



Assemblée Générale  
CADASIL France  
25/09/2021

Compte-rendu des interventions en  
visioconférence

**Avancement des recherches**

A l'issue de l'AG administrative portant sur l'exercice de l'année 2020, qui s'est tenue le 25 septembre 2021, en visioconférence, le Docteur Anne Joutel et le Professeur Chabriat sont intervenus en visioconférence, et ont fait un point sur l'avancement des recherches portant sur la maladie CADASIL.

**1- Le Docteur Anne Joutel a, dans un premier temps, présenté l'évolution de ses recherches**

Beaucoup de choses se sont passées depuis la dernière rencontre avec l'équipe médicale et de chercheurs, rencontre qui remonte à avril 2019 du fait de l'épidémie de Covid. Les recherches menées par le laboratoire du Dr Joutel ont été impactées surtout par le premier confinement mais beaucoup moins par le second, contrairement aux recherches cliniques menées par le Pr Chabriat qui ont été entravées par les contraintes sur les déplacements.

**L'équipe** qui entoure le Dr Joutel s'est modifiée et étoffée.

Fin 2018 cette équipe a quitté la faculté de médecine Lariboisière et a rejoint l'**IPNP** (Institut de Psychiatrie et de Neurosciences de Paris), 102 rue de la Santé, dans un bâtiment qui a été entièrement réhabilité.

Cet institut rassemble plus d'une douzaine d'équipes de recherche, dont certaines travaillent sur des maladies psychiatriques, d'autres sur des problématiques de maladies vasculaires, ou sur des aspects plus fondamentaux de la substance blanche et des neurones.

C'est un environnement scientifique dynamique où les chercheurs disposent de plateformes : par

exemple, plus d'un étage est dédié à l'élevage des souris et surtout à l'exploration de ces souris, de la fonction vasculaire, de la cognition...

Il y a aussi d'autres plateformes : une d'imagerie (dans les recherches la microscopie confocale à haute résolution est très utilisée), une de biochimie...

La cheffe du projet RHU, **Nathalie Gastelier** a changé de poste et a été remplacée par **Fanny Fernandez**. L'équipe s'est étoffée mais reste limitée à 7 collaborateurs du Dr Joutel, du fait de contraintes liées à l'organisation matérielle de « l'open-space ».

L'équipe comprend quatre post doctorants, dont trois travaillent directement sur la maladie CADASIL, et deux ingénieurs. Chaque année le laboratoire accueille aussi un interne en neurologie qui vient faire son année de master de recherche et prend souvent un poste de chef de clinique en neurologie dans le service du Pr Chabriat par la suite.

**Les évolutions de la recherche depuis 2 ans**

⇒ **Compréhension des mécanismes moléculaires**

Depuis quelques années, les chercheurs essayent de décrypter tous les mécanismes moléculaires qui conduisent à l'accumulation de la protéine Notch 3 et à la dysfonction des vaisseaux.

Il a donc fallu déjà caractériser la nature de la dysfonction des vaisseaux. Une des propriétés importantes des vaisseaux cérébraux est de se contracter en fonction de la pression artérielle. Cette fonction est compromise dans le modèle des souris CADASIL. De même, la dilatation des vaisseaux cérébraux qui permet une augmentation du débit sanguin pour assurer un apport d'oxygène plus important, dans la zone du cerveau correspondante, lorsqu'il y a une augmentation de l'activité neuronale, est, elle aussi, compromise chez les souris CADASIL. Ces anomalies se retrouvent chez les patients.

Pour décrypter ces mécanismes il est fait appel à de multiples techniques permettant l'étude de la molécule jusqu'au fonctionnement des vaisseaux à l'intérieur du cerveau. Ce travail a pu se faire

grâce à une collaboration très étroite qui dure depuis presque 10 ans avec Mark Nelson, chercheur à l'université de Burlington dans le Vermont, aux USA. Différentes recherches parallèles ont eu lieu, et cette collaboration a permis d'avancer dans la compréhension du dysfonctionnement des vaisseaux cérébraux, à un stade très précoce de la maladie. Mark Nelson, qui est un grand spécialiste de la fonction des vaisseaux cérébraux, a commencé à travailler, avec son équipe, sur CADASIL il y a une dizaine d'années. Une collaboration de grande qualité avec l'équipe d'Anne Joutel a permis d'importantes avancées.

