



FILSLAN

Filière de Santé Maladies Rares
Sclérose Latérale Amyotrophique
et Maladies du Neurone Moteur

ARSLA

Association pour la Recherche sur
la Sclérose Latérale Amyotrophique
et autres Maladies du Motoneurone



1^{ères} Journées de la recherche sur la SLA et les maladies du neurone moteur



PROGRAMME



PARIS, 2 & 3 juillet 2015

Auditorium ICM - *Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière*
Hôpital Pitié - Salpêtrière Paris XIII

Avec le soutien institutionnel de

genzyme
A SANOFI COMPANY

Programme - Présentations de 20 min + 10 min de discussion en français

Jeudi 2 Juillet 2015

9h30	Accueil des participants	
9h45	Introduction : C Desnuelle (coordination FILSLAN), Marie Léon (Présidente ARSLA)	
10h	Session 1 : Cellules non neuronales, inflammation et métabolisme Modérateurs : Gwendal Lemasson (Bordeaux), Laurent Schaeffer (Lyon)	Résumé Page
	- Understanding the contribution of microglia/macrophages in ALS using genetics, animal models and iPSc <i>Séverine Boillée (Inserm U1127 / CNRS UMR7225 / UPMC - ICM – Paris)</i>	4
	- The contribution of neuroinflammation in motoneuron disease <i>Cédric Raoul (INSERM UMR 1051 – Montpellier)</i>	5
	- Accumulation of exosomes in ALS muscle cells: impact on the muscle-nerve communication <i>Stéphanie Duguez (Myologie Centre de Recherche, UMR 974 UPMC INSERM, FRE 3617 CNRS, AIM – Paris)</i>	6
	- Les mécanismes fondamentaux de la perte de poids dans la SLA <i>Luc Dupuis (INSERM U1118 – Strasbourg)</i>	7
	- Les patients atteints de SLA et hyper métaboliques ont-ils des caractéristiques nutritionnelles, neurologiques, évolutives et de survie différentes des patients non hypermétaboliques ? <i>Philippe Couratier (NET NeuroEpidemiologie Tropicale - INSERM UMR 1094 -CHU Limoges – Limoges)</i>	8
12h30	Pause déjeuner	
14h	Session 2 : Biologie cellulaire et génétique Modérateurs : Séverine Boillée (Paris), Claude Desnuelle (Nice)	
	- Nouvelles stratégies de diagnostic et de thérapie dans la SLA <i>Georg Haase (CNRS, INT – Marseille)</i>	10
	- La variabilité des gènes codant les récepteurs nucléaires des oxystérols, LXR alpha et bêta, participe à l'histoire naturelle de la SLA <i>Kevin Mouzat (INSERM U1051 Montpellier et CHU de Nîmes)</i>	11
	- Recent advances in genetic models for ALS <i>Edor Kabashi (U1127 INSERM, ICM – Paris)</i>	12
	- Exosomes: a potential way to study TDP-43 spreading and to isolate new SLA biomarkers. <i>Pascal Leblanc (UMR 5239 – ENS-CNRS Lyon-UCBL, LBMC – Lyon)</i>	14
	- C9orf72 haploinsufficiency component in FTLD-ALS: results from a new mouse model <i>Morwena Latouche (INSERM/UPMC U1127, CNRS UMR7225, ICM)</i>	15
16h30	Pause	
17h	Session 3 : Biomarqueurs, électrophysiologie Modérateurs : William Camu (Montpellier), Philippe Couratier (Limoges)	
	- Les altérations du métabolisme des lipides dans la SLA: de la recherche fondamentale vers la recherche clinique <i>José Gonzalez de Aguilar (INSERM UMR_S 1118 – Université de Strasbourg- Strasbourg)</i>	16
	- La métabolomique dans l'étude de biomarqueurs diagnostiques et pronostiques dans la SLA <i>Hélène Blasco (INSERM U 930 Equipe 2 "Neurogénétique et neurométabolomique", Université François Rabelais- Service de Biochimie et Biologie Moléculaire du CHRU de Tours- Tours)</i>	17
18h – 19h30	Table ronde ARSLA : Comment tous ensemble, patients, chercheurs, pouvons-nous faire avancer la recherche ? Organisateur/modérateur : Jean d'Artigues (ARSLA)	

