



CADASIL France

Assemblée générale du 2 avril 2016

Exposés de l'équipe médicale

De nombreux membres de l'équipe médicale ont participé à l'après-midi consacré aux exposés médicaux à l'occasion de l'AG de CADASIL France du 2 avril 2016 : M. le Professeur Hugues CHABRIAT (chef du service neurologie de l'hôpital Lariboisière, coordonnateur du CERVCO, Centre de Référence des maladies Vasculaires rares du Cerveau et de l'Œil), Mme le Professeur Marie-Germaine BOUSSER, Mme le Dr Anne JOUTEL (directrice de Recherche à l'INSERM, en charge des recherches biologiques et génétiques sur CADASIL), Mme Annie KURTZ (psychologue retraitée du service neurologie de l'hôpital Lariboisière et membre du conseil d'administration de CADASIL France), M. le Dr Dominique HERVE (praticien hospitalier, neurologue, en charge du CERVCO), M. le Dr Eric JOUVENT (maître de conférence des Universités - praticien hospitalier, hôpital Lariboisière), Mmes Christina ROGAN, Sonia REYES et Aude JABOULEY (psychologues au CERVCO qui travaillent sur l'évaluation cognitive des patients, les soutiennent ainsi que leurs familles, répondent aux interrogations des jeunes, etc.), Mme Jocelyne RUFFIE (assistante du Pr BOUSSER et du Pr CHABRIAT), M. Abbas TALEB (Attaché de Recherche Clinique, en charge de la base de données de suivi des patients), Mmes Stéphanie MOREL (assistante sociale au CERVCO), Nathalie GASTELIER (chef de projet dans le cadre du Département Hospitalier Universitaire de Lariboisière), le Dr Carol PRIETO-MORIN, du laboratoire de génétique dirigé par le Pr TOURNIER-LASSERVE, à Lariboisière.

1- Introduction par le président de CADASIL France

L'après-midi consacré aux exposés médicaux à l'occasion de l'AG de CADASIL France a débuté par une intervention de Jean-Luc Airiau pour rendre un hommage appuyé à tous ceux qui travaillent à mieux comprendre et à soigner la maladie de CADASIL. Il a affirmé sa confiance dans l'avancement des travaux de recherche et la volonté de l'association de contribuer, même modestement, à leur financement. Bien que le temps de la recherche semble long et que la complexité des découvertes repousse l'espoir prochain d'un traitement, les progrès présentés chaque année sont porteurs d'espoir, grâce au dévouement et à l'investissement des membres des équipes médicales et de recherche.

2- Recherche génétique (Dr Joutel)

Au cours de l'année écoulée, le Dr Joutel a poursuivi ses travaux, avec son équipe, en amont de la recherche clinique. Le but est de comprendre les mécanismes de la maladie pour élaborer des stratégies thérapeutiques, en relation avec l'équipe du Pr Chabriat.

Trois sujets vont être abordés : les modèles de souris avec lesquelles on travaille sur la maladie, les mécanismes très précis et complexes de la maladie, pour lesquels les connaissances ont beaucoup avancé, et les résultats d'un essai préclinique.

A - Importance des modèles animaux dans la maladie CADASIL.

Il est très important de pouvoir disposer de modèles animaux reproduisant les manifestations de la maladie CADASIL. Ces modèles permettent de mieux comprendre la maladie, de découvrir les mécanismes des manifestations et d'évaluer des stratégies thérapeutiques. On teste grâce aux modèles animaux des types d'approches d'actions et non pas des médicaments.

Le laboratoire du Dr Joutel a généré et caractérisé un premier type de modèles chez la souris, appelés souris transgéniques. Ces souris surexpriment une protéine NOTCH3 avec la mutation d'un patient.

Les anomalies constatées chez ces souris sont les suivantes : tôt dans leur croissance, on constate des dépôts vasculaires de NOTCH3 et de GOM. Elles développent aussi une réduction du diamètre des artères cérébrales (ce qui signifie qu'elles sont moins capables de se distendre), une dysfonction cérébro-vasculaire, et des lésions de la substance blanche cérébrale (qui pourraient correspondre aux hypersignaux détectés en IRM chez les patients).

Il a même été récemment montré par une équipe américaine que ces souris présentent un marqueur (abaissement du seuil de la dépression corticale envahissante) de la migraine avec aura. Ce symptôme est présenté par près de la moitié des personnes atteintes de CADASIL.

L'avantage de ce type de modèle de souris est que les symptômes apparaissent plus tôt que dans la réalité. Cependant, ce type de modèle pose la question de sa pertinence, puisqu'il a plusieurs copies du gène muté *Notch3* et qu'il surexprime la protéine mutée.

Pour confirmer les connaissances obtenues grâce à ces souris transgéniques, un autre modèle de souris a été obtenu récemment grâce à une collaboration avec une équipe belge. Dans ce modèle, les souris portent une mutation dans le gène *Notch3* identique à celle de l'homme, mais sans surexpression.

L'analyse de ces souris, encore en cours, a confirmé la présence des dépôts vasculaires de NOTCH3 et de GOM, la réduction du diamètre des artères cérébrales et la présence de dysfonction cérébrovasculaire. Cela prouve que ces altérations sont bien liées au gène *Notch3* muté, même sans surexpression. La différence est que les anomalies fonctionnelles des vaisseaux cérébraux apparaissent à l'âge de douze mois, et donc plus tardivement que chez les souris transgéniques. L'analyse de la substance blanche cérébrale chez ces souris est en cours.

Cette confirmation est importante pour disposer de modèles précliniques afin de tester des stratégies thérapeutiques. On peut être sûrs d'avoir un outil d'évaluation avec les souris CADASIL.

Les symptômes et lésions que l'on voit chez les souris sont bien liés à la mutation, même si on ne force pas une surexpression de protéine mutée !

Sur les souris étudiées depuis plusieurs années on a décrypté, symptôme par symptôme, les mécanismes et leurs causes.