Voici schématiquement ce qui se passe au niveau des artères et des capillaires (les tous petits vaisseaux, les plus distaux) du cerveau : l'accumulation de la protéine Notch 3 entraîne une accumulation de la protéine TIMP 3 dont l'expression est modifiée, aussi bien dans les artères que dans les capillaires, ce qui entraîne une cascade d'évènements au niveau des cellules musculaires lisses des vaisseaux. En particulier, il se produit une perturbation d'un canal potassique dont le bon fonctionnement régule la contraction/dilatation des cellules et des vaisseaux. Au niveau des capillaires, le processus est un peu différent : l'anomalie se situe au niveau des cellules endothéliales du capillaire et c'est un autre canal potassique qui est atteint. Cette compréhension de ce qui se passe d'anormal lorsqu'il y a une mutation du gène Notch 3 est le résultat de cinq années de travail.

Mark Nelson a montré dans son laboratoire que cette anomalie au niveau du capillaire peut être restaurée avec un produit particulier : la compréhension de ce qui se passe à un niveau moléculaire permet de penser à des stratégies thérapeutiques, même si pour l'instant tout cela est au niveau du concept.

Actuellement on a réussi à avoir un modèle de souris qui reproduit la perte des cellules musculaires lisses à un stade très précoce de la maladie, ce qui n'était pas le cas jusqu'à présent.

### ⇒ **Compréhension de ce qui se passe au niveau de la substance blanche**

Les nouveaux modèles de souris vont permettre de reproduire ce qui se passe au stade précoce de la maladie. Ces études à un stade très précoce sont particulièrement importantes dans la maladie CADASIL : c'est en effet une maladie qui évolue pendant très longtemps, avec accumulation de Notch 3, apparition de taches blanches à l'IRM, sans qu'il y ait de symptômes. Il y a donc une « fenêtre thérapeutique », c'est-à-dire une longue période d'années pendant lesquelles des anomalies commencent à se mettre en place, sur lesquelles on pourrait intervenir car elles ne sont pas irrémédiables. On utilise donc des modèles souris pour comprendre ce qui se passe à un stade précoce et pour prévenir ou retarder l'apparition des symptômes.

Un post doctorant anglais, recruté il y a quelques années par le Dr Joutel, et que l'association avait soutenu financièrement, a développé une approche tout à fait nouvelle pour observer en microscopie électronique la myéline dans le cerveau des souris CADASIL.

La substance blanche est constituée d'axones (les nerfs) qui sont entourés d'une gaine de myéline disposée en couches ; cette gaine permet que la conduction nerveuse aille plus vite. Pour l'étudier il faut des outils particuliers pour ne pas être soumis à des artefacts. Avec les techniques classiques d'anatomopathologie on n'arrive pas à voir les multiples couches de la gaine de myéline qui entourent l'axone. Cette nouvelle technique est une technique de cryocongélation à très haute pression, à 180 bars : on remplace l'eau pour empêcher la formation de cristaux ce qui permet de faire des coupes très fines. Cette technique a permis de voir qu'au stade précoce de la maladie il se produit un débobinage des lamelles de myéline et que la partie interne de la myéline, qui s'appelle « la langue interne », est très anormalement élargie et comporte des petites vésicules. Cela traduit une souffrance très précoce de la myéline.

**Cette étude permet donc de dire que dans CADASIL l'anomalie très précoce touche la gaine de myéline et non pas l'axone** : il s'agit donc probablement d'une souffrance des cellules qui produisent cette gaine de myéline.

Une autre étude est en cours avec le Dr Cyril Poupon du CEA : on a appliqué le même protocole d'IRM aux souris que chez l'homme, avec des durées de protocole particulièrement longues, permettant d'analyser la substance blanche à une échelle presque microscopique et permettant de confirmer qu'il s'agit bien d'une atteinte de la gaine de myéline. C'est un travail qui est en cours de rédaction.