Vendredi 3 Juillet 2015



	Résumé Page
8h30 <u>Session 3 (suite) : Biomarqueurs, électrophysiologie (suite)</u>	
- Les Neurosciences Théoriques : un outil puissant pour comprendre et mieux cibler la neuro-dégénérescence dans la SLA	19
<i>Gwendal Le Masson (INSERM U862, Neurocentre Magendie, CHU Bordeaux, Bordeaux)</i>	
- Approche électrophysiologique des altérations sensori-motrices dans la SLA	20
<i>Véronique Marchand Pauvert (Inserm U1146 / UPMC / UMR 7371 CNRS, LIB - Paris)</i>	
- Is motoneuron hyper excitability harmful in mouse models of ALS?	21
<i>Daniel Zytnicki (CNRS UMR 8119 – Université Paris Descartes)</i>	
- Motor unit number index (MUNIX) : une nouvelle technique électrophysiologique pour suivre la progression de la maladie dans la Sclérose Latérale Amyotrophique	22
<i>Shahram Attarian (AP HM - Marseille)</i>	
10h30 Pause	
11h <u>Session 4 : Imagerie, Pistes thérapeutiques, Etudes cliniques, Epidémiologie</u>	
Modérateurs : Jean Pouget (Marseille), Vincent Meininger (Paris)	
- IRM médullaire et cérébrale dans les maladies du motoneurone	23
<i>Pierre-François Pradat (CHU Pitié-Salpêtrière - Inserm U1146 - LIB - UPMC – Paris)</i>	
- Human pluripotent stem cell approaches of motor neuron diversity in diseases	24
<i>Stéphane Nedelec (UMR 861 – Evry)</i>	
- Les oligonculéotides anti-sens dans le traitement de la SLA	25
<i>William Camu (CHU Montpellier – Montpellier)</i>	
12h30 Pause déjeuner	
14h	
- Efficacité, pharmacodynamie et sécurité de l'interleukine2 à faible dose (IdIL2) en tant que stimulant des lymphocytes T régulateurs (Tregs) à visée thérapeutique antineuroinflammatoire, chez des patients présentant une SLA nouvellement diagnostiquée : un essai randomisé, contrôlé, mené en double aveugle (Etude MIROCALS)	26
<i>Gilbert Bensimon (UPMC - Paris 6, AP-HP & CHU Nîmes)</i>	
- Assessment of predictive factors for disease progression in ALS. A predictive approach to facilitate the selection of patients for therapeutic trials: PULSE	28
<i>David Devos (INSERM U 1171, Université de Lille - CHRU Lille- Lille)</i>	
- Impact d'une supplémentation alimentaire précoce par voie orale sur l'état fonctionnel de patients atteints de Sclérose Latérale Amyotrophique (Etude NUTRALS)	30
<i>Philippe Couratier (NET NeuroEpidemiologie Tropicale - INSERM UMR 1094 -CHU Limoges – Limoges)</i>	
- Premiers résultats du projet BMAALS – Investigation du lien, en France, entre la cyanotoxine L- BMAA et l'incidence de la SLA	32
<i>Benoit Marin et Farid Boumediene (NET NeuroEpidemiologie Tropicale - INSERM UMR 1094 -CHU Limoges – Limoges)</i>	
16h Conclusions Générales	

UNDERSTANDING THE CONTRIBUTION OF MICROGLIA/MACROPHAGES IN ALS USING GENETICS, ANIMAL MODELS AND iPSc

Séverine Boillée, Delphine Bohl, Christian S Lobsiger, Stéphanie Millecamps, François Salachas, Danielle Seilhean

