction de l'histoire familiale, de la clinique et de l'imagerie. Quoi qu'il en soit, la quasi-totalité des malades présentant une ataxie cérébelleuse de début précoce et d'évolution lente devraient bénéficier de ces examens complémentaires, qui permettent au clinicien de cheminer en élaborant un arbre décisionnel.

Je remercie les organisateurs de cette journée ainsi que nos soutiens, en particulier CSC et ASL qui nous accompagnent depuis fort longtemps dans nos travaux de recherche à Bordeaux.

Échange avec la salle

Disposez-vous d'une étude clinique importante pour toutes les ataxies récessives – nouvelles et moins nouvelles – moins connues que le Friedreich ? Je souhaite notamment savoir si l'ARSAL débute tôt.

L'âge de début d'ARSAL est plutôt précoce, vers 10 ans – mais il peut varier entre 2 ans et l'âge adulte. Par ailleurs, ce gène venant juste d'être identifié, il n'existe pas encore d'étude clinique importante. Une quinzaine de familles ont pu être étudiées de façon très précise au Canada, ce qui a donné lieu à des cliniques assez fiables mais qui ne représentent que la population du Québec. Or il existe peut-être une variabilité d'un pays à l'autre ? Il est un peu tôt pour le dire. En revanche, je puis vous indiquer que nous avons testé pour les mutations de *MARS2* (gène impliqué dans ARSAL) des personnes dont la recherche de mutation dans SACS avait donné des résultats négatifs, et que nous n'avons pas trouvé de mutation ponctuelle. Mais, en l'occurrence, le gène qui vient d'être découvert n'est pas concerné par des mutations ponctuelles (modifications du code génétique ATCG), mais par des petits remaniements génomiques avec des duplications qui ont pu échapper aux méthodes de recherche de mutation de l'époque. Il faudra se pencher sur ce sujet, ce qui nécessitera de trouver des financements. La découverte d'ARSAL est vraiment très récente.

📄 Le gène *ABHD12*, récemment découvert, appartient à un nouveau groupe de maladies métaboliques 📄

Cyril Goizet

Je m'intéresse surtout à l'ataxie de Friedreich. Il semblerait que le début des symptômes varie fortement, mais qu'il existe quand même un âge moyen d'apparition des symptômes. Existe-t-il, de la même façon, une durée moyenne d'évolution de la maladie ?

Oui, il existe des données de ce type sur des populations pédiatriques essentiellement, la durée de vie étant estimée entre 35-40 ans. Plus la maladie débute tard, plus elle évolue lentement. Mais ce sont des moyennes et cela peut beaucoup varier entre patients.

Cette durée a-t-elle un rapport avec le nombre de répétitions de triplets ?

Oui. La présentation clinique est proportionnellement inverse à la taille des triplets.

■ Alexandra DURR

Les causes de décès sont très variables dans l'ataxie de Friedreich. Si l'atteinte cardiaque est prédominante dès le départ, la maladie n'est pas du tout la même que si elle l'accompagne sans toutefois être au premier plan. C'est alors plutôt l'atteinte neurologique qui pose problème et rend la vie difficile. La forme de la maladie n'est pas uniquement due à l'expansion GAA. Cette variabilité est encore mal comprise.

■ Cyril GOIZET

En effet, la mortalité et l'espérance de vie sont étroitement liées à la présence d'une myocardiopathie et à son importance. La littérature décrit aussi quelques tendances de corrélation entre la taille de l'expansion et la présence d'une cardiomyopathie. Quoi qu'il en soit, il n'existe pas de corrélation absolue.

■ Claudie BALEYDIER

Quand mon fils a été diagnostiqué à l'âge de 5 ans, en 1975, on m'a conseillé de partir vivre en province au grand air, car il devait mourir bientôt. Or il est mort à 40 ans – et la cause de sa mort n'est pas très nette, d'autant qu'il avait aussi du diabète. A l'AFAF, nous nous refusons à évaluer une durée de vie tant elle varie d'un individu à l'autre. Soignez-vous et faites-vous régulièrement contrôler pour traiter au maximum les atteintes secondaires.

■ Cyril GOIZET

Cette variabilité explique en partie les difficultés que nous rencontrons dans les essais thérapeutiques. Il est difficile de comparer des malades qui n'évoluent pas du tout de la même façon sans médicament.

Vous parlez souvent d'atrophies cérébelleuses, c'est-à-dire d'atrophies du cervelet. Toutes les atrophies sont-elles génétiques, ou certaines sont-elles congénitales ? Si oui, quelle est leur proportion respective ? Par ailleurs, une forme d'atrophie cérébelleuse peut-elle aider à poser un diagnostic plus ou moins précis ?

■ Cyril GOIZET

Dans l'ataxie de Friedreich, l'atrophie cérébelleuse est extrêmement tardive dans l'évolution de la maladie, alors même que l'ataxie est déjà présente. C'est donc une aide pour orienter les diagnostics. Toutefois, rien ne ressemble plus à une atrophie cérébelleuse qu'une autre atrophie cérébelleuse. Si cela permet de savoir s'il s'agit ou non d'une maladie de Friedreich, en revanche cela ne permet pas, dans l'immense majorité des cas, d'orienter directement vers une cause précise – que ce soit dans les formes récessives ou dans les formes dominantes.

Par ailleurs, les ataxies congénitales sont présentes à la naissance. Certaines sont dégénératives et évoluent comme les maladies que je viens de citer (l'atrophie et la symptomatologie se majorant), mais d'autres sont présentes cliniquement sans anomalie à l'IRM. Elles peuvent s'accompagner d'une évolution tout à fait stable, voire d'une amélioration dans le temps. Elles peuvent même parfois voir apparaître à l'IRM une atrophie alors que l'évolution clinique est satisfaisante.

Avec le temps, plus la maladie avance, plus l'atrophie cérébelleuse est-elle forte ?

En général oui, mais pas systématiquement.

■ Giovanni STEVANIN

Je vous remercie. Nous allons entendre la présentation de Christelle Tesson, qui fait en partie sa thèse sur les ataxies cérébelleuses dominantes avec le soutien de CSC.

À l'AFAF, nous nous refusons à évaluer une durée de vie tant elle varie d'un individu à l'autre. Soignez-vous et faites-vous régulièrement contrôler pour traiter au maximum les atteintes secondaires.

Cyril Goizet

➤ Approche exome pour identifier de nouveaux gènes : exemple des formes dominantes



Christelle TESSON
Étudiante préparant une thèse sur les ataxies cérébelleuses dominantes

Bonjour. Ainsi que cela vient d'être rappelé par Giovanni Stevanin, les ataxies dominantes constituent un groupe très hétérogène de maladies, qui peuvent être classées en quatre catégories en fonction des symptômes associés. A l'heure actuelle, 30 gènes responsables ont pu être identifiés. Malheureusement, ils permettent d'expliquer la maladie de seulement 50 % des patients. Il reste donc encore de nombreux gènes à identifier. Aussi cherchons-nous à identifier de nouveaux gènes responsables des ataxies dominantes en combinant deux techniques : la cartographie génétique et le séquençage haut débit dit de nouvelle génération, l'exome.

1. COMMENT LOCALISER UNE MUTATION SUR UN CHROMOSOME ?

Notre organisme est constitué de cellules qui comportent un noyau dans lequel se trouvent les chromosomes, qui sont constitués d'ADN (support de l'information génétique). Les protéines sont codées par des morceaux d'ADN que l'on appelle gènes. Un gène est muté lorsque survient une erreur dans le code de l'ADN. Cette erreur, ou mutation, retrouvée dans la protéine va engendrer des anomalies de conformation ou structure qui va altérer le plus souvent sa fonction voire empêcher complètement sa production.

La localisation de la mutation sur l'un des chromosomes constitue donc la première étape dans la recherche de nouveaux gènes impliqués dans les ataxies.

Les chromosomes fonctionnent par paire, l'un étant hérité du père et

l'autre de la mère. Dans les ataxies autosomiques dominantes, une seule copie du gène muté suffit pour être malade. Afin d'identifier les régions susceptibles de contenir la mutation, nous recherchons au sein d'une famille des régions chromosomiques présentes chez les individus atteints et absentes chez les individus sains : nous disposons pour cela de marqueurs génétiques répartis tout le long des chromosomes, qui vont nous permettre de suivre leur transmission au sein de la famille.

Si un parent ne transmet un certain chromosome qu'à ses deux enfants malades et non à son enfant sain, nous pouvons supposer que ce chromosome est susceptible de contenir le gène responsable de la maladie des deux enfants.

2. COMMENT IDENTIFIER LA MUTATION QUI CAUSE LA MALADIE ?

Cette deuxième étape vise à séquencer (décrypter le code génétique de l'ADN) les gènes de la région d'intérêt.

Jusqu'ici, les gènes étaient séquencés les uns après les autres, ce qui était à la fois long et très coûteux. Désormais, la nouvelle technologie de l'exome permet de séquencer tous les gènes de tous les chromosomes en quelques jours. Cette démarche est très rapide, mais génère de nombreuses données à analyser. C'est ici qu'interviennent les bioinformaticiens !

3. EN QUOI CONSISTE L'EXOME ?

La technologie de l'exome a été rendue possible par la création de puces à ADN qui capturent les gènes des patients. L'ADN est fragmenté et déposé sur ces puces, qui capturent les gènes qui peuvent alors être séquencés. Les séquences obtenues sont ensuite comparées à celles d'un individu sain, en vue d'identifier les modifications de séquences susceptibles de représenter la mutation responsable de la maladie.

Nous avons voulu utiliser cette technologie sur deux familles.

• Clinique de la famille AAD-560

Dans cette famille, l'ataxie débute entre 32 et 47 ans et évolue assez rapidement puisque les patients doivent se déplacer en fauteuil roulant 8 à 10 ans après l'apparition des premiers symptômes. Par ailleurs, tous les patients associent, en plus de l'ataxie, une paraplégie spastique. Toutes les mutations dans les gènes connues ayant été exclues, nous sommes partis à la recherche du gène en cause.

...la nouvelle technologie de l'exome permet de séquencer tous les gènes de tous les chromosomes en quelques jours.

Christelle Tesson

☒ Nos perspectives sont désormais les suivantes : comprendre ce que ces mutations provoquent au niveau cellulaire. ☒

Christelle Tesson

Nous avons effectué une cartographie génétique. Cela signifie que nous avons recherché les régions chromosomiques identiques chez tous les membres atteints, c'est-à-dire qui se transmettent avec la maladie et sont donc susceptibles de contenir le gène responsable de la maladie.

Ces régions contenaient à elles toutes 450 gènes, nous avons donc opté pour la technique du séquençage de l'exome, sur un membre sain et deux membres atteints de la famille. Après analyse des données brutes et avant filtrage, nous avons pu identifier 45 000 variants chez les patients. Ces variants n'étant pas nécessairement des mutations, mais des différences par rapport à la séquence de référence des chromosomes (qui expliquent que nous n'ayons pas tous la même couleur d'yeux ou de cheveux...), il restait à trouver la mutation responsable de la maladie parmi elles !

Nous avons alors appliqué des filtres, notamment pour identifier les variations présentes chez les deux patients séquencés mais absents chez l'individu sain. Nous avons également procédé à des comparaisons avec des bases de données disponibles sur internet, afin d'exclure d'autres variants existants. Grâce à ces filtres, nous avons isolé 243 variants.

Nous avons ensuite eu l'idée de combiner l'exome avec la cartographie génétique, pour identifier ceux de ces 243 variants qui étaient présents dans les régions identifiées comme se transmettant avec la maladie. Grâce à cette technique, nous avons pu réduire leur nombre à trois. Nous avons alors regardé comment ils se transmettaient au sein de toute la famille – seuls deux membres atteints ayant été séquencés jusqu'ici. Nous avons pu observer que deux de ces variants ne se transmettaient pas avec la maladie tandis que, pour sa part, la troisième mutation se transmettait parfaitement. Nous pouvons donc supposer qu'il s'agit de la mutation responsable de la maladie.

Cette mutation a été identifiée dans un gène intervenant dans la structure de la cellule. Ce gène est déjà impliqué dans une autre maladie génétique : l'amyloïdose familiale finlandaise. En revanche, la mutation que nous avons identifiée est différente de celle qui est répertoriée pour cette maladie. Nous connaissons d'ailleurs d'autres cas de gènes mutés dont les mutations différentes provoquent des maladies elles aussi différentes.

• Famille AAD-363

Dans cette famille, l'ataxie débute entre 24 et 51 ans. Contrairement à l'exemple précédent, son évolution est plutôt lente. Toutes les mutations dans les gènes connues ayant été exclues, nous avons effectué une cartographie génétique qui nous a permis d'identifier cinq régions transmises avec la maladie, donc susceptibles de contenir le gène responsable de celle-ci.

En parallèle de notre étude, plusieurs équipes dans le monde ont commencé à adopter notre stratégie de combinaison de la cartographie génétique et de l'exome pour identifier des mutations dans des familles, notamment une famille taïwanaise (dans laquelle une seule région transmise avec la maladie a été identifiée) et une famille américaine (dans laquelle deux régions transmises avec la maladie ont été identifiées). Un exome a été réalisé sur chacune de ces trois familles et les données obtenues ont été analysées indépendamment.

Nous avons appliqué les mêmes filtres que dans l'exome que j'ai décrit plus haut. Au final, pour ces trois familles, nous avons pu identifier un variant dans un gène commun : *KCND3*. Nous pensons donc qu'il s'agit du gène responsable de la maladie.

En outre, après avoir été identifié, ce gène a été criblé dans une cohorte de patients japonais. Trois nouvelles mutations ont alors été identifiées, dans trois familles différentes.

Ce gène *KCND3* code pour le canal potassique voltage dépendant Kv4.3. Il est également muté dans une autre maladie, le syndrome de Brugada. Cela étant, les mutations qui donnent le syndrome de Brugada sont différentes de celles que nous avons identifiées pour les ataxies. En effet, elles sont toutes situées dans le domaine C terminal (fin de la protéine), tandis que les mutations identifiées pour les ataxies sont situées dans ou proche du pore du canal.