A la base, c'est la protéine mutée NOTCH3 qui est la cause, mais ce sont les dérèglements qu'elle provoque qui génèrent les symptômes :

- Les anomalies fonctionnelles des vaisseaux (dysfonction cérébro-vasculaire) sont liées à l'accumulation de la protéine TIMP3, causée elle-même par l'accumulation de NOTCH3.
- Les lésions de la substance blanche sont en partie liées à l'accumulation de Vitronectine, provoquée par l'accumulation de NOTCH3.
- Le rétrécissement de lumière des artères cérébrales est lié à une modification de l'activité du récepteur NOTCH3.

Le chef d'orchestre de ces dysfonctions est le gène muté *Notch3* porteur de la maladie de CADASIL, qui génère la protéine mutée NOTCH3. Mais ses agents sont différents. Ce sont d'autres protéines qui sont à l'origine des symptômes.

Les mécanismes qui conduisent ces autres protéines, normales, à provoquer les anomalies sont complexes. Il faut donc plutôt agir sur ce chef d'orchestre au niveau thérapeutique plutôt que sur ses agents car ce serait

complexe d'agir sur chacun d'eux et sur les mécanismes qu'ils provoquent.

Le but des essais thérapeutiques doit être d'éviter que la protéine mutée NOTCH3 détourne TIMP3, la Vitronectine et d'autres protéines, de leur rôle habituel.

Maintenant, grâce aux outils et collaborations, on peut expliquer les anomalies de fonctionnement des vaisseaux du cerveau, dans le détail moléculaire !

B - Mécanismes de la dysfonction cérébro-vasculaire

Chez une souris normale, une stimulation sensorielle (par exemple, une stimulation des moustaches) entraîne une activation neuronale, qui elle-même entraîne une augmentation du débit sanguin cérébral. On parle de « couplage neuro-vasculaire ». Chez les souris transgéniques CADASIL, le couplage neuro-vasculaire est altéré, c'est-à-dire que l'augmentation du débit sanguin cérébral en réponse à une activation neuronale est moindre. Des expériences complémentaires ont montré qu'il existait chez les souris CADASIL une incapacité à augmenter leur débit sanguin cérébral en réponse à d'autres stimuli.

Par ailleurs, des expériences réalisées sur des segments d'artères cérébrales préalablement disséquées ont montré une atténuation du tonus myogénique chez les souris CADASIL. Le tonus myogénique est une propriété très importante des petites artères, il définit un état de contraction de l'artère en réponse à la pression artérielle.

Le terme de dysfonction cérébro-vasculaire est utilisé pour désigner ces anomalies du débit sanguin cérébral et du tonus myogénique des artères cérébrales chez les souris CADASIL.

L'équipe du Dr Joutel a montré que la dysfonction cérébro-vasculaire chez les souris CADASIL était causée par l'excès de la protéine TIMP3.

Grâce à une très bonne collaboration avec l'équipe américaine du Dr Mark Nelson aux USA, dans le cadre du réseau transatlantique financé par la fondation Leducq, et avec le laboratoire du Dr Stefan Rose-John en Allemagne, tous les composants agissant dans la cascade qui conduit de l'excès de la protéine TIMP3 à la dysfonction cérébro-vasculaire ont été identifiés. De plus, un lien entre l'anomalie des réponses du débit sanguin cérébral et du tonus myogénique des artères cérébrales a pu être établi.

Ainsi, il a été démontré que l'accumulation anormale de la protéine TIMP3 inhibe le fonctionnement d'une protéine appelée ADAM17 qui contrôle l'activité d'un récepteur qui lui-même régule le nombre de canaux potassiques à la surface des cellules musculaires lisses de la paroi des vaisseaux. Ces canaux potassiques, dont le rôle est de réguler le voltage de la membrane des cellules musculaires lisses, jouent un rôle très important dans le tonus myogénique. Ainsi, en présence d'un excès de TIMP3, le

nombre de ces canaux potassiques est anormalement augmenté, le tonus myogénique est diminué, ce qui limite la capacité de dilatation des artères cérébrales et donc la capacité d'augmenter le débit sanguin cérébral.

Il s'agit d'une nouvelle voie de signalisation qui est également importante pour le vaisseau normal et pour la régulation du débit cérébral sanguin.

Ces canaux potassiques sont présents dans toutes les autres artères, mais leur quantité est très faible dans les artères cérébrales. Et là, c'est une augmentation d'environ 30% à 50% de ces canaux qui vient perturber le fonctionnement des vaisseaux, au stade initial de la maladie.

Il existe des médicaments qui peuvent bloquer l'activité de ces canaux potassiques. Toutefois, leur utilisation chez l'homme est rendue extrêmement délicate de par la présence de ces canaux potassiques au niveau du cœur. En effet, le blocage de ces canaux au niveau cardiaque pourrait entraîner des effets secondaires très dangereux.

On est donc capables maintenant d'explorer et connaître les symptômes à un niveau très poussé !

Sur la base des résultats obtenus chez les souris CADASIL, l'équipe du Pr Chabriat a entrepris l'étude du couplage neurovasculaire chez les patients CADASIL. Des résultats préliminaires encourageants suggèrent aussi l'existence d'une anomalie du couplage neurovasculaire chez les patients (cf. ci-après).

C - Essai préclinique

Une preuve de concept a été faite. Cela signifie qu'un type de molécule a été testé pour démontrer qu'il avait un effet sur les symptômes des souris CADASIL.

Il s'agit d'un essai préclinique car il est fait sur des souris. Les résultats sont préliminaires car ils ont été acquis à un stade où les souris ont des dépôts de NOTCH3 mais elles n'ont pas encore développé de dysfonction cérébrovasculaire.

C'est un projet qui a été conduit en collaboration avec le laboratoire Danois Lundbeck. Un brevet a été déposé afin de protéger cette découverte et afin que ces partenaires aient des droits pour poursuivre des travaux.