ICM, INSERM UMRS-1127; CNRS UMR-7225; UPMC, Hôpital de la Salpêtrière – Université de la Sorbonne – Paris

Les recherches de notre équipe s'intéressent aux causes de la SLA et aux mécanismes impliqués dans la dégénérescence motoneuronale, dans le but de ralentir la progression de la maladie. Notre approche consiste à étudier les formes familiales de la SLA, à comparer les atteintes cellulaires qu'elles entraînent pour révéler des voies communes au plus grand nombre de cas de SLA. Dans un premier temps, nous utilisons le séquençage à haut débit sur des cas familiaux de SLA afin de trouver de nouveaux gènes responsables de la SLA. Nous avons ainsi contribué à mettre en évidence de nouvelles mutations et analysons actuellement de nouveaux gènes candidats dans plus de 100 familles. Ces travaux nous ont aussi permis de révéler des caractères phénotypiques ou neuropathologiques particuliers liés à des gènes spécifiques. A l'aide de cellules souches pluripotentes induites (iPSc) nous produisons des motoneurons de cas familiaux (avec différentes mutations) ou sporadiques de SLA. Nos analyses morphologiques, électrophysiologiques et anatomopathologiques nous permettent de comparer les défauts retrouvés dans les motoneurons des cas de SLA par rapport aux contrôles. Nos études précédentes ayant montré que la SLA est une maladie cellulaire non-autonome où les cellules gliales participent à la dégénérescence motoneuronale et la progression de la maladie, nous étudions la participation des cellules microgliales, macrophages du système nerveux central, et des macrophages périphériques. A l'aide de modèles murins de la SLA, nous avons notamment révélé que le transporteur de glutamate, système xc-, était un régulateur des fonctions microgliales impliqué dans la progression de la maladie. Le motoneurone ayant la particularité d'avoir son corps cellulaire dans le système nerveux central mais d'étendre son axone à la périphérie, nous comparons l'implication des cellules microgliales et des macrophages périphériques. Nous étudions la réaction de ces cellules induite par les différentes causes génétiques de la SLA ou l'atteinte progressive des motoneurons, à l'aide de modèles murins et de macrophages provenant de patients (sanguins ou dérivés d'iPSc). Ces études devraient permettre de révéler des voies dérégulées dans les macrophages à la périphérie, plus facile à cibler que les cellules microgliales, afin de ralentir la progression de la maladie, dans un but thérapeutique.

Mots-clefs : génétique, iPSc, microglie/macrophage

PATHOLOGIES DU MOTONEURONE: ASPECTS NEUROINFLAMMATOIRES ET VISÉES THÉRAPEUTIQUES

William Camu^{1,2}, Annie Charnet¹, Emmanuelle Coque¹, Cécile Hilaire¹, Raul Juntas-Morales^{1,2}, Jovana Kantar^{1,3}, Serge Lumbroso^{1,3}, Kevin Mouzat^{1,3}, Nicolas Pageot^{1,2}, Céline Salsac¹, Frédérique Scamps¹, Thierry Vincent^{1,4} et Cédric Raoul¹.

¹ Inserm UMR1051, Institut des neurosciences de Montpellier, hôpital Saint-Eloi, Montpellier, France

² Clinique du motoneurone, service de neurologie, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France

³ Laboratoire de Biochimie, CHRU de Nîmes, Nîmes, France

⁴ Département d'immunologie, CHRU de Montpellier- Hôpital Saint-Eloi, Montpellier, France