En temps normal, le canal est enchâssé dans la membrane des cellules. Il permet le passage des ions K⁺ de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule. Quand le gène est muté, la protéine devient instable et ne peut plus s'enchâsser dans la membrane, ce qui entraîne un défaut de transport des ions potassium, ce qui cause la maladie.

4. QUELLES SONT LES PERSPECTIVES ?

Grâce à la stratégie que je viens de décrire, nous avons pu identifier assez rapidement deux nouveaux gènes. Il s'agit donc d'une stratégie efficace et rapide. Ce travail nous permettra de proposer un diagnostic de la maladie.

Nos perspectives sont désormais les suivantes : comprendre ce que ces mutations provoquent au niveau cellulaire, grâce à des modélisations *in vitro*, mais également analyser l'exome en cours chez 28 nouvelles familles – soit 28 nouveaux gènes potentiels !

Je tiens à remercier l'association CSC, qui nous a permis de financer ce travail. Je remercie également le professeur Alexis Brice, le docteur Alexandra Durr, Giovanni Stevanin qui a encadré ce travail, Emeline, Célia et Marie-Lorraine qui ont œuvré sur ce projet et, enfin, la Banque d'ADN sans qui ce travail n'aurait pas pu être possible.

COMMUNIQUÉ DE PRESSE INSERM

Affection neurologique héréditaire : un gène identifié dans l'ataxie spinocérébelleuse

02.10.2012

Neurosciences, sciences cognitives, neurologie, psychiatrie

Les efforts de quatre équipes de recherche en France (équipe dirigée par Giovanni Stevanin, Unité Inserm 975 "Centre de recherche en neurosciences de la Pitié-salpêtrière"), aux États Unis, à Taiwan et aux Pays Bas, ont permis d'identifier le gène responsable d'une affection neurologique héréditaire touchant le cervelet, l'ataxie spinocérébelleuse de type SCA22. Près de 10 ans d'efforts n'avaient pas abouti à l'identification des gènes responsables de cette pathologie.

Les quatre équipes de recherche ont utilisé une combinaison d'analyse de liaison génétique appliquée à tout le génome et la nouvelle technologie de séquençage de l'exome dans quatre familles de patients différentes. Les quatre études ont abouties à l'identification de trois mutations différentes dans le gène KCND3 codant pour un canal potassium. Des études électrophysiologiques ont montré que les mutations conduisent à une perturbation de l'excitabilité neuronale.

Pour les chercheurs, "Cette étude permet d'offrir un diagnostic de confirmation aux patients de ces familles et permet de cibler la recherche de thérapie sur cette forme". Cette étude montre également l'intérêt de l'analyse de l'exome, y compris dans des familles de petite taille, jusqu'ici peu explorées.

Ces travaux sont publiés dans la revue Annals of neurology ([http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ana.23701/abstract;jsessionid=BC9161FDC9F7BBF999BBE83C9418EA07.d03t01](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ana.23701/abstract;jsessionid=B C9161FDC9F7BBF999BBE83C9418EA07.d03t01))

Échange avec la salle

■ Giovanni STEVANIN

Merci. Vous voyez que nous pouvons désormais identifier de nouveaux gènes en cause en quelques mois. Cela étant, la stratégie d'exome ne fonctionne efficacement pour l'instant qu'avec des familles nombreuses. Elle commence à être utilisable dans des petites familles, mais c'est encore difficile. Lorsqu'il est question de cas sporadiques, il faut un peu plus de recul pour discerner les mutations causales des variants qui expliquent que nous sommes tous différents.

■ Cyril GOIZET

Lorsque la mutation survient pour la première fois dans la famille (néomutation), alors que les parents n'étaient pas porteurs de la maladie, la stratégie de l'exome permet aussi d'identifier facilement la mutation. En effet, en comparant le code génétique des parents et de l'enfant, nous trouverons la mutation uniquement chez l'enfant. La situation de trio est plutôt favorable en génétique, en général.

■ Hervé TRICOIRE

Vous dites qu'on ne peut pas traiter les petites familles, mais le nombre de variants augmente aussi avec le nombre de séquences effectuées. Il me semble donc que nous pouvons filtrer de façon de plus en plus efficace les variations non pathologiques. Est-ce exact ?

■ Giovanni STEVANIN

Oui. Le challenge, là encore, est celui de la bio-informatique et des bases de données de variants, pour mettre en commun les données de séquençage obtenues par toutes les équipes. Certes, il existe des bases de données sur Internet, notamment celle de l'université de Washington qui propose 6 500 codes génétiques complets. Mais c'est encore insuffisant.

Quand on est malade, comment peut-on savoir si un exome a été effectué sur notre ADN ?
Peut-on en demander un, dans le cas contraire ?

☒ Nous pouvons désormais identifier de nouveaux gènes en cause en quelques mois. ☒

Giovanni Stevanin

■ Giovanni STEVANIN

C'est une question délicate. Les chercheurs travaillent uniquement sur des codes pour des raisons de confidentialité. Toutes les données sont anonymisées. Lorsque vous donnez votre sang pour la recherche, par exemple, vous signez un consentement. Votre nom n'est pas transmis aux chercheurs, pour des raisons éthiques, et il n'y a donc pas de résultats personnels rendus par les chercheurs. Toutefois, l'information n'est pas perdue, je vous rassure et je laisse Alexandra Durr compléter cette réponse.

■ Alexandra DURR

Les prélèvements sont en effet anonymisés, pour la recherche. Pour le moment, les exomes servent uniquement pour la recherche, pas pour les diagnostics.

Mais, nous avons contacté la famille dans laquelle nous avons identifié un nouveau gène responsable de la maladie, pour l'informer de l'existence probable d'une mutation dans ce gène dans leurs prélèvements anonymisés. Mais s'il est confirmé qu'il s'agit bien de la mutation qui cause la maladie, nous effectuerons de nouveaux prélèvements, nominatifs cette fois, pour vérifier l'information, cette fois-ci dans un laboratoire de diagnostic agréé. Nous ne traitons pas les prélèvements de la même façon en recherche et en nominatif pour un diagnostic. En effet, les exigences sont différentes. C'est normal.

■ Giovanni STEVANIN

Comme le dit Alexandra Durr, les exigences sont différentes car la recherche est souvent faite par des étudiants dont c'est parfois la première expérience. Il peut donc y avoir parfois des erreurs en recherche. C'est pourquoi il est toujours important de confirmer les mutations via un diagnostic génétique officiel. C'est la raison pour laquelle nous ne donnons jamais de diagnostic aux familles, mais nous demandons au médecin de procéder à un second prélèvement dans un cadre diagnostic.

■ Cyril GOIZET

L'important n'est pas de savoir quels sont les gènes qui ont été analysés chez quelqu'un qui a participé à la recherche, ou si lui ou sa famille ont bénéficié d'un exome, mais de savoir s'il existe un résultat positif et concluant. Au sein de Spatax, dès qu'un résultat est concluant, les familles sont systématiquement recontactées et informées.

■ Giovanni STEVANIN

En effet, grâce à nos liens forts avec les associations CSC, AFAF et ASL, le travail n'est pas perdu. Rassurez-vous !

L'utilisation de l'exome permettra de découvrir de nombreux gènes. C'est très important quand on sait que 50 % de nos adhérents CSC ne sont pas diagnostiqués aujourd'hui. Un diagnostic est pourtant primordial, ne serait-ce que pour se positionner clairement en cas de procréation, mais aussi pour trouver de nouvelles pistes de recherche et en clinique.

■ Giovanni STEVANIN

En effet, nous risquons d'assister à une explosion des connaissances. C'est déjà le cas, puisque les classifications ne tiennent plus sur une seule page. Un « gènes-boom » est à attendre, qui permettra une routine diagnostique. D'autant que comme l'indiquait Cyril Goizet, certains gènes sont très grands : les récentes évolutions technologiques permettront de les cribler facilement, sous réserve d'un investissement financier important pour développer un kit qui permettra d'analyser ces gènes chez tous les patients dans un cadre diagnostic. C'est désormais faisable et nous développons ces approches à l'ICM.

Faut-il des biologistes qui font de l'informatique ou des informaticiens qui font de la biologie ?

■ Giovanni STEVANIN

Il faut les deux ! Nous avons également besoin de mathématiciens qui font aussi de la biologie. Nous sommes d'ailleurs en train d'élaborer des cursus adaptés.

■ Hubert BŒUF

Les bioinformaticiens sont encore trop rares. Les malades, les associations de malades et les chercheurs qui travaillent sur nos maladies ne sont pas les plus attractifs pour cette spécialité.

■ Giovanni STEVANIN

Je vous remercie. Je propose de clore ici cette session matinale. Je vous souhaite un bon appétit autour du buffet offert par les associations et la société GATC Biotech. Cet après-midi, nos sessions porteront sur la recherche clinique et la recherche thérapeutique.

☞ ...nous risquons d'assister à une explosion des connaissances... ☞

Giovanni Stevanin



3. SESSION 3

- 48** ➤ Déficit énergétique et maladies à triplets
- 53** ➤ La recherche clinique (BIOSCA...)
- 59** ➤ Stratégie antisens dans les ataxies : exemple de SCA7
- 67** ➤ Modèles drosophiles pour avancer dans la compréhension des mécanismes dans les maladies à triplets (formes dominantes et ataxie de Friedreich)
- 74** ➤ Mitochondries et thérapeutique dans la maladie de Friedreich

■ Alexandra DURR

Pour ouvrir cette session, Fanny Mochel nous présentera l'étude BIOSCA et précisera les raisons pour lesquelles la recherche s'intéresse au déficit énergétique dans les ataxies en général et dans les formes à expansion de polyglutamine en particulier. Fanny Mochel est métabolicienne et généticienne à la Salpêtrière, et maître de conférences universitaire.

➤ Déficit énergétique et maladies à triplets



Fanny MOCHEL
Généticienne
à l'Institut du Cerveau
et de la Moelle épinière,
Pitié-Salpêtrière

Bonjour à tous. Je suis très heureuse d'être présente parmi vous cet après-midi. J'essaierai d'apporter des explications aussi simples que possible, mais n'hésitez pas à me poser des questions. En effet, les concepts métaboliques que manie la recherche sont très complexes, y compris parfois pour les médecins !

Ainsi que l'a précisé Alexandra Durr, je travaille principalement sur des maladies métaboliques, c'est-à-dire sur le fonctionnement cellulaire et notamment la production d'énergie au sein des cellules.

Mon expérience a commencé avec la maladie de Huntington, qui n'a rien à voir avec l'ataxie, mais dont les mutations en cause (l'expansion de polyglutamine, ou répétition anormale de triplets CAG) sont très proches de ceux des maladies spinocérébelleuses à transmission dominante.

1. QUELLES SONT LES CARACTÉRISTIQUES DE LA MALADIE DE HUNTINGTON ?

Cette maladie à expansion de triplets anormale dans le gène *HTT* touche environ 5 000 personnes en France et 40 000 en Europe. Elle se caractérise principalement par des symptômes moteurs dits de Chorée et des troubles psychiatriques et cognitifs.

A l'instar des ataxies spinocérébelleuses, il est possible d'effectuer un diagnostic présymptomatique. Cela signifie que les personnes qui sont à risque dans les familles peuvent demander à connaître leur statut. Ce point est très important, puisque nous espérons pouvoir comprendre ce qui se passe au plus précoce de la maladie en étudiant son mécanisme avant le développement des symptômes.

Dans le cadre de nos travaux sur les maladies métaboliques, nous avons été rapidement interpellés par un symptôme non neurologique : la perte de poids, y compris chez des patients qui sont en tout début de maladie et qui mangent normalement voire plus que des individus non malades. Symptôme qui se retrouve aussi dans les maladies spinocérébelleuses à transmission dominante.

2. QUELLE EST L'ORIGINE DE LA PERTE DE POIDS DANS LA MALADIE DE HUNTINGTON ?

Nous avons confirmé voilà plus de six ans qu'une perte de poids s'observait alors même que les patients mangeaient davantage que les autres. Nous avons donc essayé de comprendre de façon très standardisée les causes de cet hypercatabolisme (augmentation de la dépense d'énergie).

La plus grande précision est de mise dans les études, d'autant que ce mécanisme de perte de poids est très long, d'environ un kilo par an. C'est la raison pour laquelle nous demandons à nos patients participant aux études d'être à jeun, afin que les analyses ne soient pas perturbées par le facteur alimentation. Ces analyses métaboliques visent à étudier de très nombreux métabolites (petites molécules). Plusieurs méthodes peuvent être utilisées, comme la spectroscopie RMN (résonance magnétique) d'échantillons de plasma sanguin ou d'urine. Cette méthode permet de détecter des composés comme le lactate ou l'alanine, sans avoir à cibler l'analyse. Cette vision large du métabolisme est très utile dans la mesure où nous n'avons pas d'hypothèse sur la cause de la perte de poids.

Nous avons comparé le profil plasmatique global (à partir d'une prise de sang à jeun) d'individus à différents stades de la maladie, afin de rechercher d'éventuels éléments de distinction. Il est alors apparu que deux groupes de patients pouvaient être distingués : le groupe des « early » (en début de maladie) et celui des « présymptomatiques » (avant l'apparition des symptômes).

...nous avons été rapidement interpellés par un symptôme non neurologique : la perte de poids...

Fanny Mochel

Nous avons ensuite compris que cette distinction était liée à la présence de trois métabolites situés au tout début du spectre RMN. Il s'agit d'acides aminés ramifiés (composants des protéines) : la valine, la leucine et l'isoleucine.

Ces trois acides aminés peuvent nourrir un cycle essentiel à la vie, appelé cycle de Krebs, qui est situé au cœur de la mitochondrie (usine énergétique de la cellule) et qui produit en permanence l'ATP, molécule énergétique par excellence. Or il apparaît que lorsqu'ils sont dégradés, ils fournissent des intermédiaires (substrats énergétiques) pour ce cycle de Krebs. Or ces métabolites sont abaissés en quantité significative et nous avons alors cherché à savoir si cette baisse était liée à une solution compensatoire que l'organisme mettait en place pour trouver de l'énergie en dégradant plus parce que la cellule a davantage besoin d'énergie en raison de la maladie.