La molécule testée est un anticorps reconnaissant la partie de la protéine NOTCH3 qui s'accumule. L'idée de tester un anticorps anti-Notch3 est venue de travaux réalisés dans d'autres maladies où des protéines s'accumulent de façon anormale, comme par exemple dans la maladie d'Alzheimer où il existe une accumulation de la protéine amyloïde et de la protéine Tau. En effet, un chercheur avait eu l'idée il y a une vingtaine d'années d'immuniser des souris transgéniques « Alzheimer » contre la protéine amyloïde. Il avait obtenu des résultats très spectaculaires puisque le nombre et la taille des

dépôts amyloïdes étaient considérablement réduits chez les souris traitées. Ces résultats ont été confirmés depuis par de nombreuses autres équipes de par le monde en utilisant des anticorps dirigés contre la protéine amyloïde.

Ce principe d'immunisation dit passive est différent du vaccin (qui consiste dans une injection d'une petite partie d'un virus pour que la personne fabrique elle-même des anticorps, ce qui est donc alors une immunisation active).

Cette technique d'injection d'anticorps est maintenant bien connue. Elle est utilisée dans des maladies inflammatoires. Et on en connaît la toxicité. Dans le cadre d'un essai, certaines étapes de toxicité pourraient être raccourcies puisque cette technique est bien connue et on en connaît les effets secondaires. Mais ce type de thérapeutique reste coûteux.

Des anticorps monoclonaux dirigés contre des petites séquences de la protéine humaine NOTCH3 avaient été fabriqués il y a déjà plusieurs années par le Dr Joutel. Parmi ces anticorps, l'un d'entre eux a été identifié comme reconnaissant la protéine NOTCH3 de souris.

Une première étude a été réalisée pour voir si cet anticorps injecté chez la souris allait se lier sur les dépôts de NOTCH3 qu'elle présente, en particulier au niveau des vaisseaux du cerveau.

On a constaté que chez des souris CADASIL, quelques jours après l'injection, l'anticorps anti-NOTCH3 est capable de se lier à tous les dépôts présents sur les artères et même sur les capillaires (tout petits vaisseaux), alors qu'un anticorps-contrôle (reconnaissant une autre protéine) n'avait pas cet effet.

Pour l'essai préclinique, on a injecté des anticorps à des souris CADASIL de l'âge de deux mois jusqu'à six mois, avec la même dose chaque semaine. A l'issue de ce test, on a constaté que l'anticorps anti-NOTCH3 permettait que les souris CADASIL ne présentent plus de différences avec les souris normales (sauvages) en ce qui concerne le rétrécissement de la lumière des artères du cerveau (constaté par dissection de fractions de vaisseaux cérébraux), le débit sanguin cérébral (augmentation de débit en réponse à des stimulations) et le tonus myogénique (contraction en réponse à la pression, au niveau du débit sanguin cérébral). Ces paramètres sont revenus quasi à la normale suite à l'injection de l'anticorps.

Un autre test a été fait avec une seule injection sur des souris âgées six mois. Les résultats montrent qu'une seule injection n'est pas suffisante.

Contre toute attente et malgré l'effet bénéfique observé sur les propriétés des vaisseaux, il s'est avéré que le traitement n'avait pas d'effet visible sur le nombre de dépôts de NOTCH3, qui restait inchangé.

Il s'agit de résultats préliminaires d'une étude réalisée à un stade où il n'y a pas encore de symptômes de la maladie. On a découvert que l'anticorps anti-NOTCH3 peut les prévenir.

Cette étude préventive doit être finalisée. Il faut également tester si l'anticorps est efficace quand il est administré à des souris CADASIL présentant déjà une dysfonction cérébrovasculaire.

Cette étude doit aussi être réalisée sur d'autres modèles de souris CADASIL. Il faut également s'assurer qu'il n'y a pas d'effets secondaires.

Enfin, il faut trouver des marqueurs d'activité et donc mieux comprendre les mécanismes d'action de l'anticorps anti-NOTCH3 testé, dans un premier temps sur des vaisseaux périphériques, hors cerveau, qui reçoivent plus d'anticorps suite à une injection. Il est aussi nécessaire de trouver des techniques pour améliorer le taux de pénétration des anticorps dans le cerveau, en collaboration avec d'autres laboratoires de recherche. En effet, lorsqu'on injecte l'anticorps en intrapéritonéal chez la souris (dans l'abdomen), une quantité très faible d'anticorps (environ 0.1%) va pénétrer dans le cerveau. Il faudrait trouver des techniques pour augmenter le taux de pénétration au niveau cérébral.

La poursuite de ces travaux va nécessiter de chercher des financements auprès de nouveaux partenaires.

L'équipe du Dr Joutel est composée de : Imane Haddad, ingénieure d'étude et étudiante en thèse qui travaille sur l'aspect protéomique des vaisseaux cérébraux ; Lamia Ghezali, post-doctorante, qui se consacre à l'essai préclinique ; et Julien Ratelade, qui travaille sur les mécanismes d'une autre maladie héréditaire des petits vaisseaux cérébraux. Valérie Domenga-Denier, assistante ingénieur, complète depuis de nombreuses années l'équipe du laboratoire.

Carmen Capone, qui étudiait la dysfonction vasculaire, est repartie vivre en Italie. Céline Baron-Menguy, ingénieur de recherche qui travaillait sur les vaisseaux, va retourner en province. De nouveaux recrutements, et leur financement, vont donc être nécessaires.

Question d'un participant. Quel est le rôle du gène *Notch3* ? Intervient-il dans la peau ?

Le Dr Joutel précise que *Notch3* est principalement exprimé dans les vaisseaux, du cerveau et aussi des autres organes. Son rôle normal a été décrit par son équipe au début des années 2000 : dans le développement, il intervient au niveau des cellules musculaires lisses de la paroi des vaisseaux pour qu'elles acquièrent une identité artérielle.