De nombreuses études mettent en évidence qu'une réponse inflammatoire persistante contribue à la pathogénèse de la sclérose latérale amyotrophique (SLA) et autres maladies du motoneurone. Des astrocytes réactifs à la proximité immédiate des motoneurones jouent un rôle fondamental en déterminant l'ampleur de la réponse inflammatoire des cellules microgliales ou encore en délivrant des facteurs sélectivement toxiques pour les motoneurones. Une réponse neuroimmunitaire, autre trait caractéristique de la SLA, est caractérisée par une infiltration de cellules immunitaires dans le système nerveux central. Cependant, le dialogue inflammatoire s'établissant entre les motoneurones et leur environnement cellulaire peut avoir une issue protectrice ou délétère. La compréhension des différents signaux de communication émanant de ce contexte inflammatoire ainsi que leur intégration au niveau du motoneurone représente une étape cruciale dans l'identification de nouvelles voies thérapeutiques. Notre projet propose : 1. Identifier les acteurs moléculaires de ce dialogue entre motoneurones, astrocytes, microglie et cellules immunitaires, 2. Développer de nouvelles approches thérapeutiques pertinentes et 3. Promouvoir une recherche translationnelle évaluant la relevance clinique et génétique de notre recherche. Notre équipe articule donc une recherche fondamentale, clinique et génétique des pathologies du motoneurone. À cette fin, nous avons mis en place une structure multidisciplinaire incluant un axe d'exploration cellulaire et moléculaire, un axe d'exploration électrophysiologique fonctionnel de l'unité motrice et des études cliniques et épidémiologiques.

Références

Bowerman, M., Salsac, C., Coque, E., Eiselt, E., Deschaumes, R.G., Brodovitch, A., Burkly, L.C., Scamps, F. and Raoul, C. (2015). Tweak regulates astrogliosis, microgliosis and skeletal muscle atrophy in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mol Genet* 15, 3440-3456.

ACCUMULATION OF EXOSOMES IN ALS MUSCLE CELLS: IMPACT ON THE INTERCELLULAR COMMUNICATION

Stéphanie Duquez¹, Laura Le Gall¹, Gisèle Ouandaogo¹, William J Duddy¹, Jeanne Lainé¹, Sylvain Roquevière², Maria Del Mar Adamor³, Jean Philippe Loeffler⁴, José Luis Gonzales⁴, Lucette Lacomblez³, Gillian Butler Brown¹, Cécile Martinat², Vincent Mouly¹, Pierre François Pradat³

1- Myologie Centre de Recherche, Université Sorbonne, UMRS 974 UPMC, INSERM, FRE 3617 CNRS, AIM ;

2- I-Stem, INSERM/UEVE UMR 861, I-STEM, AFM ;

3- Département des Maladies du Système Nerveux, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière ;

4- Mécanismes Centraux et Périphériques de la Neurodégénérescence, Université de Strasbourg, INSERM U1118

Même si les mécanismes physiopathologiques des formes familiales ou sporadiques de la SLA sont encore très mal connus, les données de la littérature suggèrent que les voies impliquées dans la sécrétion de certaines vésicules (les exosomes) sont altérées. Ces exosomes jouent un rôle majeur dans la communication cellules-cellules et plusieurs laboratoires (dont le nôtre) ont montré que le muscle squelettique sécrète des exosomes.

Nous avons réalisé un secrétome musculaire *in silico* en utilisant 2 études transcriptomiques publiées et réalisées à partir de muscles de patients SLA sporadiques^{1,2}. Cette analyse nous a permis de mettre en évidence une altération significative des gènes impliqués dans la voie lysosomale et endosomale : 2 voies impliquées dans la biogenèse et la sécrétion des exosomes. Nous avons confirmé une accumulation d'exosomes au niveau des coupes histologiques de muscles de patients SLA. De manière intéressante, les analyses transcriptomiques, d'immuno-marquages et de RT-qPCR montrent de manière consistante une importante accumulation d'exosomes dans le cytosol de cellules souches du muscle SLA en culture, cellules naïves du processus de dénervation. La microscopie électronique révèle la présence de corps multivésiculaires riches en exosomes dans ces cellules. Ces exosomes sont sécrétés en abondance dans les milieux de cultures des cellules musculaires SLA. L'ensemble de ces résultats suggère une perturbation de la voie exosomale au niveau des cellules musculaires, perturbation commune à l'ensemble du groupe de patients étudiés (n=8). Lorsque les exosomes SLA sont appliqués à des cultures de cellules musculaires contrôles, nous observons (1) une perte significative de noyaux, perte reflétant la mort cellulaire, et (2) une diminution du domaine nucléaire, diminution reflétant une atrophie des myotubes. Cette étude originale suggère pour la première fois un rôle du secrétome musculaire dans la pathologie SLA. Etablir un lien entre la sécrétion d'exosomes et le processus pathologique SLA devrait ouvrir de nouvelles opportunités pour des stratégies thérapeutiques.