3. DES MÉCANISMES COMPENSATEURS PEUVENT-ILS ÊTRE ACTIVÉS ?

Nous connaissions une molécule, avec laquelle j'avais déjà travaillé sur des maladies métaboliques très particulières : la triheptanoïne. Il s'agit d'une huile (triglycéride) qui peut entrer à deux niveaux dans le cycle de Krebs, par l'AcetylCoA et par le Succinyl-CoA.

Il a déjà été prouvé dans d'autres maladies que cette entrée à deux niveaux dans le cycle de Krebs, que nous appelons l'anaplérose, augmente la production d'énergie par le cycle de Krebs. Nous avons alors testé l'hypothèse qu'en apportant ce composé, nous aiderions les mécanismes de compensation déjà en place chez les patients (mais insuffisants) en fournissant ainsi plus d'énergie.

4. QUELS SONT LES RÉSULTATS DE L'ÉTUDE DU MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE PAR SPECTROSCOPIE RMN PHOSPHORE ?

La résonance magnétique permet d'analyser la structure du cerveau, ainsi que sa composition en métabolites (petites molécules) comme le phosphore, l'ATP ou encore la phosphocréatine. Cette technique s'avère donc très intéressante pour étudier les mécanismes énergétiques. Nous avons cherché à l'appliquer à plusieurs tissus. Et plutôt que de travailler sur des prélèvements, nous avons choisi de revenir au patient en procédant à des mesures non invasives de son métabolisme énergétique.

• Spectroscopie RMN au phosphore dans le muscle

Nous avons utilisé la spectroscopie RMN pour mesurer les concentrations en ATP et en phosphocréatine du muscle, en collaboration avec l'Institut de myologie. Nous savons qu'au repos, les mesures comparatives ne montrent pas de réelle différence entre un patient souffrant d'une maladie neurodégénérative et un contrôle. En revanche, en cas d'effort nécessitant de l'énergie supplémentaire, nous risquons de pouvoir démasquer un déficit s'il existe. Aussi avons-nous demandé à six patients d'effectuer une flexion plantaire durant un certain temps. Nous avons mesuré la production d'énergie avant, pendant et après l'effort. Les résultats sont un peu complexes mais révèlent globalement des profils anormaux.

Il est apparu que chez deux patients sur six, un effort peu important entraînait une baisse du pH (niveau d'acidité) anormale. Ces résultats confirment ceux d'une étude italienne. Ils signifient qu'à un moment donné du fonctionnement mitochondrial, quelque chose de la demande énergétique n'est pas assuré. S'ajoute à cela un temps de rephosphorylation (modification chimique) de la créatine anormal chez ces deux mêmes patients. Nous leur avons prescrit l'huile dont je vous parlais durant une semaine. Et au terme de ce temps assez court, nous avons observé une normalisation de ces deux paramètres.

Même si l'étude porte sur un très petit nombre de patients, nous pouvons affirmer après discussion avec les myologues que cette normalisation n'est en rien le fruit du hasard, mais du rééquilibrage de la production énergétique. Ces résultats nous ont vivement encouragés, même si nous sommes restés très prudents quant à leur signification.

• Spectroscopie RMN au phosphore cérébrale dynamique

De la même façon que dans le muscle, les mesures comparatives au repos dans le cerveau ne montrent pas de réelle différence entre un patient souffrant d'une maladie neurodégénérative et un contrôle. Après des échanges avec nos collègues d'Italie, nous avons donc mis en place – initialement à l'Institut de myologie et aujourd'hui au CENIR – un dispositif permettant de stimuler le cortex occipital (partie postérieure du cerveau où se trouvent les aires de la vision), par l'envoi d'un flash. Ce flash visuel, sous forme de damier, est projeté à une certaine fréquence au-dessus des patients allongés dans une IRM.

Une sonde de détection va nous permettre de quantifier les métabolites qui nous intéressent (ATP et phosphocréatine) dans la zone stimulée. On obtient des spectres que l'on peut ensuite analyser. Je précise que nous avons bénéficié de l'aide de collègues situés aux Etats-Unis pour cette démarche.

...quelque chose de la demande énergétique n'est pas assuré.

Fanny Mochele

Chez les témoins, le rapport entre le phosphate inorganique (Pi) et la phosphocréatine (PCr) augmente pendant la phase d'effort. Chez les patients Huntington, le profil est complètement différent, avec un ratio qui diminue d'emblée ou qui monte et ne redescend pas – sans que l'on sache encore complètement expliquer pourquoi. Les mêmes résultats ayant été obtenus avec deux méthodes indépendantes, nous sommes assez confiants quant à leur fiabilité.

5. QUELLES SONT LES CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES ?

Ces études nous ont permis de confirmer qu'il existe un déficit énergétique dans les maladies neurodégénératives, et que ce déficit entraîne une perte de poids.

Sans doute faut-il apporter plus d'énergie dans le cycle de Krebs – grâce notamment à une molécule connue dans d'autres maladies. Un essai effectué dans le muscle chez un très petit nombre de patients s'est d'ailleurs avéré encourageant dans la mesure où il montre qu'il est possible de rétablir un profil anormal au moment de l'activation musculaire.

Qui plus est, nous disposons possiblement d'un marqueur du déficit énergétique au niveau cérébral, en tout cas dans la maladie de Huntington. Si vous n'avez pas de questions pour le moment, je propose de vous présenter une autre étude en cours, l'étude BIOSCA, qui résume plusieurs des grands principes que je viens de vous exposer.

➤ La recherche clinique (BIOSCA...)

L'étude BIOSCA est coordonnée par Alexandra Dürr.

1. QUELS SONT LES OBJECTIFS DE LA RECHERCHE ?

Son principal objectif vise à rechercher le même biomarqueur que celui que nous avons trouvé dans la maladie de Huntington, à la fois à partir d'approches métabolomiques (recherche de métabolites sur des prélèvements périphériques plasmatiques standardisés) et d'études de spectroscopie, notamment du phosphore (étude du spectre de réponse énergétique dans le cerveau). Il s'agit donc de répondre à la question de l'existence d'indicateurs de déficit énergétique dans les ataxies spinocérébelleuses et, le cas échéant, s'ils peuvent constituer une cible sur le plan thérapeutique – avec notamment l'utilisation de la triheptanoïne. Mais il s'agit également de savoir si ces marqueurs pourraient servir pour d'autres essais thérapeutiques.

2. QUEL EST LE PLAN EXPÉRIMENTAL ?

L'étude BIOSCA n'est pas thérapeutique, mais observationnelle. Les patients sont reçus sur notre site, ici à l'ICM. Dans la mesure où il existe différents types de mutations, même si les symptômes peuvent être assez proches, nous avons constitué quatre groupes de patients (SCA1, SCA2, SCA3 et SCA7 – qui sont les SCA les plus fréquents), ainsi qu'un groupe de témoins pour permettre les comparaisons.



Fanny MOCHEL
Génétiennne
à l'Institut du Cerveau
et de la Moelle épinière,
Pitié-Salpêtrière

Nous avons prévu un total de 120 participants (80 patients et 40 témoins). Pour l'heure, nous en avons inclus environ la moitié.

La durée de l'étude est de deux ans par personne.

3. QUELS SONT LES CRITÈRES D'INCLUSION ET LE DÉROULÉ DES VISITES ?

Les critères sont standards. Le participant doit être majeur et habilité à passer une IRM cérébrale.

Lors de la visite, le patient doit être à jeun depuis 12 heures. Nous commençons par étudier sa composition corporelle, en évaluant l'existence d'un déficit au niveau du corps entier grâce à la calorimétrie. Nous opérons ensuite un prélèvement sanguin à jeun, qui permettra les analyses métaboliques que j'ai présentées tout à l'heure. Le participant peut alors prendre un petit-déjeuner. Nous enchaînons enfin sur l'imagerie cérébrale, pour quantifier les métabolites dans le cerveau grâce à la spectroscopie. Ces différentes étapes s'étalent sur une matinée et s'accompagnent de tests cliniques standards.

4. QUELLES SONT LES ÉTUDES UTILISÉES ?

Les études suivent le principe de comparaison du profil plasmatique de patients et de témoins à partir de la spectroscopie RMN. Une autre méthode, plus sensible, permet également de détecter des métabolites en plus petite quantité. Il s'agit de la spectrométrie de masse. Nous combinons donc la spectroscopie RMN et la spectrométrie de masse afin d'identifier une éventuelle distinction entre les patients et les témoins, mais également entre les patients des différents groupes génétiques. Le protocole est le même que celui qui est suivi dans le Huntington, et qui nécessite que les patients participent un minimum puisqu'il leur est demandé d'ouvrir et de fermer les yeux.

Nous opérons également de la spectroscopie standard afin de mesurer dans le cervelet la concentration des métabolites connus depuis longtemps, comme le N-acétylaspartate. Nous n'avons pas réellement d'hypothèse physiopathologique, mais nous cherchons à savoir si ces marqueurs peuvent être utilisés. Je précise qu'il s'agit d'examen non invasifs.

5. QUELLES SONT LES PERSPECTIVES ?

Identifier des marqueurs de la maladie pourrait nous servir à mieux suivre la progression de celle-ci, mais peut-être aussi nous donner des cibles thérapeutiques nouvelles ou confirmées.

Les acteurs qui participent à l'étude BIOSCA sont très nombreux. Il s'agit notamment d'assistants de recherche clinique, notamment Céline Jauffret, Sandra Benaich, Daisy Rinaldi avec qui vous êtes régulièrement en contact pendant l'étude. Par ailleurs, pour ce qui est de l'imagerie, les examens sont effectués au CENIR, à l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière. Mais nous travaillons également avec les laboratoires et des diététiciens. Enfin, nous avons plus récemment pris contact avec l'association CSC pour faire connaître l'étude. C'est d'autant plus important que nous n'avons pas encore recruté la totalité du nombre souhaité et indispensable de participants.

Échange avec la salle

■ Alexandra DURR

Avez-vous des questions ? Pour citer mon cas personnel, je suis susceptible d'être atteinte d'une ataxie autosomique dominante (SCA3) mais je n'ai pas encore passé de test génétique. Or j'ai entendu dire qu'il fallait que vous connaissiez avec certitude le statut génétique des personnes qui ne présentent pas encore de symptôme pour pouvoir les inclure à l'étude BIOSCA. Est-ce à dire qu'il faut que je passe par les « fourches caudines » du Conseil génétique si j'entends participer à cette étude ?

■ Alexandra DURR

N'y participez pas, d'autres le feront pour vous. Ne pas participer à l'étude n'est pas grave. Il ne faut surtout pas se forcer à passer un test génétique si l'on n'en a pas envie. Mieux vaut alors ne pas participer à une étude.

☒ Identifier des marqueurs de la maladie pourrait nous servir à mieux suivre la progression de celle-ci... ☒

Fanny Moche

■ Fanny MOCHEL

Nous encourageons évidemment les gens à participer à notre étude. Cela étant, et heureusement, d'autres personnes peuvent y participer, pour lesquelles les implications ne seront pas les mêmes que pour vous. Au stade où nous en sommes, qui est un stade opérationnel, vous ne devez pas motiver votre décision de passer un test génétique par la participation à l'étude. L'étude sera conduite de toute façon et vous en connaîtrez les résultats.

■ Pierre RUSTIN

Si l'étude n'est pas conclusive, que faire ? Cela n'exclut pas qu'il y ait un problème mitochondrial. Maintient-on l'idée que les problèmes énergétiques sont éventuellement importants, mais que la technique ne permet pas d'y répondre ? C'est d'ailleurs une partie du problème des maladies mitochondriales. La manipulation de l'oxygène et toutes les activités mitochondriales qui peuvent être affectées quand la mitochondrie ne fonctionne pas, permettent – ou non – de fermer une porte, mais il est très rare de pouvoir conclure « noir » ou « blanc ». Les études *in vivo* sont certes absolument requises et centrales mais souvent, les réponses qu'elles apportent restent marquées d'un grand point d'interrogation. On joue avec de toutes petites variations, dont nous avons parfois du mal à imaginer qu'elles aient des conséquences pathologiques, en particulier quand on les compare avec des malades qui souffrent de maladies mitochondriales primaires et importantes.

■ Fanny MOCHEL

C'est bien la raison pour laquelle je n'ai pas indiqué que nous allions ou pas trouver la preuve d'un problème énergétique et que nous élaborerons ou pas un traitement. J'ai évoqué toutes les questions qui nous ont conduits à envisager cette étude, mais ces questions sont peut-être indépendantes. Nous avons tout à fait conscience de la limite de sensibilité. Nous savons très bien que nous pouvons ne rien mesurer d'anormal au cours des tests. Par ailleurs, même si elle est axée sur des marqueurs énergétiques, notamment en spectroscopie du phosphore, cette étude inclut de nombreuses autres recherches de biomarqueurs (via de multiples approches techniques, spectro en protons, imagerie, approches métabolomique ou transcriptomique).

Nous faisons certes le choix d'utiliser des outils ciblés au regard de la thématique de la perte de poids, mais nous espérons qu'au moins un des biomarqueurs dont nous disposerons pourra servir pour d'autres essais thérapeutiques que ceux qui ciblent le problème d'énergie.

■ Alexandra DURR

Même dans SCA7, dont nous savons qu'elle est une maladie mitochondriale (présentation multi-systémique, rétinite pigmentaire, surdité), nous n'avons jamais rien trouvé en mito. Peut-être trouverons-nous quelque chose en spectro ?

■ Pierre RUSTIN

La démarche est évidemment parfaitement justifiée. Sauf erreur de ma part, la mitochondrie concerne plus les Friedreich que les SCAs ? L'étude BIOSCA permettra certainement de mieux comprendre le phénomène de fatigue dans les SCAs, qui est très important et qui se produit de façon très aléatoire et à des stades bien précis de la journée.