Donc, sur les deux/trois années précédentes, le travail a porté sur la dysfonction des vaisseaux et sur ce qui se passe dans la substance blanche.

#### ⇒ Projets en cours

-Des moyens humains particulièrement importants sont mis en place pour la recherche sur CADASIL. On a découvert il y a 20 ans que c'est l'accumulation de la protéine Notch 3 qui est anormale, mais on n'a toujours pas découvert pourquoi elle se produit. Cependant, tous les travaux de recherche aboutissent au fait que c'est cette accumulation qui est responsable de la maladie et depuis un an et demi les recherches se concentrent sur le mécanisme de cette accumulation ; dans l'équipe quatre personnes travaillent à temps plein sur ce sujet. Les recherches ont avancé, sur la composition de ces agrégats, et sur les endroits où ces agrégats s'accumulent dans la cellule.

Dans les semaines qui viennent nous allons commencer les premières expériences pour essayer de déclencher l'accumulation d'agrégats car on pense avoir trouvé le « chaînon manquant » qui va permettre de reproduire les agrégats dans les cellules. Jusqu'à présent on n'arrivait pas à reproduire ce mécanisme dans les cellules, ce qui veut dire que l'on n'avait pas le modèle pour pouvoir étudier comment la protéine s'accumule. Il y a maintenant des hypothèses très sérieuses sur l'élément déterminant qui fait que l'accumulation de protéine se produit.

-Jusqu'alors on pensait que Notch 3 ne s'exprimait que dans les cellules musculaires lisses des vaisseaux. Or, on a découvert que l'on retrouve Notch 3 dans le sang et dans le liquide céphalo-rachidien (LCR, liquide dans lequel baigne le cerveau et qu'on peut analyser si on pratique une ponction lombaire). Un test a été mis au point qui permet de quantifier Notch 3 dans le sang. L'idée est de regarder si le dosage de Notch 3 dans le sang ou le LCR est corrélé à la progression et à la gravité de la maladie. C'est une avancée très importante. L'équipe de chercheurs aura certainement besoin que l'association communique sur ce sujet car elle aura besoin d'échantillons de sang et de LCR de patients. La question à laquelle on souhaite répondre est de savoir si, avec ces dosages, on peut suivre la progression de la maladie. On va donc d'abord tester ces dosages chez la souris. Par ailleurs, il y a des stratégies thérapeutiques qui sont en cours d'élaboration aux USA qui consistent à réduire l'expression de Notch 3. Dans ces stratégies thérapeutiques qui consistent à faire baisser la quantité de Notch 3, il est essentiel de savoir réaliser des dosages pour savoir si ces traitements fonctionnent ou non. Le Dr Joutel a élaboré elle-même ce test et les premiers dosages dans le plasma des souris ont eu lieu la semaine dernière. Il y a eu un gros effort de recherche sur ce sujet car on espère, d'une part, pouvoir ainsi différencier les formes sévères de formes moins sévères, et d'autre part, ce sera un outil extrêmement important pour l'évaluation de stratégies thérapeutiques visant à réduire l'expression de Notch 3.

-Dans la maladie de CADASIL ce sont les cellules de la paroi des vaisseaux qui dégénèrent et qui disparaissent. On a modifié un modèle de souris afin de pouvoir voir la perte des cellules grâce à « la rétine à plat », la rétine et le cerveau étant en continuité. Ces modifications ont pris trois ans. Sur la rétine à plat, en une seule préparation on voit l'ensemble de l'arbre vasculaire de la rétine : on voit les discontinuités qui apparaissent sur les artères des souris CADASIL, et donc la perte des cellules musculaires lisses des vaisseaux. C'est

une avancée majeure, parce qu'on a pu reproduire chez la souris ce que l'on voit chez les patients. C'est plus compliqué à voir dans le cerveau des souris que sur la rétine, mais on a développé de nouvelles approches qui permettent maintenant de voir ces pertes de cellules aussi dans le cerveau. Jusqu'alors, on pensait que dans la maladie CADASIL les lésions étaient dans les parties profondes du cerveau. Grâce à ces nouvelles techniques on constate que les lésions sont partout dans le cerveau. L'étape suivante est d'essayer de comprendre pourquoi les cellules disparaissent.