Références :

1- Pradat PF et al., *Neurodegener Dis.* 9, 38-52, (2012)

2- Bakay M et al., *Brain.* 129, 996-1013, (2006)

LES MÉCANISMES FONDAMENTAUX DE LA PERTE DE POIDS DANS LA SLA

Luc Dupuis^{1,2}

¹ INSERM U1118 , faculté de médecine, Strasbourg

² Université de Strasbourg

ldupuis@unistra.fr

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) est caractérisée, au-delà des symptômes moteurs, par une perte de poids qui peut être très importante. Cette perte de poids précède les symptômes moteurs, et est accentuée par la dysphagie liée à la progression des symptômes bulbaires. Elle est aussi retrouvée dans les modèles animaux de SLA, et la contrecarrer retarde le développement des symptômes moteurs. Enfin, la perte de poids est corrélée à la survie chez les patients et les premiers résultats d'essais cliniques suggèrent qu'une alimentation hypercalorique augmente la survie des patients gastrostomisés. Malgré ces multiples évidences d'une importance de la perte de poids dans la SLA, les mécanismes qui la contrôlent sont complètement inconnus à l'heure actuelle. Nos travaux actuels suggèrent plusieurs mécanismes potentiels gouvernant la perte de poids, tant dans les modèles animaux que chez les patients. Notamment, nous avons identifié des altérations hypothalamiques communes aux modèles murins et aux patients SLA. La diminution d'un neuropeptide hypothalamique apparait à elle seule suffisante pour expliquer la perte de poids car la complémentation par ce neuropeptide compense la perte de poids de souris SOD1m. Ces travaux pourraient permettre une approche pharmacologique au traitement de la perte de poids au cours de la SLA.

Mots clefs: perte de poids, hypothalamus, modèles murins

LES PATIENTS ATTEINTS DE SLA ET HYPER MÉTABOLIQUES ONT-ILS DES CARACTÉRISTIQUES NUTRITIONNELLES, NEUROLOGIQUES, ÉVOLUTIVES ET DE SURVIE DIFFÉRENTES DES PATIENTS NON HYPERMÉTABOLIQUES ?

Philippe Fayemendy¹, Pierre Jésus^{1,2}, Marie Nicol^{2,3}, Benoit Marin^{2,4,5}, Pierre-Marie Preux^{2,4,5}, Jean-Claude Desport^{1,2},
Philippe Couratier^{2,3}.

1. Unité de Nutrition, CHU de Limoges, France ; 2. INSERM UMR1094, Faculté de Médecine, Limoges, France ;

3. Service de Neurologie, Centre Expert SLA, CHU de Limoges, France ;

4. Unité Fonctionnelle de Recherche Clinique et bio statistique, CHU de Limoges, France ;

5. Institut d'Epidémiologie neurologique et de Neurologie Tropicale, CHU de Limoges, France.

Introduction :

L'hypermétabolisme est défini comme un niveau excessif de dépense énergétique de repos (DER) d'un patient. Classiquement, il est présent dans 50 à 60% des cas SLA sporadique et 100% des SLA familiales. Il est mesuré de +10 à +20% par rapport aux valeurs attendues, et apparait stable durant l'évolution de la maladie. L'objectif du travail était d'étudier dans une cohorte importante de patients les associations entre le niveau métabolique et les données cliniques et évolutives recueillies lors des évaluations pluridisciplinaires.