■ Fanny MOCHEL

Le cycle de Krebs dont je vous ai parlé est dans la mitochondrie. De très nombreux dysfonctionnements sont possibles et il existe donc des centaines voire des milliers de maladies mitochondriales. Il existe des problèmes mitochondriaux dans le Friedreich, mais aussi dans la quasi-totalité des maladies neurodégénératives (dont les ataxies, mais pas uniquement). L'une des questions qui se posent est donc de savoir si ces problèmes sont vraiment importants au point qu'il faille les traiter, ou s'ils existent sans pour autant constituer une cible thérapeutique intéressante. C'est pour y répondre que nous conduisons le type d'étude que je viens de décrire.

Concernant la fatigue, nous avons tout à fait conscience que ce symptôme très fréquent est véritablement handicapant. Il se retrouve dans les ataxies, mais aussi dans de nombreuses autres maladies dégénératives. Implique-t-il directement la mitochondrie ? C'est une très bonne hypothèse, que nous allons essayer d'approfondir. Cela étant, les raisons de la fatigue sont multiples et multifactorielles. Il est donc très difficile de les isoler les unes des autres. Certaines fatigues ne sont en rien liées à une production énergétique.

☒ Concernant la fatigue, nous avons tout à fait conscience que ce symptôme très fréquent est véritablement handicapant. ☒

Fanny Mochel

Au terme de l'étude, nous ne pourrions certainement pas exclure ou non un problème énergétique, comme l'indiquait Pierre Rustin, mais nous pourrions notamment mieux comprendre la fatigue – sous les réserves que je viens d'expliquer. D'une part, la fatigue n'est pas liée qu'à la mitochondrie. D'autre part, l'étude BIOSCA n'étudie pas que la mitochondrie et ne permettra pas de tout étudier de la mitochondrie non plus.

■ Giovanni STEVANIN

Vous voyez que c'est une étude qui s'attelle à une problématique complexe comme toujours en sciences. On n'est jamais certain qu'une étude aboutira à un résultat, voire même au résultat que l'on attend. Mais comme le dit Pierre Rustin, la démarche se justifie et les résultats seront à interpréter avec toutes les précautions qui s'imposent.

Je vous remercie. Je propose de céder maintenant la parole à Sandro Alves, qui est post-doctorant. Il a déjà fait une thèse, au Portugal, sur l'ataxie de Machado-Joseph (SCA3). Il réfléchit actuellement à une stratégie de traitement sur l'ataxie SCA7 après avoir eu une démarche similaire sur l'ataxie SCA3.



➤ Stratégie antisens dans les ataxies : exemple de SCA7

Bonjour à tous. Je souhaite aujourd'hui vous parler d'une potentielle stratégie thérapeutique pour un certain type d'ataxie, par ARN antisens dans un modèle de souris – étant entendu que cette stratégie peut également s'appliquer à d'autres types d'ataxie.

1. QU'EST-CE QUE L'ATAXIE SPINOCÉRÉBELLEUSE DE TYPE 7 (SCA7) ?

L'ataxie spinocérébelleuse de type 7 est une maladie neurodégénérative qui se transmet de façon héréditaire. Elle est causée par une mutation qui est une expansion de trinuécléotides (CAG) dans la région codante du gène SCA7 qui conduit à une expansion à polyglutamine dans la protéine ataxine 7. Celle-ci s'accumule de façon anormale dans le cerveau humain. Elle ne s'accumule pas seulement dans les régions les plus affectées par la pathologie, comme le cervelet, mais également dans des régions moins affectées comme le cortex.

Cette accumulation d'ataxine 7 mutée est toxique et induit une très forte perte neuronale, surtout au niveau du cervelet et du tronc cérébral. Les patients perdent alors le contrôle des mouvements volontaires.

Malheureusement, il n'existe aujourd'hui aucun traitement pour cette maladie très sévère.



Sandro ALVES
Docteur en biologie,
Post-doctorant à l'Institut
du Cerveau et de la Moëlle
épinrière, Pitié-Salpêtrière

2. COMMENT SE DÉROULE LA RECHERCHE ?

Pour comprendre ce qui se passe dans le cerveau humain en cas d'accumulation d'ataxine 7, des souris ont été génétiquement modifiées de façon à exprimer le gène qui contient la protéine ataxine 7 mutée. Dans un premier temps, ces souris nous aideront à étudier et à comprendre des mécanismes de dégénérescence. Puis, dans un second temps, nous utiliserons ces modèles pour suivre des approches thérapeutiques en vue de combattre la maladie.

Notre laboratoire utilise une technique qui permet de détecter l'expression de protéines directement sur les coupes du cerveau. En l'occurrence, nous avons recherché l'expression de la protéine ataxine 7.

Dans le cerveau des souris sauvages (saines), l'ataxine 7 a une expression dans le cytoplasme des cellules. En revanche, elle s'exprime plutôt au niveau du noyau des neurones dans le cerveau de souris atteintes de la maladie. Nous observons aussi, dans le cerveau des souris malades, des dépôts de protéines.

C'est précisément cette accumulation pathologique d'ataxine 7 mutée au cours du temps qui induit la maladie.

3. POURQUOI ET COMMENT RECHERCHER UNE STRATÉGIE ANTISENS ?

L'objectif de notre étude est de réduire le niveau d'ataxine 7 mutée dans le cerveau des souris porteuses de la maladie.

Plusieurs techniques ont été utilisées au cours des dernières années, dans différents modèles souris de maladie dégénérative. Notre étude vise, pour sa part, à mettre au point une stratégie alternative visant à appliquer des antisens spécifiques afin de bloquer de façon sélective les messagers qui codent pour la protéine ataxine 7.

Le processus régissant les principes de la vie est très simple : l'ADN (information génétique insérée à l'intérieur des chromosomes) est transcrit en ARN messager, qui est un négatif pour fabriquer les protéines. Lorsqu'une protéine est mutée, en l'occurrence l'ataxine 7, elle induit la maladie.

Pour leur part, les antisens sont des petites séquences d'ADN qui s'accrochent au messager qui fabrique la protéine. Ce dernier est alors

clivé et dégradé. Il ne peut plus produire la protéine qui induit la maladie. L'avantage des antisens par rapport aux traitements traditionnels est qu'ils agissent en amont, en stoppant l'expression du messager pour éviter la production de la protéine toxique.

Nous espérons donc qu'une stratégie antisens permettra d'empêcher la production d'ataxine mutée, de façon à ralentir l'évolution de la maladie.

• Validation de l'efficacité des antisens *in vitro*

Pour passer de la théorie à la pratique, nous avons établi une collaboration avec une société américaine leader dans le domaine qui nous a produit différentes séquences d'oligonucléotides antisens (ASOs) ciblant le messager qui code pour la protéine ataxine 7.

Nous avons introduit ces antisens dans des lignées cellulaires de souris avant de mesurer, 24 heures plus tard, la quantité du messager codant l'ataxine 7. Cela marche car, nous avons alors pu observer une réduction d'environ 90 % du messager codant l'ataxine 7, ainsi qu'une réduction significative du niveau de protéine fabriquée par le messager dans la cellule.

À ce stade, nous avons uniquement validé l'efficacité des antisens *in vitro*. Ce n'était pas le plus difficile ! Plus compliquée, en effet, est la validation *in vivo*.

• Validation de l'efficacité des antisens *in vivo*

Nous avons tenté de valider l'efficacité des ASOs en les injectant directement dans le cerveau d'une souris – qui est relativement similaire au cerveau humain.

Ainsi que je l'ai rappelé tout à l'heure, les régions les plus affectées dans l'ataxie SCA7 sont le cervelet et le tronc cérébral. Aussi avons-nous envisagé dans un premier temps une stratégie thérapeutique via injection stéréotaxique de l'antisens. Cette technique consiste à insérer une aiguille fine dans un petit trou effectué dans le crâne. Malheureusement, les antisens restent alors coincés au niveau du cervelet. Or la protéine mutée s'accumule dans la totalité du cerveau. Nous avons donc abandonné cette stratégie, pour en retenir une autre consistant à délivrer des solutions concentrées d'antisens dans le ventricule latéral, de façon à maximiser leur diffusion dans tout le cerveau et favoriser une diminution globale de l'ataxine 7. C'est en effet dans cette région qu'est produit le liquide céphalorachidien, qui passe ensuite dans le deuxième et le troisième ventricule pour irriguer tout le cerveau.

☞ L'avantage des antisens par rapport aux traitements traditionnels est qu'ils agissent en amont... ☞

Sandro Alves

Pour l'instant, nous avons effectué cette manipulation sur des souris sauvages (saines), uniquement. Nous avons constitué plusieurs groupes de souris sauvages, pour lesquelles nous avons injecté dans le ventricule latéral, soit une solution saline, soit une solution d'antisens dosée de façon variable suivant les groupes. Un mois plus tard, nous avons prélevé les cerveaux des souris sauvages. Il est alors apparu que les antisens injectés dans le ventricule latéral s'étaient diffusés dans la totalité du cerveau. C'est très prometteur ! Nous espérons que cette stratégie fonctionnera aussi chez la souris malade.

Nous avons ensuite étudié en laboratoire différentes coupes du cerveau, correspondant au striatum (une structure profonde du cerveau) et au cervelet. Le striatum est situé immédiatement à proximité du ventricule latéral. Nous avons pu observer que les doses d'antisens injectées étaient plus fortement détectées dans cette région. Nous avons également pu analyser que l'injection d'antisens dirigé contre les messagers qui codent l'ataxine 7 entraînait une diminution d'environ 80 % du niveau endogène d'ataxine 7 dans le striatum des souris sauvages (saines).

Enfin, l'examen du cervelet a montré que l'injection d'antisens dans le ventricule latéral permettait une diffusion homogène, tant dans la couche granulaire que dans la substance blanche. Ces résultats sont très intéressants. Par ailleurs, des biopsies ont permis de montrer que ces injections d'antisens ont permis une diminution de 40 % du niveau d'ataxine 7 dans le cervelet des souris sauvages (saines).

Ce résultat plus modeste que le précédent s'explique par la localisation du cervelet, qui est plus éloigné du ventricule latéral que le striatum.

4. QUELLES SONT LES PERSPECTIVES ?

Pour l'instant, nous avons uniquement montré l'efficacité des antisens sur des cultures cellulaires et le cerveau des souris sauvages (saines). La validation de cette stratégie est encore en cours, puisqu'il nous reste 20 séquences d'antisens à analyser. Il s'agit notamment de savoir s'il existe des séquences plus puissantes que celles que nous avons déjà étudiées.

Une fois que nous aurons trouvé la bonne séquence et la bonne dose, nous procéderons à un essai sur des souris porteuses de la maladie. Cela nous permettra de voir s'il est possible d'empêcher l'accumulation d'ataxine 7 mutée et toxique causant la maladie, afin de ralentir l'évolution des symptômes.

A titre personnel, je considère que cette stratégie semble très prometteuse pour SCA7, mais aussi pour d'autres formes d'ataxies avec expansion à polyglutamine, comme les formes SCA1, SCA2, SCA3, SCA6 et SCA17.

Pour finir, je tiens à remercier les membres de mon équipe, le professeur Alexis Brice et son équipe, ainsi que toutes les personnes qui sont impliquées dans ce projet : Martina Marinello, Khalid El Hachimi, Giovanni Stevanin, Alexandra Durr et nos collaborateurs à l'Institut de myologie. Je remercie également Isis Pharmaceuticals qui nous a fourni les antisens, et l'AFM qui finance le projet. J'adresse enfin un très grand merci à l'association CSC et à toutes les familles, qui ont largement soutenu la recherche sur les SCAs au cours des dernières années. Je leur suis très reconnaissant.

Je vous remercie de votre attention.

Échanges avec la salle

■ Giovanni STEVANIN

Merci, Sandro. J'imagine que votre intervention va susciter de nombreuses questions car c'est une stratégie, prometteuse.

Concrètement, un médicament pourra-t-il stopper l'évolution de la maladie ?

■ Sandro ALVES

Pour le moment, nous sommes en train de valider cette stratégie d'antisens sur la souris, dont les séquences sont complémentaires avec l'ataxine 7 humaine. Cette stratégie semble fonctionner. Ensuite, avant de trouver le moyen de délivrer efficacement des antisens chez l'humain, nous devons valider cette stratégie chez les singes. Même si cette stratégie est prometteuse, nous ne sommes pas encore certains qu'elle sera efficace chez l'humain. Nous nous attendons toutefois à observer une diminution très significative du niveau d'ataxine 7 mutée (la protéine toxique qui cause la maladie). En outre, nous ne savons pas si une diminution de 40 ou même 60 % suffirait à stopper l'évolution de la maladie.

☒ ...cette stratégie semble très prometteuse pour SCA7, mais aussi pour d'autres formes d'ataxies... ☒

Sandro Alves

Les chercheurs doivent se montrer honnêtes et ne pas promettre aux personnes impliquées que cette stratégie fonctionnera chez l'humain.

Nous ne savons donc pas encore quand cette stratégie permettra un traitement pour l'humain... Nous attendons tous un aboutissement, mais il ne nous est pas encore possible de fixer une date.

■ Alexandra DURR

La méthode est prometteuse et a fait la preuve de son efficacité sur la maladie de Huntington. Elle a d'ailleurs fait l'objet d'un article dans le Figaro récemment. Cela étant, des inconnues demeurent. Les antisens peuvent-ils se diffuser dans un cerveau humain ? Est-il possible d'injecter une aiguille dans le cerveau humain ? Plusieurs pistes sont suivies.

■ Sandro ALVES

Les séquences que nous avons étudiées sont stables dans le cerveau durant quatre mois. Cela signifie que le messenger qui produit l'ataxine 7 est bloqué durant quatre mois. Au terme de cette période, son niveau redevient normal.

Si nous pouvons appliquer cette stratégie chez l'humain un jour, il faudra certainement envisager des injections régulières ou alors avec des mini-pompes qui permettraient au flux d'arriver en continu. Cette méthode d'infusion est déjà en essai clinique pour d'autres maladies cérébrales.

■ Giovanni STEVANIN

On sait dans d'autres modèles, que cela stabilise la maladie plusieurs mois après le traitement, même après disparition des antisens, donc on n'aura peut-être pas besoin de refaire trop souvent des injections. La grande interrogation est celle du bon moment pour traiter : dès le début des signes, longtemps avant l'apparition des symptômes ou même chez des personnes déjà sévèrement atteintes ? Est-ce que cela sera efficace ? Nous n'avons pas encore la réponse mais on sait que cela marche chez la mouche drosophile SCA7 comme vous le montrera Hervé Tricoire plus tard.