Au cours de la vie adulte, ce gène intervient dans la contraction du vaisseau à la pression (tonus myogénique) et il contrôle le calibre du vaisseau.

D'autres gènes *Notch*, qui appartiennent à la famille des récepteurs *Notch*, interviennent au niveau de la peau.

Question d'une participante. Les dépôts dans les vaisseaux sont-ils impliqués dans les symptômes ?

Le Dr Joutel précise que les gros dépôts GOM constitués de beaucoup de NOTCH3 et de d'autres protéines sont les plus visibles car ils sont plus volumineux, mais on pense que ce sont les petits dépôts intermédiaires (oligomères), constitués de quatre ou cinq molécules de NOTCH3, qui sont toxiques pour le vaisseau et provoquent certains symptômes. Ces petits amas sont une étape dans la formation des gros dépôts.

Il est possible qu'il ne faille pas détruire les gros dépôts GOM qui sont peut-être là pour neutraliser les agglomérats intermédiaires (petits dépôts).

Des travaux vont être réalisés pour tester cette hypothèse.

Question du Pr Bousser. Avec la maladie de CADASIL, le vaisseau cérébral est-il dilaté et en même temps limité dans sa capacité de dilatation ?

Le Dr Joutel indique qu'il y a en effet deux caractéristiques.

Le diamètre passif, ou capacité maximale de dilatation, du vaisseau, est réduit. Cela traduit une rigidité un peu plus importante des vaisseaux, moins capables de se distendre que normalement. Ce symptôme est identique au cas de l'hypertension. Mais les patients atteints de CADASIL présentent cette caractéristique même s'ils n'ont pas d'hypertension.

Par ailleurs, dans le vaisseau, il y a de la pression. Le tonus myogénique permet que les vaisseaux maintiennent un certain diamètre, une certaine contraction, en réponse à la pression, pour ne pas se dilater passivement.

Dans CADASIL, il y a deux anomalies. La capacité à se distendre passivement est diminuée. Et d'autre part, pour une pression donnée, le diamètre est un peu plus grand. Donc, la réserve vaso dilatatrice du vaisseau est diminuée.

Dans le nouveau modèle murin (souris avec situation physiologique identique à l'homme, sans surexpression de la maladie), on constate que le symptôme de l'accumulation de NOTCH3 est très précoce (au premier mois de la vie d'une souris, dont la longévité normale est 24 mois). La dysfonction cérébro-vasculaire est quant à elle visible à l'âge adulte de la souris, à un an. Par contre, la moindre capacité des vaisseaux à se distendre apparaît vers l'âge de quatre mois.

Question d'un participant. Est-ce que les anomalies des vaisseaux peuvent provoquer un risque pour les sportifs lors des accélérations de rythme cardiaque ?

Le Dr Joutel indique qu'il n'y a pas de conséquence pour la pratique sportive.

3- Recherche clinique (Pr Chabriat)

Avant la présentation du Pr Chabriat, Jean-Luc Airiau, président de CADASIL France, lui a remis un chèque de 10 000 euros, à l'ordre de l'ARNEVA (Association pour la Recherche NEuro VAsculaire à l'hôpital Lariboisière). Cette subvention pour la recherche marque les vingt ans de la découverte du gène muté *Notch3* à l'origine de CADASIL.

Le Pr Bousser rappelle qu'en 1976, alors qu'elle était jeune chef de clinique à l'hôpital de la Pitié Salpêtrière, elle avait rencontré Joseph, un oncle de Jean Luc Airiau, qui présentait des signes d'une maladie des petites artères et avait fait un premier infarctus cérébral alors qu'il n'avait pas d'hypertension artérielle. L'hôpital venait juste de s'équiper de moyens pour pratiquer les premiers scanners...

Le Pr. Bousser avait fait sa thèse en 1972 sur l'impact de l'aspirine dans la prévention des infarctus cérébraux. A cette époque, l'aspirine était connue pour son effet sur les douleurs. On savait qu'elle faisait saigner, mais on n'avait pas pensé qu'elle pouvait empêcher les vaisseaux de se boucher. Le Pr Bousser avait proposé à Joseph de participer à la première grande étude sur l'aspirine. Elle l'avait donc suivi régulièrement, sans comprendre la raison de ses symptômes.

Des questions posées sur sa famille et les symptômes présentés par ses enfants quelques années après ont conduit à déclencher la recherche menée par le Pr Tournier-Lasserre sur la première famille. Cinquante-sept participants s'étaient mobilisés grâce à un membre de la famille, Michel, qui contactait toute la grande famille en province et l'informait. Tous avaient subi des examens cliniques, IRM, prises de sang, etc. Cette collaboration avait été essentielle pour permettre en 1993 de localiser le chromosome 19 portant le gène de la maladie, qui a été nommée CADASIL.

En trois ans, trente-trois familles françaises avaient ensuite été identifiées et le gène *Notch3* sur ce chromosome a été découvert en 1996.

Le Pr Bousser apprécie que ses anciens internes aient pris le relais après son départ à la retraite et est sûre qu'un financement sera trouvé pour faire avancer cette recherche de pointe, reconnue au niveau international. Pour le Pr Chabriat, 2016 marque une nouvelle étape, vingt ans après la découverte du gène. Une option thérapeutique a été découverte. L'équipe du Pr Chabriat doit se préparer à cette nouvelle étape, avec les chercheurs de l'équipe du Dr Joutel.

A- Projet de RHU

Le Pr Chabriat a élaboré avec le Dr Joutel un projet RHU (de Recherche Hospitalo-Universitaire) centré sur

CADASIL, incluant de nombreuses études (mécanismes de la maladie, identification de cibles thérapeutiques, essais précliniques, besoins pour se préparer à un essai clinique). La sélection des projets aura lieu fin mai 2016 lors d'auditions devant un jury international. Ceux qui seront retenus par l'Agence Nationale de Recherche (ANR) seront financés dans le cadre du programme de grands investissements du gouvernement.