Les équipes d'Anne Joutel et de Mark Nelson vont essayer de tester l'hypothèse que tous les symptômes sont liés à la perte de ces cellules.

On s'est donc donné des moyens importants sur trois points : l'accumulation de Notch 3, ce qui se passe dans le sang et le LCR, et la compréhension de ce qui se passe autour de la perte des cellules musculaires lisses.

A partir de là quelles pistes thérapeutiques ? Il y a deux ans on avait évoqué l'idée de vaccinothérapie en injectant des anticorps anti Notch 3 aux souris avec des résultats assez encourageants. On avait ensuite interrompu ces travaux de recherche car on ne comprenait pas comment cela fonctionnait. On va pouvoir les reprendre car on a une idée plus précise de ce qui se passe au niveau de l'accumulation de Notch 3, et on a un marqueur d'anomalies des vaisseaux beaucoup plus précis.

**Donc en l'espace de deux ans beaucoup de choses ont avancé et le Dr Joutel espère qu'à la prochaine assemblée générale, dont nous espérons qu'elle se tiendra en présentiel, l'équipe de chercheurs pourra apporter des résultats intéressants.**

**Toutes ces recherches se font de façon très coordonnée avec l'équipe médicale de Lariboisière.**

## **2- Dans un second temps le professeur Chabriat propose un point sur les recherches cliniques**

Il s'agit de se préparer pour des essais thérapeutiques qui pourraient intervenir prochainement. Trois grands axes de recherche sur le plan clinique :

- développer des outils pour faciliter le développement des futurs essais thérapeutiques. Il s'agit d'une maladie rare, qui évolue sur des dizaines d'années. De ce fait, il est complexe de tester un médicament ; il faut donc avoir les outils les plus adaptés.
- proposer d'ores et déjà des moyens pour tenter d'améliorer la gêne ou le handicap des patients.
- si on dispose de certaines pistes, tenter de ralentir l'évolution de la maladie.

### **⇒ Développer les outils**

-mettre au point une échelle permettant d'évaluer plus précisément l'évolution de la maladie. L'évolution n'est pas uniforme dans cette maladie. Elle est très lente au début où il n'est pas évident de détecter des perturbations. Lorsque les patients s'aggravent, il est plus simple d'évaluer l'évolution de la maladie. L'idée est de rechercher des moyens permettant de mesurer l'évolution de la maladie à un stade où elle n'a que peu d'expression clinique. On a donc besoin d'outils qui permettent de mesurer précisément, et non de façon grossière cette évolution. Une recherche est en cours pour mettre au point de nouvelles échelles adaptées.

On essaie aussi de réunir l'évaluation des médecins et des psychologues et la plainte des patients. Les psychologues du service, en collaboration avec le Dr Tezenas du Montcel qui est chercheuse à la Pitié Salpêtrière, ont mis au point un questionnaire de plaintes à partir des patients. Ce questionnaire a été élaboré avec l'aide de l'association et le Pr Chabriat remercie toutes les personnes qui ont participé à ce travail. Ces deux outils sont liés à la fois à l'évaluation des patients, avec des tests, mais aussi aux plaintes et aux difficultés ressenties par les patients que

l'on doit collecter. L'idée est d'avoir des éléments plus précis que les échelles ou les moyens que nous avons à disposition aujourd'hui pour mesurer l'évolution de la maladie.

On essaie aussi de mieux comprendre les attentes des patients et de leurs familles.

Toutes les données collectées lors des tests, sur quinze années, au Centre de Référence sont analysées dans tous les sens pour mieux comprendre l'évolution de chaque score mesuré.

Les différents tests de mémoire n'évoluent pas de la même façon, en moyenne, sur l'ensemble des sujets au cours de l'âge. Il va s'agir de choisir les tests les plus adaptés en fonction de l'âge du sujet, du stade évolutif, pour évaluer l'évolution de la maladie et donc tester les thérapeutiques dans l'avenir. Actuellement on utilise des échelles relativement grossières ou bien le nombre d'AVC. L'objectif est de pouvoir mettre au point des essais qui dureraient moins longtemps ou avec un nombre de personnes y participant moins important.