■ Sandro ALVES

L'expérience sur la maladie de Huntington montre que si les souris sont traitées tôt (avant l'apparition des symptômes), le traitement est plus efficace.

■ Alexandra DURR

Il faudra sans doute imaginer des traitements différents suivant les stades de la maladie.

■ Sandro ALVES

D'où l'importance de l'étude BIOSCA pour identifier la fenêtre à partir de laquelle on peut commencer à traiter le patient !

Est-il possible de tester la stratégie antisens sur une SCA3 également ?

■ Sandro ALVES

Oui, comme sur d'autres SCAs – sous réserve de changer les séquences d'antisens dans la mesure où les gènes concernés sont différents. Ainsi que je l'indiquais, nous avons encore 20 séquences ASOs contre le gène SCA7. Nous cherchons à savoir s'il existe des séquences plus puissantes que celles dont j'ai parlé aujourd'hui. Il apparaît que les récentes modifications chimiques sont cinq fois plus efficaces. Une centaine de souris sont actuellement sacrifiées en Californie pour valider ces données. Nous connaissons bientôt la réponse pour l'ataxie SCA7 et pourquoi pas ensuite passer à la SCA3 car par une approche similaire, on sait que cela a de grandes chances de marcher (du moins en théorie).

Existe-t-il des souris SCA7, SCA3, SCA1, etc. ?

■ Sandro ALVES

Oui. Le principe est le même.

Peut-on envisager une autre méthode que la piqûre, qui est très invasive ?

■ Sandro ALVES

Chez la souris, nous savons que l'injection d'une aiguille dans le cerveau entraîne toujours quelques séquelles. Mais l'injection en une fois dans le ventricule latéral n'induit pas de toxicité. En effet, les antisens pénètrent le liquide céphalorachidien, qui les diffuse ensuite dans tout le cerveau.

Un autre paramètre à prendre en compte pour définir le traitement est l'évolutivité de la maladie. Plus l'état de santé est dégradé, plus le traitement doit être correctif.

☒ La grande interrogation est celle du bon moment pour traiter... ☒

Giovanni Stevanin

■ Sandro ALVES

Bien sûr. D'où le caractère plus prometteur du traitement présymptomatique (avant l'apparition des signes cliniques) dont nous avons parlé ce matin.

■ Giovanni STEVANIN

Comme vous l'avez vu, c'est une stratégie prometteuse, du moins en théorie et qui marche in vitro. Mais il faut encore valider cela chez la souris, in vivo. Ce type d'approche est actuellement testé dans d'autres maladies neurologiques.

Je vous propose de répondre aux questions dans le cadre de la table ronde prévue en fin d'après-midi. Nous souhaitons maintenant vous présenter l'intérêt que présentent les modèles drosophiles pour avancer dans la compréhension des maladies du système nerveux humain. La parole est à Hervé Tricoire, de l'université Paris Diderot.



➤ Modèles drosophiles pour avancer dans la compréhension des mécanismes dans les maladies à triplets (formes dominantes et ataxie de Friedreich)

Je suis exotique, puisque je vais vous parler de drosophiles – ce qui peut vous sembler très éloigné de vos préoccupations ! J'espère en tout cas vous convaincre, à la fin de cet exposé, que ce n'est pas si éloigné que cela.

Le travail que nous avons conduit a été financé, entre autres, par vos deux associations. Je voulais donc avant tout vous remercier pour cette possibilité que vous nous avez donnée de connaître le modèle drosophile.

1. QUEL INTÉRÊT LES DROSOPHILES PRÉSENTENT-ELLES POUR ÉTUDIER LES PATHOLOGIES NEURODÉGÉNÉRATIVES ?

La drosophile a un cerveau mais n'a pas de cervelet. En revanche, toutes les cellules qui composent le cerveau humain y sont présentes. Ainsi, les neurotransmetteurs (les molécules qui transmettent les messages nerveux) sont à peu de chose près les mêmes chez l'humain et chez la drosophile.

Un autre intérêt de la drosophile réside dans son développement rapide et sa courte durée de vie, qui permettent de conduire des expériences vingt fois plus vite que sur une souris.

Autre avantage, le nombre d'animaux pouvant être réunis par mètre carré permet de travailler sur des effectifs très nombreux. En effet, nous pouvons mettre jusqu'à 40 000 drosophiles dans un incubateur, ce qui offre des statistiques d'analyse très intéressantes.



Hervé TRICOIRE
Docteur en biologie,
Responsable de l'équipe
Génétique du stress et du
vieillessement normal et
pathologique à l'université
Paris Diderot

De façon plus fondamentale, l'avantage avec la drosophile est que nous disposons d'une panoplie d'outils de génétique moléculaire qui permettent d'effectuer des opérations qui ne sont pas possibles avec d'autres modèles. Nous pouvons ainsi inactiver ou surexprimer à peu près n'importe quel gène dans un tissu donné de la drosophile – et de manière contrôlée dans le temps. Nous pouvons par exemple décider d'exprimer les gènes uniquement durant la phase adulte et non durant la phase de développement.

Au total, l'organisme de la drosophile est pertinent pour identifier de nouvelles voies thérapeutiques et tester des molécules pharmacologiques.

2. COMMENT LE MODÈLE DROSOPHILE PERMET-IL DE MIEUX COMPRENDRE LES ATAXIES DOMINANTES SCA1, SCA3 ET SCA7 ?

Pour modéliser une pathologie neurologique chez la drosophile, nous amenons deux types de transgènes (gènes que l'on apporte de l'extérieur) – l'un pour exprimer une protéine de régulation qui permettra de choisir le lieu et le moment d'expression de l'autre transgène qui code pour la protéine humaine causant la maladie. En l'occurrence, cette seconde protéine est l'ataxine 7, qui porte les expansions de polyglutamine.

Nous pouvons aussi utiliser des protéines régulatrices mutées, de telle façon qu'elles soient inactives en temps normal, mais produites avec l'apport d'un inducteur (le RU486) que l'on peut mettre dans la nourriture de la mouche. Cela permet de contrôler temporellement l'expression du transgène : il suffit de placer l'inducteur pour que la protéine pathologique soit produite.

Une fois que nous disposons d'un modèle de ce type, nous recherchons des signes cliniques, comme conséquences de l'expression de la protéine pathologique dans la drosophile, de manière à rechercher des facteurs modificateurs soit génétiques soit pharmacologiques de la pathologie. Permettez-moi d'en citer quelques exemples.

• Observation d'agrégats avec la protéine fabriquée à partir du gène SCA7 muté

Ce premier exemple est tiré du modèle SCA7, qui remonte à un certain temps et que nous avons développé avec les équipes d'Alexis Brice et de Giovanni Stevanin. Dans ce modèle, nous avons exprimé le gène SCA7 muté ce qui a permis de reproduire un certain nombre d'éléments de la pathologie humaine. Nous observons, comme vous l'avez déjà vu dans les modèles présentés par Sandro Alvez, de magnifiques agrégats ou

dépôts protéiques dans les neurones qui expriment la protéine mutante. Dans la mesure où nous pouvons travailler beaucoup plus vite sur la drosophile que sur la souris, nous savons déjà ce qui se passe lorsque nous arrêtons de produire la protéine SCA7 chez l'adulte, les agrégats sont progressivement éliminés. On observe également que la durée de vie et le comportement de ces mouches sont plus normaux que chez les animaux qui expriment la protéine tout le reste de leur vie.

C'est très encourageant, et cela motive complètement les essais sur la souris que mène Sandro Alves dans le but d'interrompre l'expression du gène SCA7.

• Expression des ataxines pathologiques et longévité des mouches

Outre les agrégats, nous travaillons plus précisément sur la longévité, l'objectif étant de suivre la mortalité des animaux au cours du temps.

Nous avons pu montrer que l'induction de la protéine pathologique grâce au RU486 présent dans la nourriture des drosophiles réduisait de façon très significative leur longévité.

• Suppression génétique de l'ataxie

Nous pouvons croiser ces animaux « ataxiques » avec d'autres types d'animaux dans lesquels nous avons amené des mutations. Ces mutations vont modifier l'expression d'autres gènes, et on espère que certaines de ces mutations amélioreront la longévité.

L'expression de la protéine SCA3 pathologique dans l'œil d'une drosophile entraîne une dépigmentation de cet œil et une disparition presque totale de la rétine. En revanche, quand on modifie l'expression d'une autre protéine (via un croisement avec une drosophile mutante pour un autre gène, ici dPRIM1), nous avons pu montrer que l'on restaure une rétine quasiment normale pour l'animal. Il s'agit là d'une façon rapide de rechercher des modificateurs de pathologies à polyglutamine. Le résultat est ici spectaculaire, même si nous ne comprenons pas exactement pourquoi pour l'instant.

1998-2012 : quel bilan des études génétiques menées sur les différents modèles ?

Plusieurs dizaines de modificateurs génétiques conservés chez l'homme ont été identifiées, ce qui ouvre de nouvelles pistes thérapeutiques potentielles (*cf. ci-dessus*).

Certains de ces modificateurs génétiques semblent communs à plusieurs ataxies dominantes, tandis que d'autres sont spécifiques à telle ou telle

« ...l'organisme de la drosophile est pertinent pour identifier de nouvelles voies thérapeutiques et tester des molécules pharmacologiques. »

Hervé Tricoire

maladie. Il semble donc y avoir une complexité relativement importante, en la matière.

Par ailleurs, l'action de plusieurs modificateurs reste encore incomprise. Un important travail de recherche reste indispensable pour comprendre les mécanismes de suppression.

Je tiens en outre à signaler que dans tous ces modèles ou presque, toutes ces études ont été concentrées sur le neurone. Il s'agit, à mon sens, d'un petit problème. Dans un cerveau, en effet, il existe d'autres populations que les neurones, notamment des populations de cellules gliales qui jouent un rôle important dans le maintien des neurones et dans leur bon fonctionnement. Il en est de même dans un cerveau de drosophile. Or nous avons pu observer que l'expression de protéines pathologiques dans les cellules gliales adultes diminue aussi la longévité des drosophiles. Cela signifie que les problèmes liés aux cellules gliales sont sans doute aussi importants que les problèmes neuronaux. D'ailleurs, pour faire le lien avec l'exposé sur les déficits énergétiques, il a été montré dans des modèles d'Huntington réalisé dans les cellules gliales des drosophiles que certains défauts énergétiques mis en évidence pouvaient être sauvés par certains composants.

En résumé, plusieurs questions ne sont pas encore abordées. Les modificateurs des ataxies sont-ils les mêmes dans les neurones et les cellules gliales, par exemple ? L'efficacité d'une molécule thérapeutique candidate au test peut-elle ou non être la même dans les deux types de cellule ?

Qu'il s'agisse d'une ataxie SCA3 ou de la maladie de Huntington, l'expression d'une protéine pathologique dans la glie entraîne de très forts déficits de longévité. Reste à comprendre, à partir de ces modèles, si les modificateurs et les molécules potentielles sont efficaces. Nous disposons de toute une série d'outils nouveaux que nous pouvons mettre en œuvre.

3. COMMENT LE MODÈLE DROSOPHILE PERMET-IL DE MIEUX COMPRENDRE LES ATAXIES RÉCESSIVES, NOTAMMENT L'ATAXIE DE FRIEDREICH ?

L'ataxie de Friedreich est liée à une diminution de la frataxine, qui est une protéine mitochondriale impliquée dans la synthèse des centres fer/soufre. Dans la pathologie, la dégénérescence neuronale est parfois accompagnée d'une cardiomyopathie (atteinte cardiaque) significative

observée chez deux tiers des patients. Aussi avons-nous récemment développé au laboratoire un modèle cardiaque de l'ataxie de Friedreich pour analyser les conséquences de l'inactivation de la frataxine dans le cœur de la drosophile – car la drosophile a un cœur ! Ce dernier est en fait un vaisseau dorsal ouvert, qui permet de faire bouger le liquide interstitiel.

Nous avons pu filmer les battements du cœur de la drosophile *in vivo*, grâce à une petite protéine fluorescente. D'une part, comparé à un cœur normal, un cœur frataxique est complètement dilaté, de la même manière qu'est dilaté le cœur dans la pathologie humaine. D'autre part, le cœur frataxique bat beaucoup moins vite que le cœur sain.

A partir de là, nous avons comparé un cœur contrôle, un cœur frataxique et un cœur traité avec un composé pharmacologique. Il est alors apparu que ce traitement permettait une récupération quasi totale du cœur frataxique. Nous étudions actuellement d'autres symptômes liés à l'ataxie, pour voir si ce composé est efficace sur d'autres tissus. En tout cas, le résultat que nous avons déjà obtenu est potentiellement intéressant, même s'il n'est pour l'instant question que d'une drosophile. Ne l'oubliez pas. La plus grande prudence est de mise. Il convient désormais de passer à l'étude sur la souris.

4. QUELS SONT LES NOUVEAUX OBJECTIFS À ATTEINDRE ?

Notre objectif de base est de recaractériser les modèles biologiques que nous venons d'établir, qui nous paraissent fort importants à analyser, notamment en termes de modificateurs.

A plus long terme, l'objectif est de trouver des molécules pharmacologiques, en disposant de modèles plus rapides et faciles à cribler. Aussi essayons-nous de mettre au point des tests comportementaux plus rapides qui permettraient de faire du criblage à moyen débit de composés. Plusieurs pistes sont à l'étude.

Je remercie toutes les personnes qui ont participé à nos travaux, à commencer par ma collaboratrice de toujours, Véronique Monnier, mais aussi Anita Reinhardt et Christelle Lasbleiz qui ont fait leur post-doc au laboratoire, ainsi que Raheleh Heidari qui fait actuellement une thèse sur le problème du criblage dans nos modèles. Nous avons également étroitement collaboré avec Giovanni Stevanin et son équipe, ainsi qu'avec l'université de Bonn. Enfin, nous collaborons maintenant avec Jean-Michel Camadro sur le modèle Friedreich.