B- Dysfonctionnements des vaisseaux du cerveau

Lorsqu'après de nombreuses étapes on aura vérifié que l'anticorps anti-NOTCH3 n'est pas toxique, et qu'il sera possible de passer à une étude chez l'homme, il faudra pouvoir prouver son effet sur les vaisseaux, en particulier au niveau du cerveau.

Il faut donc trouver des façons de faire qui prouvent et mesurent le dysfonctionnement des vaisseaux chez les patients porteurs de la maladie. Il faudra aussi après une période de prise du traitement testé pouvoir montrer qu'il a eu un effet correcteur.

Chez la souris CADASIL, une stimulation augmente moins le débit cérébral que sur une souris normale. Et il a été prouvé chez la souris que l'anticorps anti-NOTCH3 pouvait corriger cette perturbation. Mais sera-t-il possible de faire de la même manière chez l'homme ?

La mesure de l'activité cérébrale chez l'homme est réalisée en mesurant l'activité électrique du cerveau avec l'électro-encéphalogramme. Si cette activité des neurones augmente dans la zone du cortex correspondant à une stimulation, cela provoque une dilatation des vaisseaux et une augmentation du débit sanguin cérébral. En effet, les neurones ont besoin de consommer plus d'oxygène. Il s'agit du couplage neurovasculaire.

Chez l'homme, pour mesurer le débit sanguin cérébral à la surface du cerveau et sa variation lors d'une activation, on utilise la technique de l'IRM fonctionnelle. Depuis deux ans, des patients volontaires ont participé à l'évaluation de cette technique. Le participant est allongé dans l'appareil IRM à l'intérieur duquel un écran présente un damier noir et blanc qui s'active. La personne doit en même temps ouvrir et fermer la main. Dans la zone visuelle du cortex et celle qui détermine le mouvement de la main, on constate alors une variation du débit sanguin spécifique. Cette action est répétée plusieurs fois à un rythme aléatoire, durant trente minutes. Des images IRM sont réalisées afin d'acquérir la variation de signal dans les zones du cerveau (visuelle et motrice).

En même temps, des capteurs posés sur la tête de la personne permettent de réaliser un électro-encéphalogramme.

Le but de cette étude est d'évaluer trente patients ayant la mutation de CADASIL et sont au début de la maladie (avant qu'ils présentent des symptômes, un handicap et

prennent des traitements qui pourraient modifier les résultats), et trente témoins.

Pour le moment, des résultats ont été obtenus pour les dix-sept premiers patients et témoins (de même âge et sexe). Leur âge moyen est 42 ans.

On constate que lors de la visualisation du damier et de la réalisation du geste, ce sont ces zones du cerveau (visuelle et motrice) qui s'activent et subissent le plus de variation de débit.

La taille de la zone activée est identique chez les patients et les témoins. Dans les périodes de repos, le débit sanguin est un peu plus élevé chez les témoins, mais ce n'est pas significatif sur un petit échantillon.

Un autre constat est que l'âge ne change pas l'effet de l'activation.

Par contre, la longueur de la stimulation dans l'aire motrice ou visuelle fait apparaître une différence, un décroché, mesurable chez les porteurs du gène muté *Notch3*.

Il reste à prouver que ces résultats ne sont pas liés à une baisse d'activité électrique des neurones, mais bien à une perturbation du vaisseau.

Comme ce constat est fait avant que les personnes présentent des symptômes, ce biomarqueur pourrait être utilisé avec cette technique pour mesurer l'effet sur les vaisseaux d'un essai de traitement préventif, en voyant si le décroché observé sur la variation de débit sanguin peut être corrigé.

Cette étude est réalisée par un post-doctorant, Clément Huneau, avec le Dr Christian Giroux, qui rencontre les patients, ainsi que l'équipe d'imagerie. Ces examens sont très complexes à réaliser, en combinant l'électro-encéphalogramme, le recueil d'informations sur l'activité cérébrale, et l'IRM. Si cette méthode est probante, il faudra chercher des solutions pour l'automatiser car elle nécessite d'importants moyens humains actuellement. Cette recherche est financée grâce au réseau Leducq et à différentes institutions.

Les résultats seront disponibles dans quelques mois.

Intervention du Dr Joutel. Désormais, on cherche le plus possible à reproduire chez les patients les constats et résultats faits chez la souris. Il y a une grande collaboration entre les équipes du Dr Joutel et du Pr Chabriat.

Mais les outils sont différents et plus complexes à concevoir chez l'homme par rapport à un animal de laboratoire.

On se donne des outils de transposition des analyses, mesures et pistes thérapeutiques identifiées chez la souris. Si un traitement marche chez elle à un stade très précoce, il faut se préparer à le prouver aussi de façon pertinente chez l'homme, bien que les symptômes se manifestent en fait plus tardivement.

Il s'agit d'un tournant dans la façon de travailler : les travaux fondamentaux de recherche, théoriques, se rapprochent de la thérapeutique. Il n'y a pas de compétition entre les équipes. Les mauvaises expériences de d'autres découvertes qui ont marché chez l'animal mais sont décevantes chez l'homme seront ainsi évitées.

Chez la souris et l'homme, on a la même chose, un indicateur de la dysfonction du vaisseau cérébral, qui est la conséquence de l'accumulation de la protéine.

Le Dr Joutel et le Pr. Chabriat mettent en évidence qu'il pourrait à l'avenir être nécessaire de prendre un traitement préventif quand la personne porteuse du gène muté *Notch3* ne présente pas encore de lésions et n'est pas encore malade. Le but serait d'éviter ou de ralentir l'apparition de symptômes futurs, comme dans d'autres maladies chroniques comme le diabète, l'hypertension, etc.