-d'autres outils peuvent être utilisés, comme l'imagerie cérébrale. Le but des études en imagerie cérébrale est de détecter des modifications les plus petites possible au cours du temps, pour mettre au point des essais avec le plus petit nombre de sujets et avec la durée la plus courte possible.

-on essaie aussi de regarder si on peut observer de petites modifications des vaisseaux de la rétine au cours du temps grâce à de nouveaux appareils dont dispose l'hôpital Lariboisière. On va commencer à analyser les résultats de ces études.

-on va essayer de collecter du matériel biologique : du sang et aussi du LCR pour avoir des outils pour évaluer l'efficacité des tests thérapeutiques que l'on pourrait faire.

Toutes ces études sont effectuées en collaboration avec différentes équipes : l'équipe du Dr Tezenas du Montcel pour la mise au point des échelles thérapeutiques ; l'équipe des

neurologues et des psychologues de Lariboisière pour utiliser les outils de mesure des capacités de mémoire, d'attention, de concentration qui peuvent varier au cours du temps ; l'équipe des sociologues pour mieux comprendre les attentes, mais aussi les perspectives futures pour développer les thérapeutiques ; l'équipe des statisticiens afin de mesurer et d'avoir des idées sur comment mettre au point des essais thérapeutiques dans l'avenir ; et l'équipe du CEA pour essayer de trouver de nouvelles techniques en imagerie qui permettraient d'évaluer plus finement l'évolution au cours de la maladie.

#### ⇒ **Améliorer la gêne et le handicap des patients**

On essaie de mettre au point des outils d'évaluation qui pourraient être utilisés sur une plateforme par internet. On peut imaginer à l'avenir pouvoir réaliser ces tests à distance avec un neurologue ou un neuropsychologue.

On a un prototype de tests que l'on va faire passer à des patients mais aussi à des sujets qui ne sont pas atteints de CADASIL.

Avec ces tests, on a aussi mis au point des jeux vidéo qui ont pour objectif d'améliorer les troubles de la mémoire, de l'attention, de la concentration.

Pour toutes ces études, il y a une collaboration avec un groupe industriel qui s'appelle Genius. Les psychologues et les médecins de médecine physique et de réadaptation sont très impliqués puisque ces jeux vidéo et ces tests sont évalués actuellement chez des patients ayant des AVC et qui sont hospitalisés en service de Médecine Physique et de Réadaptation à la Pitié Salpêtrière, à Garches et à l'hôpital Fernand Vidal. Ce sont des patients qui n'ont pas de maladie des petits vaisseaux comme CADASIL afin de bien comprendre les limites des tests et des jeux vidéo.

Pour l'année prochaine, on va passer à des normes : on va faire passer ces tests à plusieurs centaines de sujets sains, afin de bâtir les normes et de pouvoir dire si tel test est normal ou non en

fonction de différents critères. En janvier, la collection des données chez les sujets sains commencera.

Au cours de l'année 2022 on va démarrer une étude avec un nombre limité de patients pour tester les jeux qui permettent d'améliorer les capacités d'attention, de concentration chez des patients qui ont la maladie de CADASIL. On pourra comparer l'évolution des sujets selon qu'ils bénéficient d'une rééducation classique ou d'une rééducation avec les nouveaux outils mis au point.

#### ⇒ **Ralentir l'évolution de la maladie**

On compte beaucoup sur tous les travaux réalisés chez la souris par Anne Joutel et son équipe, où on est au cœur même du mécanisme de la maladie. On a aussi des médicaments qui sont intéressants car ils ne sont pas toxiques et pourraient avoir un effet neuroprotecteur. Parmi ces médicaments il y a le Tocophérol qui est un dérivé de la vitamine E. A partir de données recueillies dans l'étude de cohorte du centre de référence, on a mis au point un essai thérapeutique avec un petit nombre de patients : l'objectif est de dépasser 25 patients dans chaque groupe. Le but est de voir si après deux ans de traitement les courbes d'évolution des patients ont différé. On a choisi des patients qui sont plus exposés du fait de leur âge et qui ont au moins une petite lacune sur l'IRM (donc au moins un AVC), même si la personne va bien. Tout le centre de référence participe à cette étude car c'est un énorme travail. On a actuellement 40 patients, et le projet est de finir les inclusions en novembre. Le Pr Chabriat insiste sur l'importance de l'association pour transmettre l'information et donc soutenir les différentes études.