Méthode :

L'étude était rétrospective, et concernait 412 patients suivis au CHU de Limoges entre 1996 et 2014 ayant bénéficié d'une mesure de la DER par calorimétrie indirecte (CI). La base de données relevait le sexe, l'âge (au début des symptômes, au diagnostic, au décès), des caractéristiques neurologiques (forme de début, forme diagnostique, antécédents neurodégénératifs, forme familiale et mutation génétique en rapport, évolution de l'état fonctionnel selon l'échelle ALSFRS et ALSFRS-R), des données de mise en place d'une gastrotomie et d'une ventilation non invasive (VNI), des données métaboliques et nutritionnelles (DER calculée, DER mesurée par CI, Quotient respiratoire (QR), statut nutritionnel des patients, paramètres anthropométriques et impédancemétriques lors du diagnostic et à la date de réalisation de la CI). Le traitement statistique utilisait le logiciel GraphPad Prism 6 (CA, USA), avec les tests de Student, de Mann Whitney ou du Chi2. L'analyse de survie utilisait la méthode de Kaplan-Meier et le test du Log-rank. Le seuil de significativité était de 0,05.

Résultats :

L'analyse concernait 332 patients. 80 patients étaient exclus (incertitude diagnostique, calorimétrie indirecte non interprétable). 56,0% des patients (n=186) avaient un hypermétabolisme mesuré à $+21,5 \pm 10,1$ % de la valeur théorique. La composition corporelle variait selon les groupes, le pourcentage de masse grasse en anthropométrie et impédancemétrie étant significativement plus bas en cas d'hypermétabolisme (p respectivement à 0,003 et 0,002). Les paramètres neurologiques (forme de début, forme diagnostique) n'étaient pas différents au sein des deux groupes, de même que l'évolution du statut fonctionnel (variation de l'échelle ALSFRS-ALSFRS-R).

Philippe Fayemendy¹, Pierre Jésus^{1,2}, Marie Nicol^{2,3}, Benoit Marin^{2,4,5}, Pierre-Marie Preux^{2,4,5}, Jean-Claude Desport^{1,2}, Philippe Couratier^{2,3}.

1. Unité de Nutrition, CHU de Limoges, France ; 2. INSERM UMR1094, Faculté de Médecine, Limoges, France ;
3. Service de Neurologie, Centre Expert SLA, CHU de Limoges, France ;
4. Unité Fonctionnelle de Recherche Clinique et bio statistique, CHU de Limoges, France ;
5. Institut d'Epidémiologie neurologique et de Neurologie Tropicale, CHU de Limoges, France.

Introduction :

L'hypermétabolisme est défini comme un niveau excessif de dépense énergétique de repos (DER) d'un patient. Classiquement, il est présent dans 50 à 60% des cas SLA sporadique et 100% des SLA familiales. Il est mesuré de +10 à +20% par rapport aux valeurs attendues, et apparait stable durant l'évolution de la maladie. L'objectif du travail était d'étudier dans une cohorte importante de patients les associations entre le niveau métabolique et les données cliniques et évolutives recueillies lors des évaluations pluridisciplinaires.