De plus, d'autres essais doivent être effectués en même temps, avec d'autres méthodes, sur des patients à un stade plus avancé, qui présentent déjà des symptômes. Par exemple, une autre équipe, en Hollande, teste une autre approche thérapeutique, qui viserait à produire des protéines NOTCH3 sans mutation malgré que le gène soit muté.

Le projet évoqué précédemment intègre aussi la question nécessaire d'un traitement préventif et d'une thérapeutique innovante pour la prise en charge des patients ayant déjà des symptômes et un handicap.

Il ne s'agira peut-être pas d'un traitement unique, mais d'une combinaison de médicaments, selon les différents temps de la maladie.

Toutes ces études vont nécessiter des financements.

4- IRM 7 Teslas (Dr Jouvent)

Les examens réalisés chez des patients volontaires qui participent à l'étude IRM 7 Teslas menée par le Dr Eric Jouvent à Neurospin, ont été poursuivis en 2015. Des travaux sont réalisés à partir de ces données pour mieux préciser l'état microscopique.

5- Etude sur les cellules souches (Dr Joutel)

Durant l'Assemblée Générale en avril 2013, le Dr Joutel avait exposé un projet de recherche sur des cellules souches. Ces travaux sont réalisés en collaboration avec le Dr Sanjay Sinha, de Cambridge en Angleterre, expert dans l'obtention des cellules musculaires lisses vasculaires à partir de cellules iPS (Induced Pluripotent Stem cells).

L'objectif est de cultiver les cellules musculaires lisses vasculaires issues de patients ayant la maladie CADASIL afin d'étudier les raisons pour lesquelles elles sont le siège de dépôts anormaux de NOTCH3 et subissent un processus de dégénérescence. Elles vont permettre de comprendre comment la protéine mutée s'agrège, d'identifier si ce sont les dépôts qui sont toxiques ou les petit paquets de quelques molécules de protéines mutées, etc. Les résultats seront beaucoup plus rapides que sur des souris (qu'il faut croiser, faire vieillir, etc.).

Huit patients ont subi une biopsie réalisée par le Dr Hervé. Avec ces cellules, des fibroblastes ont été préparés et mis en culture dans le laboratoire du Dr Joutel. Ils ont été reprogrammés en cellules souches en Angleterre, pour cinq patients ayant cinq mutations différentes, et ensuite redifférenciés en cellules musculaires lisses.

Les premiers résultats sont très encourageants : il semble qu'on verrait des anomalies comme des dépôts de NOTCH3.

Ces cellules pourraient constituer un nouvel outil pour tester l'anticorps anti-NOTCH3 et même permettre de l'améliorer.

La stratégie thérapeutique des hollandais, qui vise à modifier la protéine mutée, va aussi être testée sur ces cellules humaines.

6- Obligation légale d'information des familles de patients (Dr Hervé)

L'obligation pour une personne d'informer son entourage familial si l'existence d'une maladie génétique a été découverte chez elle a été inscrite aujourd'hui dans la loi (dès lors que cette information peut faire l'objet pour les autres membres de la famille d'un traitement préventif ou d'un conseil génétique).

Le Comité National d'Ethique avait émis des réserves contre une telle obligation.

L'objectif de cette loi peut être logique dans les cas de maladies rares à début précoce et pour lesquelles il existe un traitement préventif. Dans le cas de CADASIL, cette obligation peut poser problème.

Le médecin, qui doit informer et aider son patient, doit-il lui parler de cette obligation en cas de CADASIL ?

La nécessité d'accompagnement des personnes qui souhaitent un test prédictif de CADASIL avant, pendant, et après le diagnostic justifie la recommandation du centre de référence CERVCO, pour que ces démarches soient réalisées dans le cadre d'une consultation multidisciplinaire.

Les praticiens expérimentés qui réalisent ces entretiens (psychologue, généticien et neurologue) sont plus en mesure de fournir une information de qualité et d'aborder

également le sujet de l'information des proches, avant de faire le diagnostic, plutôt qu'un généraliste connaissant peu cette maladie rare. Ainsi, si la personne poursuit sa démarche de test prédictif après la consultation initiale d'information, elle sera consciente de cette obligation de prévenir sa famille, au cas où le résultat ultérieur serait positif.

Mais comment la personne ayant un diagnostic peut-elle ou doit-elle envisager ce sujet avec ses proches, en respectant la loi ?

Le CERVCO a entamé une réflexion sur cette information obligatoire.

Il est proposé de constituer un groupe de réflexion, en faisant participer des membres de l'association, des experts de la maladie et de ces questions, un spécialiste du droit, etc., en tenant compte des témoignages des patients et de leur famille.

Questions des adhérents et participants

« En 2015, une chercheuse hollandaise avait demandé des encouragements sur Facebook pour obtenir un financement (Dr Lesnik-Oberstein). Connaissez-vous ses travaux ? Plus généralement, la recherche sur CADASIL est-elle principalement menée par le réseau Leducq ? Quels sont les pays les plus actifs, en dehors de la France ? Y a-t-il des annonces et des perspectives de tests de traitements, en France et à l'étranger ? »

Réponse. En ce qui concerne les perspectives de tests de traitements, ce sujet a été développé durant les exposés médicaux de cette AG.

Le Dr Joutel indique que l'équipe hollandaise fait des recherches à partir d'une technologie (oligonucléotide antisens) étudiée également pour la myopathie de Duchenne. L'objectif n'est pas d'agir sur la protéine mais sur ce qui va permettre de la fabriquer. Ce n'est pas le gène qui est la cible, mais l'intermédiaire entre celui-ci et la protéine. L'approche est d'essayer de retirer une petite partie de ce qui code la protéine mutée. Ceci a été validé au niveau de cellules (in-vitro). Cette stratégie, si elle s'avérait efficace, est très intéressante. Toutefois, elle ne pourrait permettre de traiter, dans un premier temps, que des patients dont la mutation se situe dans la partie initiale du gène (ce qui est le cas d'environ la moitié des patients). Elle empêcherait la survenue de l'accumulation et devrait donc être mise en œuvre à un stade très initial de la maladie.