Il y a beaucoup d'études en parallèle et certaines études ne sont pas compatibles entre elles.

Abas, qui gère toutes les données, précise qu'il y a 450 patients dans la cohorte avec un suivi de plus de 15 années et de nombreuses données collectées. L'essai thérapeutique a pu se mettre en place malgré la période Covid. Le Pr Chabriat remercie très chaleureusement l'association pour sa collaboration.

Grace aussi au RHU il y a une bonne collaboration entre la préclinique, la clinique, les patients. Ce sont trois éléments clés qui doivent travailler ensemble. Comme c'est une maladie qui évolue sur 30 à 60 ans il faudra bien réfléchir aux critères choisis (cliniques, imagerie) pour évaluer des effets thérapeutiques : par exemple chez un sujet jeune, de 30 ans, on ne verra rien si le critère retenu est le nombre d'AVC. Mais on aura peut-être des éléments à l'imagerie grâce aux nouveaux outils développés.

C'est un travail collaboratif étroit.

**3- Questions de Catherine Surjous, présidente de l'association :  
quelle utilisation pour la subvention que l'association donne à la recherche en 2021 ?**

La mise au point d'une bio banque est indispensable et coûte cher. Or il n'y a pas eu de financement propre pour cela. Le CERVCO a commencé à monter la bio banque avec l'ARNEVA et la subvention de l'association pourra servir à poursuivre la constitution de cette bio banque. Parallèlement il serait important de constituer une bio banque de Liquide Céphalo Rachidien avec à la fois du LCR provenant de patients porteurs de la maladie de CADASIL et aussi de personnes non porteuses. La collecte d'échantillons de personnes non porteuse de CADASIL est relativement simple : l'hôpital Lariboisière étant le centre d'urgence céphalées, il y a en effet des patients pour lesquels il faut faire des ponctions lombaires pour les améliorer. On peut donc garder pour la bio banque ces prélèvements de LCR.

Le Dr Joutel explique que cette bio banque de LCR est d'autant plus importante que durant les deux dernières années les chercheurs ont été très sollicités par de grosses entreprises américaines intéressées par le traitement des maladies rares et en particulier le développement de stratégies thérapeutiques pour CADASIL. Les maladies rares intéressent les entreprises thérapeutiques et CADASIL en particulier car c'est une « niche » dans le sens où les patients sont très bien phénotypés.

Une de ces approches thérapeutiques consisterait à utiliser des Oligonucléotides anti-sens qui ont pour objectif de réduire l'expression de la protéine. C'est une approche dont un essai de phase 3 vient de se terminer dans la maladie de Huntington et une grosse entreprise américaine souhaite la développer sur CADASIL. Ce type de traitement serait administré actuellement en faisant une ponction lombaire lors de laquelle on injecte le médicament.

Pour pouvoir suivre l'efficacité il faut absolument savoir ce qui se passe en termes de protéine Notch 3 dans le LCR. Il faut avoir un outil pour se préparer pour les thérapeutiques de demain. Pour les thérapeutiques de type Oligonucléotides anti-sens il faut développer la connaissance de la variabilité d'expression de la protéine Notch 3 dans le LCR, comment cela évolue au cours de la maladie. On va donc le faire sur la souris mais on aura aussi besoin de le faire sur les patients.

Par ailleurs, l'IRM ne montre que les conséquences de l'atteinte de la paroi des vaisseaux. On ne voit pas la paroi des vaisseaux. Les vaisseaux du cerveau baignent dans le LCR

Il serait important de développer des marqueurs qui pourraient être dosés dans le LCR et qui permettraient de suivre la perte des cellules musculaires lisses de la paroi des vaisseaux du cerveau. Cela permettrait de suivre directement ce qui se passe au niveau du vaisseau et non pas la conséquence de ce qui se passe. Il sera donc important que l'association relaie les besoins.