Méthode :

L'étude était rétrospective, et concernait 412 patients suivis au CHU de Limoges entre 1996 et 2014 ayant bénéficié d'une mesure de la DER par calorimétrie indirecte (CI). La base de données relevait le sexe, l'âge (au début des symptômes, au diagnostic, au décès), des caractéristiques neurologiques (forme de début, forme diagnostique, antécédents neurodégénératifs, forme familiale et mutation génétique en rapport, évolution de l'état fonctionnel selon l'échelle ALSFRS et ALSFRS-R), des données de mise en place d'une gastrotomie et d'une ventilation non invasive (VNI), des données métaboliques et nutritionnelles (DER calculée, DER mesurée par CI, Quotient respiratoire (QR), statut nutritionnel des patients, paramètres anthropométriques et impédancemétriques lors du diagnostic et à la date de réalisation de la CI). Le traitement statistique utilisait le logiciel GraphPad Prism 6 (CA, USA), avec les tests de Student, de Mann Whitney ou du Chi2. L'analyse de survie utilisait la méthode de Kaplan-Meier et le test du Log-rank. Le seuil de significativité était de 0,05.

Résultats :

L'analyse concernait 332 patients. 80 patients étaient exclus (incertitude diagnostique, calorimétrie indirecte non interprétable). 56,0% des patients (n=186) avaient un hypermétabolisme mesuré à $+21,5 \pm 10,1$ % de la valeur théorique. La composition corporelle variait selon les groupes, le pourcentage de masse grasse en anthropométrie et impédancemétrie étant significativement plus bas en cas d'hypermétabolisme (p respectivement à 0,003 et 0,002). Les paramètres neurologiques (forme de début, forme diagnostique) n'étaient pas différents au sein des deux groupes, de même que l'évolution du statut fonctionnel (variation de l'échelle ALSFRS-ALSFRS-R).

NOUVELLES STRATÉGIES DE DIAGNOSTIC ET THÉRAPIE DANS LA SLA

Georg Haase¹, Sarah Bellouze¹, Sébastien. Schaller¹, Gilbert Baillat¹, Dorothée Buttigieg¹, Sharham Attarian²

¹ Institut de Neurosciences de la Timone, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) et Aix-Marseille Université, UMR 7289, Marseille, France.

² Service des Maladies Neuromusculaires et de la SLA, Centre de Référence, Hôpital de La Timone, APHM, Marseille, France.

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) se heurte à l'absence de bio-marqueurs adéquats et de thérapies réellement efficaces. Pour surmonter ce problème, notre équipe se fixe les objectifs suivants:

1. Evaluer les protéines dérivées du Golgi comme bio-marqueurs de la SLA. Nous avons récemment montré que les altérations pathologiques de l'appareil de Golgi constituent des caractéristiques précoces and constantes des motoneurons en dégénérescence chez les souris mutantes pmn (*progressive motor neuronopathy*) et SOD1. Nous avons montré que la fragmentation du Golgi chez la souris pmn est due à un « cross talk » défectueux entre la polymérisation de la tubuline et les vésicules de transport COP1 ce qui provoque une dérégulation massive de plusieurs protéines du Golgi incluant les protéines v-SNARE GS15 et GS28. Des mécanismes similaires sont en cause chez les souris mutantes SOD1. Nous allons maintenant étudier la libération cellulaire de ces protéines du Golgi, leurs niveaux dans les tissus SLA humains et leur potentiel en tant que bio-marqueurs sériques dans la SLA et les neuropathies motrices apparentées. Nous espérons que l'identification de bio-marqueurs dérivés du Golgi permettra de rendre plus précis le diagnostic, le pronostic et l'évaluation de la réponse aux médicaments dans la SLA.

2. Identifier des facteurs neurotrophiques pour les neurones moteurs atteints dans la SLA. Les facteurs neurotrophiques améliorent la survie des neurones moteurs au cours du développement et ont ainsi un grand potentiel thérapeutique pour la SLA. En utilisant des motoneurons purs isolés par une nouvelle technique de tri de cellules marquées en fluorescence (FACS), nous avons démontré des effets additifs puissants de nouveaux facteurs neurotrophiques, en relation avec l'expression des complexes de récepteurs correspondants par des sous-types distincts de neurones moteurs atteints dans la SLA. Ces données fournissent une base logique pour tester des combinaisons optimisées de facteurs neurotrophiques dans des essais précliniques de la SLA.