...ce traitement permettait une récupération quasi totale du cœur frataxique.

Hervé Tricoire

Échanges avec la salle

■ Giovanni STEVANIN

Je vous remercie d'avoir fait battre le cœur de plein de gens, en plus de celui de vos drosophiles, et de nous avoir fait partager ces résultats très encourageants ! Y a-t-il des questions ?

■ Sandro ALVES

Pourquoi avez-vous choisi la protéine dPrim1 pour tester l'effet sur l'ataxie SCA3 ? Remplit-elle une fonction particulière ?

■ Hervé TRICOIRE

Elle a une fonction plus que particulière, puisqu'elle intervient dans le tout début de la réplication de l'ADN. Cela étant, j'aurais pu ne pas mentionner son nom sur mes transparents car rien ne dit que c'est elle qui est réellement impliquée. En tout cas, le résultat est sûr.

■ Giovanni STEVANIN

Oui, cela peut être un effet indirect. En ce qui concerne, l'Idebenone, fonctionne-t-elle moins bien sur les drosophiles Friedreich ?

■ Hervé TRICOIRE

Nous n'avons pas encore fait de tests extensifs sur l'Idebenone. Il est donc un peu tôt pour vous répondre. L'inconvénient majeur du criblage des composés est souvent que les résultats obtenus sont des « courbes en cloche » (la réponse finit par retomber). Il faut donc balayer des gammes relativement importantes de doses. C'est un véritable problème.

Dans la méthode proposée par Sandro Alves, les agrégats restent au niveau du noyau si j'ai bien compris.

■ Hervé TRICOIRE

Dans le modèle drosophile, nous faisons exprimer chez l'animal la protéine SCA7 avec ses polyglutamines. Puis nous arrêtons sa production, en retirant l'inducteur. Nous pouvons alors suivre le nombre d'agrégats et observer leur comportement. En l'occurrence, il apparaît qu'ils sont progressivement éliminés une fois que la production de la protéine est stoppée.

Jusqu'à zéro ?

C'est difficile à dire, ne serait-ce que dans la mesure où le temps de vie d'une drosophile est particulièrement court.

Ma question n'est pas neutre, puisqu'elle vise à savoir si les agrégats jouent un rôle protecteur ?

■ Hervé TRICOIRE

Nous ne savons pas. Personne ne le sait, pour l'instant.

■ Giovanni STEVANIN

Ils jouent certainement un rôle protecteur au départ. La cellule se protège en séquestrant la protéine toxique. Mais, après un certain temps, les agrégats séquestrent de nombreuses autres protéines. Ils peuvent donc finir par devenir responsables de la souffrance et de la mort cellulaire. Je vous remercie. Passons à l'intervention de Monsieur Rustin sur l'ataxie de Freidreich. Il est chercheur à l'Hôpital Robert Debré.

⏪ ...ils (agrégats) sont progressivement éliminés une fois que la production de la protéine est stoppée. ⏩

Hervé Tricoire

Mitochondries et thérapeutique dans la maladie de Friedreich



Pierre RUSTIN

Directeur de recherches au CNRS,
hôpital Robert Debré

Bonjour. Je suis supposé vous parler des aspects mitochondriaux dans la thérapie de la maladie de Friedreich, mais vous verrez que je dériverai un peu sur des découvertes très récentes. Elles sont positives en ce sens qu'elles permettent de mieux comprendre la maladie, mais dans le même temps elles rendent plus complexe ce que nous pouvons et devons faire.

1. QUELLE EST LA VISION TRADITIONNELLE DE L'ATAXIE DE FRIEDREICH ?

Dans la vision traditionnelle de ce qu'est l'ataxie de Friedreich, la séquence des événements est assez linéaire depuis le gène jusqu'aux mitochondries, en bout de chaîne. De l'ordre de 95 % des patients sont concernés par une grande expansion des petites séquences GAA dans le premier intron du gène. A la suite de cette expansion, la machinerie qui lit l'ADN pour fabriquer l'ARN rencontre des difficultés. L'ARN est alors produit en moindre quantité, ce qui réduit à son tour son produit, la frataxine – la protéine frataxine étant alors dirigée dans la mitochondrie. Or il a été très bien établi et montré que cette protéine, dans un certain nombre de conditions, est requise pour fabriquer des molécules primordiales pour la cellule : les centres fer/soufre, qui entrent dans la composition d'autres protéines. Ces composés permettent ainsi à de nombreuses protéines de travailler.

En l'absence des protéines qui contiennent les centres fer/soufre, les mitochondries travaillent mal. En effet, plusieurs protéines qui sont nécessaires au fonctionnement des mitochondries possèdent des centres fer/soufre. Une partie du travail des mitochondries est donc mal faite –

l'ATP, en particulier, présent en plus petite quantité. Il va également y avoir production d'espèces réactives de l'oxygène que l'on appelle ROS. Nous pouvons donc imaginer qu'à la suite de cela, un stress oxydant se produit dans les cellules, ce qui peut induire des dysfonctionnements.

2. QUELLES SONT LES APPROCHES THÉRAPEUTIQUES DÉJÀ MISES EN ŒUVRE ?

Depuis près de dix ans, cette vision traditionnelle a permis d'envisager différentes approches thérapeutiques, dont un certain nombre ont été mises en œuvre.

Nous savons notamment que nous pouvons amener la version correcte du gène défectueux, en tout cas dans les modèles animaux et cellulaires. C'est ce que l'on appelle la thérapie génique.

Nous pouvons également dérouler la boucle d'ADN pour permettre d'améliorer sa lecture et augmenter la quantité de frataxine produite. J'y reviendrai.

Par ailleurs, certains effets plus ou moins étranges ont été rapportés, en particulier celui de l'EPO qui semble pouvoir augmenter la quantité de frataxine produite quand elle est donnée à des êtres humains – même si nous ne savons pas encore par quel mécanisme. Les premiers essais thérapeutiques qui ont été menés en Italie ne sont pas très prometteurs. Il semblerait que l'effet ne soit pas très spectaculaire, en tout cas sur la moyenne des patients.

Une autre approche développée à l'heure actuelle consiste à agir sur les voies de signalisation. Le fonctionnement d'une cellule est sous le contrôle de grandes voies de signalisation, qui permettent à l'organisme de s'adapter aux conditions du milieu. Certaines de ces voies de signalisation sont celles qui contrôlent les activités mitochondriales et qui disent à la cellule de fabriquer plus de mitochondries ou des mitochondries plus actives. Vous avez sans doute entendu parler du resveratrol, mais il existe en fait plusieurs molécules intéressantes qui agissent au niveau de ces voies de signalisation. Je vous parlerai tout à l'heure de la pioglitazone que nous sommes en train d'essayer dans le cas de l'ataxie de Friedreich. Pour leur part, les premières molécules qui ont été utilisées dans le cas de l'ataxie de Friedreich sont liées à la vision que nous avons de la perte des centres fer/soufre. Cette perte est associée à une libération du fer dans les mitochondries, pouvant induire un stress oxydant. Plusieurs molécules ont donc été ou sont encore en cours d'étude pour essayer de

lutter contre ce stress. C'est notamment le cas de l'Idobenone, qui est distribué à de nombreux malades.

Par ailleurs, certaines molécules ne sont pas antioxydantes à proprement parler mais sont capables, par leurs réactions, d'acquérir des propriétés antioxydantes. A l'inverse, de très nombreuses molécules sont des antioxydants purs. On en trouve notamment dans l'alimentation. Plusieurs sont à l'essai dans le monde, en particulier aux Etats-Unis. Nous ne disposons pas de réponse très claire pour le moment. Les enjeux économiques sont tels que je ne sais pas comment seront manipulés les résultats.

Enfin, en bout de chaîne, il est possible de piéger le fer qui serait présent dans les mitochondries – sachant qu'il est extraordinairement compliqué de savoir si le retrait du fer présente des effets positifs ou négatifs. Ces molécules sont, de toute façon, extrêmement dangereuses à utiliser. Les résultats des quelques essais qui ont été effectués en France ou en Australie ne sont d'ailleurs pas très sympathiques.

3. QUEL EST LE MÉCANISME D'ACTION DES LIGANDS ?

Je considère que l'approche qui consiste à agir sur les voies de signalisation est l'une des plus intéressantes actuellement. Je ne peux pas vous présenter les résultats des essais conduits à l'hôpital pour le moment. Ce serait prématuré, mais sachez que des recherches sont en cours et que rien n'est à rejeter jusqu'ici.

Le principe des molécules agissant sur les voies de signalisation, en tout cas de la pioglitazone, est d'agir à travers un récepteur nucléaire placé à la surface du noyau des cellules. Ce récepteur migre ensuite à l'intérieur du noyau pour activer l'expression d'un certain nombre de gènes. Ces gènes cibles sont tous impliqués dans des processus mitochondriaux, ce qui nous intéresse dans l'ataxie de Friedreich vu la physiopathologie de la maladie.

Cela étant, la plus grande prudence est de mise dans la mesure où ces molécules agissent sur des voies de signalisation qui contrôlent une infinité de gènes. Elles sont extrêmement efficaces mais potentiellement très dangereuses aussi.

La pioglitazone est le ligand d'une catégorie de récepteurs PPAR qui active directement la synthèse de la frataxine. Il est donc très intéressant d'utiliser la pioglitazone dans la maladie de Friedreich. Nous savons,

en outre, que l'augmentation d'expression de la frataxine augmente la production des enzymes antioxydantes et diminue l'expression des facteurs d'inflammation. Cela a été bien montré dans un certain nombre de maladies neurodégénératives chez la souris.

Ces avancées ont conduit voilà quelques années à organiser un essai clinique avec la pioglitazone à l'hôpital Robert Debré. Cet essai est conduit par Isabelle Husson. Pour le moment, une quarantaine de malades ont été traités. Nous connaissons les résultats début 2013 si tout se passe bien. Vous comprendrez que je ne puisse pas vous en dire plus pour le moment. J'espère simplement que ces résultats seront positifs.

4. QUEL EST LE RÔLE DU FOND GÉNÉTIQUE ?

En revanche, je souhaite vous parler d'un sujet absolument central pour l'étude de toutes nos maladies. Nous avons tous entendu aujourd'hui que les phénotypes (ensemble de symptômes) de toutes les maladies dont nous parlons dépendent fortement du fond génétique des animaux.

Quand nous étudions une maladie, si au lieu de prendre une lignée de souris (souris ayant toutes le même fond génétique), nous prenons une population de souris génétiquement non pures, c'est-à-dire que le gène muté responsable de la maladie soit entouré de variants qui sont différents d'une souris à l'autre. Alors nous constaterions que l'expression de la maladie varie d'un individu à l'autre. Cela n'a rien de surprenant et nous nous retrouverions alors dans la situation humaine.

Prenons l'exemple des souris ataxiques dites Arlequin que Paule Bénéit étudie dans notre laboratoire. Une partie de ces souris réussissent moins bien à se tenir sur un tube qui tourne que les contrôles, tandis que d'autres font au moins aussi bien que les contrôles. Le gène est pourtant le même et toutes ont pourtant la même mutation. La seule différence, au sein de cette population, est le fond génétique. Cela peut sembler évident. Mais il est intéressant de constater qu'il en est de même concernant la réponse au traitement : nous finissons par distinguer deux groupes au sein de cette population de souris qui ont un fond génétique extrêmement variable. Un groupe fait beaucoup mieux avec les médicaments et un autre n'y répond pas. Et lorsque nous faisons la moyenne de tout cela, nous obtenons systématiquement des résultats non significatifs.

Pour répondre à cette question, il faudrait des millions d'animaux. J'ai posé la question à des statisticiens, qui m'ont confirmé qu'il suffirait de multiplier les animaux. Mais dans nos maladies rares, allez réunir

...l'expression de la maladie varie d'un individu à l'autre.

Pierre Rustin

un million de malades ! Essayez même d'en réunir 1000 ou 100 avec exactement la même mutation... Ce type d'observation est catastrophique. Il signifie que dans la plupart des essais, une partie des malades pourraient répondre au traitement tandis qu'une autre partie n'y répondrait pas. Et lorsque nous voudrions rapporter les résultats aux autorités pour la mise sur le marché de ce médicament, nous serions systématiquement refoulés, les résultats n'étant pas significatifs. Nous nous entendrions dire que nous n'avons pas établi que notre drogue, quelle que soit l'approche expérimentale retenue, a un effet indiscutable. Nous devons absolument nous saisir de ce problème et réfléchir à la conception des essais.

5. QUELLES SONT LES PERSPECTIVES ?

Je souhaite, pour finir, dire un mot de l'approche que j'ai évoquée plus haut et qui consiste à agir sur l'enroulement de l'ADN. Un gène peu se coller à de grosses protéines appelées histones, puis s'enrouler autour d'elles. Ces histones peuvent être soit déacétylées – l'ADN est alors condensé et la machinerie qui lit le gène travaille mal. Si on les acétyle, alors l'ADN se relâche et la lecture du gène s'en trouve facilitée. Nos collègues américains ont donc eu l'idée de jouer sur l'état d'enroulement de l'ADN sur les histones en changeant l'état d'acétylation de ces protéines, pour permettre une lecture du gène.

Certaines approches sont désormais probablement moins prometteuses, mais nous gardons l'espoir que les thérapies que nous développons actuellement restent valables.

Pour finir, je tiens à remercier la kyrielle d'associations dans le monde qui soutient notre travail sur l'ataxie de Friedreich. Toutes ces associations se sont réunies pour assurer un salaire, celui d'Aurélien Bayot. Elles seront contentes de voir que son travail aboutit à des résultats très intéressants. Je vous remercie.

Échanges avec la salle

■ Giovanni STEVANIN

Merci pour cette excellente présentation, riche de nouveautés. Avez-vous des questions ?

■ Claudie BALEYDIER

Pouvez-vous établir un lien avec l'essai qui se déroule actuellement à Turin sur les inhibiteurs de déacétylases ?

■ Pierre RUSTIN

C'est précisément ce dont je parlais. Ces molécules vont manipuler l'expansion pour permettre une meilleure lecture du gène qui sera ainsi mieux traduit en ARN puis en protéine frataxine. Il est donc très intéressant de les tester.