L'équipe hollandaise a généré un nouveau modèle de souris transgéniques CADASIL qui sur expriment une protéine Notch3 humaine mutée. Le Dr Joutel est en contact avec cette équipe pour envisager de tester le modèle thérapeutique de l'anticorps anti-NOTCH3 sur ce modèle.

Le réseau transatlantique constitué grâce au soutien de la Fondation Leducq, qui réunit l'équipe du Dr Joutel et des laboratoires de pointe en Europe et aux USA, est le plus dynamique et en avance dans la recherche sur CADASIL.

« L'équipe du Dr Joutel nous est présentée chaque année. Est-ce qu'ils travaillent uniquement sur CADASIL, ou bien aussi sur d'autres maladies ? Dans ce cas, le nombre de personnes faisant des recherches sur la maladie est de combien ? Et certains chercheurs ont-ils un contrat précaire ? »

Réponse. Le Dr Joutel a présenté la composition de son équipe à la fin de son exposé sur la recherche génétique. Elle travaille sur d'autres maladies des petits vaisseaux. Un des jeunes post-doctorants étudie les mécanismes d'une autre forme génétique de maladie des petits vaisseaux cérébraux.

Les recherches sur ces autres maladies sont complémentaires de celles réalisées sur la maladie de CADASIL. Elles permettent de mettre au point de nouvelles méthodes et de découvrir de nouveaux mécanismes qui peuvent bénéficier aux recherches sur CADASIL.

L'équipe du Dr Joutel fait partie également d'un consortium européen dont le but est d'identifier des mécanismes communs à différentes formes de maladies des petits vaisseaux.

L'équipe du Dr Joutel est composée de trois post doctorants, une ingénieure à mi-temps qui prépare sa thèse, un interne en neurologie qui prépare son Master 2 et une assistante-ingénieure. Une ingénieure de recherche a récemment quitté l'équipe pour partir vivre en province et cela pour des raisons familiales.

En dehors des recrutements sur concours, l'INSERM n'autorise pas le recrutement de personnel en CDI. Seuls des CDD sont possibles. La durée maximale de ces contrats est fixée à six ans. Les trois post-doctorants de l'équipe ont été recrutés sur CDD.

« Le laboratoire Lundbeck danois a t'il déposé un brevet ? »

Réponse. (Dr Joutel). Ce sujet a fait l'objet d'une présentation durant l'intervention sur la recherche génétique ce jour. Un brevet a en effet été déposé par ce laboratoire en partenariat avec l'INSERM. Il

concerne une preuve de concept d'une stratégie de traitement, à base d'anticorps, testée sur des souris transgéniques.

«Une jeune femme de ma famille, 35 ans, porteuse du gène de CADASIL, a fait deux névrites optiques. On lui dit que ce n'est pas lié à la maladie. Mais ce n'est pas rassurant pour elle. Qu'en pensez-vous ?»

Réponse (Pr Chabriat et Dr Hervé). Il n'y a pas de lien entre la névrite optique, qui est une inflammation du nerf optique, et CADASIL. C'est une manifestation d'une maladie inflammatoire, comme la sclérose en plaques, alors que CADASIL est une maladie vasculaire.

« Qu'est-ce que la réhabilitation cognitive ? Serait-elle adaptée pour récupérer des conséquences d'un AVC ou retarder certains symptômes ? Qui la prescrit et la pratique ? Est-ce pris en charge par la Sécurité Sociale ? »

Réponse (Sonia Reyes, psychologue au CERVCO). La réhabilitation cognitive consiste à étudier et rééduquer les troubles observés chez un patient particulier. Selon les troubles (attention, mémoire, concentration, difficultés de programmation...), il faut chercher à pallier le déficit, de façon personnalisée, et limiter l'impact dans la vie quotidienne, selon les objectifs propres à chaque personne, en tenant compte de sa situation, son âge, ses besoins.

Il peut s'agir de conseils pour adapter les activités du patient, pour aider à préparer un dossier pour un poste de travail adapté, pour stimuler les capacités restantes, etc. Cette prise en charge ne permet pas de modifier l'évolution de la maladie, mais de chercher et mettre en œuvre des moyens pour redonner confiance, faciliter la vie quotidienne et aider à maintenir les relations sociales. Certaines de ces actions peuvent être réalisées avec un orthophoniste, un ergothérapeute, etc.

« Comment progresse la maladie dans le temps ? Nature des handicaps. Traitements indispensables. Existe-t-il des cures thermales adaptées ? »

Réponse (Pr Chabriat). La maladie est présentée de façon détaillée sur les sites internet du CERVCO et de CADASIL France. De façon générale, les premiers symptômes peuvent être des crises de migraine avec aura. Elles peuvent apparaître chez 40 à 50 % des patients. La gravité de la maladie est liée à l'apparition des accidents vasculaires cérébraux successifs. Ces

petits infarctus vont être responsables de déficits. L'accumulation des infarctus conduit progressivement à des handicaps, comme des troubles de l'équilibre, de la marche, etc., et à un ralentissement.

Il y a grande variabilité d'une personne à l'autre en ce qui concerne les symptômes, l'âge d'apparition des troubles et l'évolution de la maladie.

Il n'y a pas de cure thermique adaptée particulièrement qui puisse être préconisée. Mais des soins complémentaires incluant de la kiné, de la stimulation, une bonne alimentation, etc., peuvent être bénéfiques, s'ils sont adaptés à l'état de santé de la personne et tiennent compte de sa fatigabilité.

« Est-il bien de prendre des vasodilatateurs comme le Cervoxan prescrit pour les aura ? »

Réponse (Pr Chabriat). Ce type de traitement n'a pas été étudié pour une maladie comme CADASIL, il n'est donc pas conseillé de prendre cette catégorie de médicament pour éviter les aura, car il n'y a pas d'éléments de preuve d'efficacité.