■ Claudie BALEYDIER

Avez-vous plus d'informations sur cet essai ?

■ Pierre RUSTIN

Non. Cet essai n'a démarré qu'en mars dernier.

Quelles sont les autres molécules qui existent pour les approches thérapeutiques ?

■ Pierre RUSTIN

Je pense qu'il existe une quinzaine de molécules au total, dont beaucoup remplissent une fonction extrêmement proche. De nombreuses molécules ressemblant à l'Idebenone ont été produites et sont vendues comme des molécules antioxydantes légèrement modifiées. Mais elles n'empêcheront pas les problèmes que nous rencontrons avec l'Idebenone. La vraie problématique est celle de la démonstration de leur efficacité ou non comme je l'ai évoqué.

☒ De nombreuses molécules ressemblant à l'Idebenone ont été produites et sont vendues... La vraie problématique est celle de la démonstration de leur efficacité... ☒

Pierre Rustin

■ **Claudie BALEYDIER**

Grâce à FARA, association de recherche américaine, de nombreux essais sont menés de par le monde. Vous travaillez beaucoup en collaboration.

■ **Pierre RUSTIN**

Les collaborations entre les chercheurs sont bonnes concernant la maladie de Friedreich, en effet.

■ **Giovanni STEVANIN**

Merci beaucoup, Pierre.

Nous allons terminer cette journée avec une table ronde réunissant les représentants des associations, les médecins et les chercheurs. N'hésitez pas à leur poser toutes vos questions, y compris celles que vous n'osez pas poser d'habitude. Les multiples intervenants présents aujourd'hui essaieront d'y répondre.



4. SESSION 4

82 ➤ Comment avancer plus vite ensemble vers la thérapie ?

➤ Comment avancer plus vite ensemble vers la thérapie ?

Est-il plus facile pour vous d'utiliser des mouches ?

■ Hervé TRICOIRE

C'est surtout plus rapide. Mais nous avons aussi pleinement conscience des limites de nos modèles, les mouches n'étant en rien des humains ! Certains éléments qui peuvent exister dans la pathologie humaine n'existent peut-être pas dans la pathologie que nous simulons chez la mouche, mais elles peuvent répondre à certaines questions.

Nos maladies ont la caractéristique d'être évolutives. Pourtant, l'administration – c'est-à-dire tous les services de type MDPH (maison départementale des personnes handicapées) qui gèrent les questions de dépenses et d'aide à la personne – ne prend pas du tout en compte cet aspect et attend que nous soyons confrontés aux problèmes pour commencer à établir un dossier, dont le traitement requiert souvent plusieurs mois.

Comment anticiper la dégénérescence et les problèmes à venir ?

■ Alexandra DURR

Je regrette moi aussi la lenteur de réaction des MDPH. Par ailleurs, il est très difficile d'aborder le sujet des aides avec les patients avant qu'ils en aient besoin. Quoi qu'il en soit, il est vrai que la réactivité des MDPH est problématique. Sans compter que les délais varient significativement

d'un département à l'autre, ce qui accroît encore l'injustice. Sachez en tout cas que nous passons notre temps à contacter les MDPH pour accélérer ces délais.

■ Hubert BŒUF

Il ne faut pas oublier que les MDPH sont dépendantes des conseils généraux. Chaque conseil général vote un budget pour les MDPH, qui est fonction de ses idées et de ses disponibilités. Cela explique les variations parfois significatives d'un département à l'autre.

Par ailleurs, lorsque vous remplissez une demande d'aide auprès de la MDPH, il est impératif que vous remplissiez la rubrique « projet de vie ». En effet, c'est uniquement sur ce point que les MDPH se prononcent, et pas du tout en fonction de la maladie. Si vous omettez de préciser que vous avez besoin d'une aide pour la toilette, par exemple, elle ne vous sera pas accordée – même s'il est de notoriété publique que votre maladie requiert une aide pour la toilette.

Pourquoi les services de soins infirmiers à domicile qui sont pris en charge par la Sécurité sociale pour d'autres maladies ne sont-ils pas proposés pour l'ataxie de Friedreich ?

■ Hervé TRICOIRE

Vous pouvez tout à fait en bénéficier, trois fois par jour même s'il le faut.

■ Fanny MOCHEL

L'hospitalisation à domicile (HAD) comprend un plateau technique qui nécessite un certain nombre de soins. C'est différent des visites d'infirmières à domicile ou de l'aide accordée par les MDPH pour une auxiliaire de vie.

En effet, j'ai bénéficié de soins infirmiers à domicile qui ont été pris en charge.

■ Hervé TRICOIRE

Une infirmière libérale peut venir vous aider à faire votre toilette et à prendre vos repas. Il s'agit là de soins infirmiers et pas d'une hospitalisation à domicile.

Pourquoi, dans le cadre de l'étude BIOSCA, avez-vous choisi de retenir les SCA1, 3 et 7 ?

■ Fanny MOCHEL

Ce sont les pathologies pour lesquelles nous suivons le plus grand nombre de patients. Si nous conduisons une étude sur trois ou quatre patients seulement comme pour certaines formes de SCA, nous éprouverons de réelles difficultés à tirer des conclusions. D'autant que comme l'a précisé Pierre Rustin, le fond génétique varie déjà largement au sein d'une même maladie. Nous espérons donc compter au moins 20 patients par groupe, ce qui est globalement raisonnable pour les approches que nous entendons suivre – même si un nombre plus élevé serait encore mieux.

■ Giovanni STEVANIN

Il faut savoir que les résultats trouvés dans une forme d'ataxie peuvent être intéressants et confirmés dans une autre forme d'ataxie. Donc chaque étude peut être utile pour tous.

■ Alexandra DURR

Si nous travaillons sur de trop petites cohortes de patients et ne montrons rien, nous ne saurons pas comment poursuivre ensuite. Nous devons donc mettre toutes les chances de notre côté. C'est la raison pour laquelle nous avons choisi des patients qu'il sera facile de « recruter », parce qu'ils sont plus nombreux, et que nous connaissons. En effet, nous avons déjà suivi certains d'entre eux et nous savons comment la maladie évolue dans le temps. Nous nous plaçons simplement dans la meilleure situation pour obtenir des résultats.

Savez-vous pourquoi ces pathologies concernent le plus grand nombre de patients ?

■ Alexandra DURR

Non, nous ne le savons pas.

■ Giovanni STEVANIN

Il y a parfois ce que le généticien appelle un effet fondateur : une mutation dans un gène a lieu chez un ancêtre et se transmet localement dans une population, généralement isolée. C'est ainsi que l'ataxie SCA3 est très fréquente dans les îles des Azores et que l'ataxie SCA2 est très courante à Cuba.

■ Fanny MOCHEL

La question du fond génétique effraie beaucoup, quand nous faisons des essais thérapeutiques. Cela étant, avec les études de biomarqueurs, nous souhaitons créer des modèles de la maladie, en intégrant de très multiples informations y compris de biologie et d'imagerie et en prenant en compte la notion de variabilité. De tels modèles nous seront très utiles pour la recherche sur les maladies rares. Nous ferons intervenir, à cet égard, le savoir d'aujourd'hui en mathématiques et en modèles. C'est d'ailleurs déjà le cas dans d'autres maladies neurodégénératives. Nous devons faire preuve de patience, car le recueil de toutes ces données requiert du temps. Mais ce sont elles qui nous permettront d'observer de petits effets, même dans les maladies rares.

■ Alexandra DURR

Même SCA1 diffère largement d'une personne à l'autre. C'est la raison pour laquelle nous devons intégrer tous les paramètres.

Vous n'avez pas parlé des ataxies liées au chromosome X. Disposez-vous des informations voire des statistiques sur ces pathologies ?

■ Cyril GOIZET

Il est vrai que ce groupe de pathologies n'était pas inscrit au programme de la journée. Très peu de gènes donnant une ataxie cérébelleuse pure sur le chromosome X sont connus. A ce jour, le seul qui est vraiment impliqué dans des formes d'ataxie est celui du syndrome de l'X fragile, mais avec non pas des mutations mais des prémutations plus courtes, chez des personnes qui ne sont pas porteuses du déficit intellectuel mais chez qui peuvent apparaître au cours de la vie des problèmes neurodégénératifs dont des tremblements, des difficultés de mémorisation, des difficultés

🔍 Nous nous plaçons simplement dans la meilleure situation pour obtenir des résultats. 🔍

Alexandra Durr

intellectuelles – avec l'ataxie au premier plan. Il s'agit du syndrome FXTAS. Je vois très peu de ces pathologies en consultation.

A ce stade, nous ne connaissons pas de maladies du cervelet telles que celles que nous avons présentées aujourd'hui liées au chromosome X.

Je voulais revenir sur l'ataxie AOA1, pour vous demander où en est l'essai clinique qui devait avoir lieu il y a cinq ou six ans. Nous l'attendons toujours. Que s'est-il passé ? Il y a quatre ans, il nous avait été répondu qu'il débiterait « le mois prochain ». Depuis, nous n'avons plus aucune nouvelle.

■ Alexandra DURR

Cet essai a été accepté dans le cadre du programme hospitalier de recherche clinique (PHRC). Face au manque de financement, nous avons contacté une société allemande qui devait mettre le médicament gratuitement à notre disposition. Les discussions ont été très longues – jusqu'à aujourd'hui. Toutes ces années qui se sont écoulées ont été consacrées à la discussion. Mais un accord aurait été signé récemment entre l'AP-HP (Assistance-Publique Hôpitaux de Paris), le PHRC (Programme hospitalier de Recherche Clinique) et cette société. Ce sont en tout cas les dernières nouvelles dont je dispose. Dès que le contrat signé me sera transmis, l'essai pourra commencer. C'est donc imminent.

J'ai alerté les pouvoirs publics et j'ai récemment reçu un courrier de l'ANSM m'indiquant que vous pouviez faire appel à l'ATU.

■ Alexandra DURR

C'est inexact, dans la mesure où la fabrication de ce coenzyme Q10 est un peu particulière. Nous voulons uniquement le médicament de la société allemande dont je parlais, car il présente une plus grande biodisponibilité.

Que faire si vous ne l'obtenez jamais ?

■ Alexandra DURR

Comme je le disais, les choses avancent. Une réunion de recherche clinique est prévue demain. Nous sommes prêts, vous aussi. L'essai devrait démarrer.

Nous sommes prêts depuis cinq ans !

■ Alexandra DURR

Nous aussi.

C'était donc une question d'argent ?

■ Alexandra DURR

Non. C'est une question de propriété intellectuelle des résultats.

■ Cyril GOIZET

Nous ne sommes ni légistes, ni avocats. D'autres intervenants, administratifs eux, se chargent donc des négociations – ce qui ralentit parfois les projets. Un médicament appartient à la société pharmaceutique qui le produit. Qu'il s'agisse d'une maladie rare ou non, de patients handicapés ou non, c'est du business. Et cela le restera. La recherche, c'est du business arrivé à un certain point.

■ Alexandra DURR

En l'occurrence, la société allemande était prête à nous donner son médicament pour conduire l'essai à condition de connaître les résultats. Mais l'AP-HP a refusé d'accéder à cette demande, considérant que les résultats lui appartiendraient. D'où la durée des discussions.

■ Cyril GOIZET

L'essai ne coûtera rien à l'AP-HP, mais elle en conservera les droits, considérant que les résultats sont sa propriété.

C'est incroyable !

■ Alexandra DURR

C'est incroyable. Je n'ai jamais rencontré ce type de problème.

Il est vraiment regrettable que l'AP-HP vous mette des bâtons dans les roues, alors que vous travaillez tous pour la même cause.

■ Alexandra DURR

C'est vrai. En tout cas, nous pourrions commencer l'essai dès que l'accord sera signé.

N'y a-t-il pas quelque chose à faire, sur le plan éthique ?

■ Alexandra DURR

Non, pas à ma connaissance. Dès que l'accord sera signé, nous commencerons l'essai.

■ Cyril GOIZET

Ethiquement, il pourrait être opposé quelque chose s'il était prouvé que le médicament fonctionne. Or nous ne sommes pas en mesure de l'affirmer.

Nous n'avons pas abordé le sujet de l'importance des dons post mortem. Par ailleurs, nous sommes aujourd'hui tous liés par le même combat. J'aurais souhaité souligner l'importance des conseils scientifiques et des conseils médicaux et paramédicaux dans le cadre des appels d'offres, en particulier dans la recherche des antisens et dans la recherche clinique (BIOSCA). L'AFAF, CSC et l'ASL sont concernés par de nombreux sujets communs.

Pouvez-vous en dire quelques mots ?

■ Pierre RUSTIN

Je ne suis pas en mesure de répondre à votre question sur les dons post mortem.

Il y a quelques années, les conseils des associations AFAF, CSC et ASL se sont réunis. Il en est ressorti qu'il existait un continuum de pathologies et qu'il devenait presque absurde de maintenir des instances distinctes. La décision de tout regrouper a vraiment été géniale.

Concernant le conseil scientifique, la problématique est que nombre de questions relevant du domaine purement médical nous sont adressées. Certes, cette instance compte quelques médecins, mais nous sommes globalement incompétents pour résoudre des questions médicales – tel est plutôt le rôle du conseil médical.

■ Alexandra DURR

Nous sommes là !

■ Pierre RUSTIN

En outre, les membres bénévoles du conseil scientifique sont très difficiles à mobiliser dans leur totalité. Le travail est effectué par cinq ou six personnes sur les 15 à 20 membres. Le seul droit de cette instance est de

porter un jugement sur la valeur des projets déposés par les associations. Toutes les autres questions sont malvenues, car nous ne disposons pas de la structure pour y répondre.

Par ailleurs, ce sont les associations qui réunissent de l'argent. Elles sont donc libres de décider de son utilisation, donc de demander au conseil scientifique de porter un jugement sur les projets. En fonction de ce jugement, elles décident ou non de diffuser des appels d'offres.

Il faut bien réaliser que la plupart des chercheurs font de la recherche par amour de la recherche. Ils sont passionnés par ce qu'ils font. Dès lors, il ne suffit pas de leur proposer de l'argent pour qu'ils modifient le champ de leur recherche. C'est la raison pour laquelle je conseille toujours d'élaborer des appels d'offres de façon très large. Plus les appels d'offres sont précis, moins les réponses sont nombreuses.