« Dans la mesure où mon fils va avoir 18 ans en mai 2016, je souhaiterais fortement que celui-ci fasse une prise de sang génétique (il m'en a parlé dernièrement). Puis-je le faire sur place ? Etant donné que nous habitons loin de Paris, les déplacements sont difficiles. Comment dois-je procéder dans ce cas ? Merci de bien vouloir me donner l'intitulé exact de la prise de sang pour que le médecin traitant puisse le prescrire et le transmettre ensuite. »

Réponse (Pr Chabriat et Dr Joutel). Ce n'est pas au parent de faire ce type de démarche pour un test génétique au nom de son enfant majeur. C'est au jeune de décider de contacter le centre de référence (CERVCO) pour envisager de prendre un rendez-vous pluridisciplinaire afin qu'il soit accompagné dans sa démarche et puisse prendre sa décision de façon éclairée. Il est aussi possible de prendre rendez-vous avec le médecin généticien du centre hospitalier de sa région. Le CERVCO peut indiquer les coordonnées de ces généticiens en province.

« Le Dr Joutel nous parle d'essais futurs. Cet espoir d'arriver à un traitement un jour (et chacun est impatient) nous soutient. Nous avons du mal à nous représenter quelles sont les différentes étapes à franchir pour arriver à un médicament (ou à un traitement). On entend parler de phases 1, 2, 3, etc.

Pourriez-vous nous préciser où nous en sommes aujourd'hui, quelles étapes ont été franchies ? Quelles étapes il reste à parcourir ? Quelles sont leurs durées potentielles ? Peut-on avoir une idée de son coût et comment on peut espérer le voir financé »

Réponse (Dr Joutel et Pr Chabriat). La première étape, avant la phase 1, dans l'évaluation d'une hypothèse de stratégie de traitement est d'évaluer le médicament potentiel sur l'animal. Il s'agit de vérifier l'efficacité, de trouver les mécanismes d'action du traitement, de déterminer des marqueurs biologiques permettant de prouver, mesurer et suivre l'effet du médicament testé.

Il est également nécessaire d'évaluer la toxicité du traitement, en général dans deux espèces animales différentes. Pour ces tests de toxicité, il faut produire le médicament en question en assez grande quantité avec des conditions très contrôlées. Une telle étape dure environ cinq ans. Si on arrivait à passer cette étape chez l'animal avec l'anticorps en cours de test, la phase clinique pourrait être plus rapide par rapport à d'autres médicaments car il existe déjà beaucoup de données sur ce type de composé.

Chez l'homme, la phase 1 dure environ un an et demi. On étudie d'abord les réactions chez des sujets sains.

La phase 2 a pour but d'évaluer la dose du médicament ainsi que la tolérance et la toxicité éventuelle. Le groupe de personnes participant au test reçoit différents dosages afin d'identifier celui qui est le plus efficace, sans effets secondaires.

La phase 3 permet de tester l'efficacité clinique selon des critères cliniques ou marqueurs d'évaluation de l'effet (par exemple à l'IRM).

Ces deux étapes durent quelques années, en général, selon le nombre de participants.

Pour qu'un test ait une forte probabilité d'aboutir, il faut donc avoir une capacité à le prouver : il faut prendre des précautions pour bien cibler la composition de l'échantillon, choisir des participants à un âge et un stade de la maladie correspondant bien au mécanisme ciblé par le traitement, avoir identifié et validé des marqueurs afin que l'effet puisse être prouvé et mesuré.

Il vaut mieux ne pas se précipiter pour être sûrs que la stratégie adoptée soit la bonne chez l'homme...

Pour l'anticorps anti- NOTCH3 actuellement en cours de test dans CADASIL, afin de minimiser les risques d'échec, il est très important de vérifier son efficacité dans plusieurs modèles de souris, en essayant de développer des méthodes d'évaluation

transposables chez l'homme. Il est aussi important de bien comprendre le mécanisme d'action du traitement et d'avoir établi une méthode pour mesurer son impact. Il faudra plusieurs millions d'euros pour arriver au traitement. Le soutien d'une association est important pour collecter des subventions et dons.

Les projets d'outils thérapeutiques en vue d'empêcher ou retarder les effets de la maladie de CADASIL sont complétés par la recherche de moyens pour soigner les patients qui ont déjà des troubles liés à la maladie, et améliorer leur évolution.

Il faudrait déjà faire une campagne anti-tabagisme car le tabac multiplie par trois le risque d'AVC !

Un post-doctorant chinois vient de rejoindre l'équipe du Pr Chabriat, dans le cadre d'une coopération entre les académies des sciences chinoise et française, ainsi que grâce à une subvention de l'ARNEVA (Association pour la Recherche Neuro-Vasculaire à l'hôpital Lariboisière). Il va conduire une étude sur la pression artérielle. On va étudier son rôle dans la maladie et la survenue de nouveaux petits infarctus, grâce à l'imagerie. Il pourrait être possible d'intervenir suffisamment tôt si on pouvait évaluer des indices de variation de la pression qui seraient associés à la survenue d'AVC.

Il faut aussi aider à récupérer d'une succession d'AVC et améliorer la rééducation de l'état fonctionnel. Le CERVCO a également des projets à ce sujet.

« Dans l'année, je suis tombée sur un article au sujet du chromosome 19 qui dit qu'il peut y avoir des mutations suite à des vaccinations. Si je me souviens, ils parlaient de la polio et la coqueluche. Nous aimerons avoir un avis ... »

Réponse (Dr Chabriat et Dr Joutel). Une telle annonce n'est pas possible scientifiquement. Les infections ne peuvent pas entraîner une mutation responsable de cette maladie. Les informations sur internet doivent être interprétées avec beaucoup de précautions et il faut se référer à des sources fiables. En cas de doute, il faut contacter son médecin traitant, ou le CERVCO.