Enfin, vous avez tout à fait le droit de donner de l'argent pour soutenir les travaux d'une équipe spécifique.

Les associations n'ont pas toujours les moyens de bien rédiger leurs appels d'offres. Sans compter que nous ne connaissons pas toutes les équipes de recherche.

■ Alexandra DURR

Comme le disait Pierre, il ne faut pas trop cibler les appels d'offres.

■ Pierre RUSTIN

Tous les progrès dans un domaine ont un impact dans d'autres domaines. La science est un continuum. Pour s'adapter aux structures de la recherche en France, il est indispensable d'ouvrir au maximum les appels d'offres.

■ Alexandra DURR

Ensuite, seules les offres jugées excellentes doivent être retenues – c'est le rôle du conseil scientifique d'en juger, pas celui de l'association. Il importe d'avoir confiance dans son conseil scientifique et de suivre ses avis.

☒ Tous les progrès dans un domaine ont un impact dans d'autres domaines. La science est un continuum. ☒

Pierre Rustin

■ Hubert BŒUF

Je souhaite donner lecture de questions qui nous ont été transmises par mail. Elles concernent surtout la recherche clinique.

« Où trouver l'évaluation des matériels et des logiciels d'aide à l'expression orale ? »

■ Hervé TRICOIRE

Il faut se tourner vers les ergothérapeutes, dans le cadre d'une rééducation fonctionnelle.

■ Claudie BALEYDIER

Ce n'est pas suffisant compte tenu de la gravité des problèmes d'élocution. Une véritable recherche est indispensable.

■ Alexandra DURR

Il n'y a pas de recherche proprement dite sur les outils d'aide à la communication.

■ Hubert BŒUF

« La pratique du chant ou d'un instrument à vent permet-elle de ralentir l'évolution des difficultés d'élocution ? »

■ Alexandra DURR

Toute rééducation est bonne – mais cela n'a pas été évalué.

■ Hubert BŒUF

Est-il envisageable que vous vous attaquiez à ce problème ?

■ Alexandra DURR

Il faudrait déjà que les orthophonistes fassent preuve d'une plus grande ingéniosité pour rééduquer leurs patients. Je pense qu'il ne suffit pas de les faire lire. Certains orthophonistes font de réels efforts en utilisant notamment les instruments à vent. Pour autant, aucune étude n'a été conduite sur le chant comme moyen de rééducation. En revanche, une étude l'a été sur la danse.

Vous citez les orthophonistes, mais ne faudrait-il pas non plus former des pneumologues pour améliorer les capacités respiratoires des patients ?

■ Alexandra DURR

Il faudrait que j'invite un pneumologue à rejoindre le conseil médical et paramédical.

■ Hubert BŒUF

« Quelles sont les recherches en cours pour réduire les effets de la diplopie ? Pourquoi parmi les personnes atteintes de SCA3, certaines ont de gros problèmes de diplopie alors que d'autres n'en ont pas ? »

■ Alexandra DURR

Comme toujours, les signes sont variables. Tout dépend du degré de l'ophtalmoplégie et de la rapidité de l'installation. Si la maladie s'installe très progressivement, aucune diplopie n'est ressentie. La maladie étant évolutive, tout change en permanence – ce qui rend difficile la rééducation.

Nous avons recruté une orthoptiste au sein du centre de référence, mais elle est malheureusement décédée très rapidement après son arrivée. Nous devons en recruter une autre. Mais, encore une fois, la rééducation est très compliquée du fait de l'évolutivité de la maladie.

■ Hervé TRICOIRE

Des prismes peuvent être utilisés.

J'ai une ataxie, mais je ne sais pas encore laquelle – d'où ma question tout à l'heure sur l'ataxie liée à l'X. Je fais du chant et j'en suis très satisfait. Cela m'a permis de poser ma voix et de mieux articuler. Je pense que c'est une bonne chose.

■ Alexandra DURR

C'est bien. L'important c'est de sentir mieux.

Notre fils vient d'être diagnostiqué avec une ataxie de Friedreich. C'est un sportif de haut niveau. Il a 15 ans et plein de rêves. Il vous demande à vous, chercheurs, ce qu'il peut faire faire pour nous aider – et ce que nous pouvons faire nous aussi, les parents. Il a le sentiment que si tout le monde menait une recherche génétique et mettait les données en commun, cela vous aiderait.

■ Alexandra DURR

Il faut échanger, c'est certain. C'est d'ailleurs déjà le cas avec les réseaux, d'une certaine manière. Votre fils a raison. Nous pouvons lui demander de participer à des essais quand il y en a, et de partager avec nous ce qu'il vit pour que nous comprenions mieux la maladie.

■ Giovanni STEVANIN

Il faut aussi informer le public et les médias pour faire connaître ces maladies, mobiliser les familles pour la recherche, le don de cerveau, la participation à ce type de journée d'échanges, qui sont riches pour vous comme pour nous.

■ Claudie BALEYDIER

Aux derniers Jeux paralympiques de Londres, une jeune Irlandaise atteinte d'une ataxie de Friedreich a remporté trois médailles. Elle a donc continué à pratiquer du sport de haut niveau malgré sa maladie. Certains sports sont adaptés. Outre la recherche, les fédérations sportives jouent un rôle non négligeable. Je crois que ces derniers Jeux paralympiques ont donné de l'espoir à beaucoup de malades.

■ Pierre RUSTIN

Ce qui est sûr, en tout cas, c'est que les portes de notre laboratoire sont grandes ouvertes. Si vous voulez venir nous y rencontrer avec

vos fils, pour voir ce que nous faisons et discuter avec nous, nous vous accueillerons avec plaisir. Nous accueillons très régulièrement des patients. N'hésitez pas ! Les associations de malades font énormément, en France, pour aider la recherche. Vous pourriez peut-être vous y investir vous aussi. Cela permet de faire reconnaître plus rapidement les maladies, par exemple.

■ Alexandra DURR

En cas d'essai thérapeutique, nous nous adressons directement aux associations – ce qui permet de diffuser largement l'information.

■ Pierre RUSTIN

Je le répète, les portes de notre laboratoire vous sont ouvertes. Je sais d'expérience que cela fait du bien de voir les chercheurs au travail et d'observer comment ils travaillent.

Notre fils a décidé de poursuivre le sport, précisément en regardant les Jeux paralympiques cet été. Il faisait du triathlon, mais il ne peut plus courir depuis six mois. Son club sportif lui a dit « ce n'est pas grave, on va courir pour toi et tu vas continuer de faire ». Les mentalités changent progressivement, même si du chemin reste à parcourir.

■ Alexandra DURR

Je propose de clore notre journée sur ce témoignage très émouvant. Merci beaucoup.

■ Hubert BŒUF

J'adresse un grand merci aux intervenants, aux participants et aux malades qui adhèrent à nos associations. Je remercie aussi tout particulièrement les élèves présents dans la salle. Je souhaite que cette journée ait pu leur montrer combien les malades attendent qu'ils s'attellent à leur maladie. Certes, ce sont des maladies rares. Les laboratoires qui s'y penchent vivent difficilement. Vous n'aurez pas de salaires phénoménaux en entrant dans un organisme de recherche sur les maladies rares.

■ Giovanni STEVANIN

Sauf en bioinformatique ! Mais l'important, c'est d'aimer ce que l'on fait et dans notre domaine, outre nourrir cet espoir légitime pour les patients d'aller vers la thérapie, notre travail est riche, varié et motivant.

« ...ce n'est pas grave, on va courir pour toi... »

Anonyme du public

■ Hubert BŒUF

Oui, travailler sur les maladies rares est nettement plus intéressant sur le plan de votre formation, parce que vous toucherez à de nombreux domaines dans une petite unité. Vous participerez beaucoup plus que dans une grande unité à l'élaboration des travaux de recherche qui seront mis en place.

Merci !

■ Giovanni STEVANIN

Merci à tous et encore merci à nos sponsors (GATC_Biotech et Groupama), à l'ICM, et aux associations qui ont mobilisé les patients pour cette journée internationale.

LISTE DES RÉGIONS CHROMOSOMIQUES (LOCUS), DES GÈNES MUTÉS ET DES MUTATIONS IMPLIQUÉS DANS LES ATAXIES CÉRÉBELLEUSES AUTOSOMIQUES DOMINANTES.

Type clinique	Signes principaux associés à l'ataxie	Nom du locus	Chromosome	Nature des mutations		
I	Variable : ophtalmoplégie, atrophie optique, amyotrophie, signes extrapyramidaux (Parkinsonism...)	SCA1	6p	Expansion de triplets CAG codants dans le gène ATXN1		
		SCA2	12q	Expansion de triplets CAG codants dans le gène ATXN2		
		SCA3=MJD	14q	Expansion de triplets CAG codants dans le gène MJD1		
		SCA4	16q	?		
		SCA14	19q	Mutations faux-sens dans le gène PKCg		
		SCA13	19q	Mutations faux-sens dans le gène KCNC3		
		SCA17=HDL4	6q	Expansion de triplets CAG codants dans le gène TBP		
		SCA19=SCA22	1p	Mutations faux-sens dans le gène KCND3		
		SCA21	7p	?		
		SCA29	3p	?		
		SCA34	6	Mutations faux-sens dans un nouveau gène (non publié)		
		SCA36	20	Expansions de répétitions non codantes GGCCTG dans NOP56		
		II	Atteinte rétinienne	SCA7	3p	Expansion de triplets CAG codants dans le gène ATXN7
III	Forme pure	SCA5	11cen	Mutations faux-sens dans le gène SPTBN2		
		SCA20	11	Large duplication chromosomique		
		SCA6	19p	Expansion de triplets CAG codants dans le gène CACNA1A		
		SCA8	13q	Expansions de répétitions (codantes et non codantes) CTG dans ATXN8		
		SCA11	15q	Mutations ponctuelles dans le gène TTBK2		
		SCA12	5q	Expansions de répétitions non codantes CTG dans PPP2R2B		
		SCA15=SCA16	3p	Délétions et mutations faux-sens dans le gène ITPR1		
		SCA27	13q	Mutations ponctuelles dans le gène FGF14		
		SCA23	20p	Mutations faux-sens dans le gène PDYN		
		SCA26	19p	Mutations faux-sens dans le gène eEF2		
		SCA28	18p	Mutations faux-sens dans le gène AFG3L2		
		SCA30	4q	?		
		SCA31	16q	Expansions de répétitions non codantes TGGAA dans TK2 et BEAN		
		IV	Ataxie + épilepsie Ataxie + neuropathie motrice Ataxie + neuropathie sensitive Atrophie dentato-rubro-pallido-luysienne	SCA10	22q	Expansions de répétitions non codantes ATTCT dans ATXN10
				SCA18	7q	?
SCA25	2p			?		
DRPLA	12p			Expansion de triplets CAG codants dans le gène ATN1		

Maladie	Âge de début (moyenne)	Anomalies biologiques	Gène	Protéine
ARCA1	Début tardif : 32 ans (17-46)		SYNE1	SYNE1
ARCA2	4 ans (1-11)	Lactates parfois élevés, taux de CoQ10 dans le muscle ou les fibroblastes parfois abaissés	ADCK3 (CABC1)	ADCK3
Salih ataxia	petite enfance (avant 7 ans)		KIAA0226	rundataxine
MSS	à la naissance	Élévation des CPK dans le sang	SIL1	SIL1
FA	16 ans (le plus souvent entre 8 et 25 ans, décrit de 2 à 60 ans)		FXN	frataxine
SANDO	20-60 ans		POLG	polymérase gamma
IOSCA	vers 1 an		Twinkle	twinkle
AVED	17 ans (2- 50)	Taux sanguin de vitamine E effondré	alpha-TTP	alpha-TTP
ABL	dès la naissance	Taux sanguins de cholestérol, triglycérides et vitamines A, D, E, K abaissés, abetalipoprotéinémie acanthocytose	MTP	MTP
AT	vers 2 ou 3 ans, le plus souvent avant 5 ans	Élévation de l'AFP dans le sang, déficit en immunoglobulines, translocations (caryotype)	ATM	ATM
ATLD	entre 1 and 6 ans		MRE11	MRE11
AOA1	7 ans (1-20)	Élévation du LDL cholestérol sanguin, hypoalbuminémie, parfois abaissement du CoQ10	APTX	aprataxine
AOA2	15 ans (7-25)	Élévation de l'AFP dans le sang	SETX	senataxine
SCAN1	13-15 ans	Parfois légère élévation du LDL cholestérol ou hypoalbuminémie	TDP1	tyrosyl-DNA-phosphodiesterase
ARSACS	2 ans (jusqu'à 12 ans)		SACS	sacsine
PHARC	15 (4-37)		ABHD12	ABHD12
RD	10-20 ans	Acide phytanique élevé dans le sang	PhyH / PEX7	phytanoyl-CoA hydroxylase / PEX7
CTX	enfance	Cholestanol élevé dans le sang	CYP27	sterol 27 hydroxylase



Fondation Groupama pour la santé
8/10 rue d'Astorg - 75008 Paris
Tél : 01 44 56 32 18 - Fax : 01 44 56 30 01
info@fondation-groupama.com
www.fondation-groupama.com

Le colloque a été retranscrit par la société : VOYELLES – 33 rue Lacépède, 75005 Paris
Florence Berthezène - Portable : 06 23 00 34 01 - Standard : 09 50 50 63 97 - Fax : 09 55 50 63 97 - fberthezene@voyelles.net
Crédits photos : Typhaine Esteve, Institut du Cerveau et de la Moëlle épinière.
La coordination a été assurée par Hubert Boeuf CSC et Giovanni Stevanin de L'ICM.
Création, réalisation : www.graines-octets.com – Impression : Korus

Coordination : Groupama Supports & Services
Dépôt légal : février 2013
ISBN : en cours

Réf. 3350-51050-022013 – Le Groupe Groupama participe à la protection de l'environnement en sélectionnant des imprimeurs référencés « Imprim'vert » ainsi que des papiers issus de forêts gérées durablement.