Références

1. S. Bellouze, M.K. Schaefer, D. Buttigieg, G. Baillat, C. Rabouille, G. Haase (2014), *Hum. Mol. Genet.* 15: 5961-75.

2. G. Haase, and C. Rabouille (2015), *Frontiers in Neuroscience*, accepted.

3. D. Toli, D. Buttigieg, S. Blanchard, T. Lemonnier, B. Lamotte d'Incamps, G. Baillat, D. Bohl, G. Haase (2015), accepted.

Mots-clefs : Golgi, Microtubules, Neurotrophic factors

LA VARIABILITÉ DES GÈNES CODANT LES RÉCEPTEURS NUCLÉAIRES DES OXYSTÉROLS, LXR ALPHA ET BÊTA, PARTICIPE À L'HISTOIRE NATURELLE DE LA SLA

Kevin Mouzat^{1,2}, Jovana Kantar¹, Nicolas Molinari³, Emmanuelle Huet¹, Anne Polge¹, Raul Juntas-Morales^{2,4}, Nicolas Pageot^{2,4}, Philippe Couratier⁵, Pierre Clavelou⁶, Philippe Corcia⁷, Cedric Raoul², Serge Lumbroso^{1,2} and William Camu^{2,4}.

1 : Laboratoire de Biochimie, CHU de Nîmes

2 : INSERM U1051, Institut des neurosciences de Montpellier, hôpital Saint-Eloi, Montpellier

3 : Département de l'Information Médicale. Hôpital La Colombière, CHU Montpellier

4 : Centre SLA, Explorations Neurologiques, CHU Gui de Chauliac, Montpellier

5 : Centre SLA, Service de Neurologie, CHU de Limoges

6 : Centre SLA, Service de Neurologie A, CHU de Clermont-Ferrand

7 : Centre SLA, Service de Neurologie et Neurophysiologie Clinique, CHRU de Tours, UMR INSERM U930

On estime aujourd'hui qu'environ seulement 10% des formes de Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) sont familiales, les 90% restant étant de présentation sporadique. A l'exception de ces cas familiaux, l'étiologie de cette maladie neurodégénérative reste actuellement très mal connue. En parallèle de certains facteurs de risque environnementaux décrits, des mutations génétiques sont aujourd'hui retrouvées chez environ 70% des patients porteurs de formes familiales et dans moins de 10% des cas sporadiques. Au total, environ 80% des cas de SLA ne sont donc pas expliquées, aujourd'hui, par la génétique. Par ailleurs, le pronostic des patients est très variable, allant de quelques mois à plus de 30 ans. A l'heure actuelle, il n'existe pas de facteur génétique clairement lié à cette variabilité. Cependant, le métabolisme lipidique, en particulier du cholestérol semble associé à la progression de la maladie. En effet, certaines études ont montré que des patients atteints de SLA ont un taux de cholestérol total circulant plus élevé que des individus sains. De plus, un ratio LDL/HDL élevé semble associé à un pronostic plus favorable. Parmi les régulateurs du métabolisme lipidique, les Liver X Receptor (LXRs) occupent une place centrale. Les deux isoformes (LXR alpha, *NR1H3* et LXR bêta, *NR1H2*) sont des récepteurs nucléaires activés par une série d'oxystérols, des dérivés naturellement oxydés du cholestérol. Par leur action hypocholestérolémiante, ils sont aujourd'hui considérés comme de véritables « détecteurs » du cholestérol endogène. Le rôle des LXRs dans la SLA a été soulevé par la découverte d'un phénotype reproduisant certains symptômes de la SLA chez les souris invalidées pour le gène codant LXR bêta. Notre étude a recherché une association génétique entre les gènes codant les LXRs chez l'homme et la maladie. Dans cette étude cas-témoin, nous avons montré que le polymorphisme rs7120118 du gène *NR1H3* était significativement associé à la SLA. De manière intéressante, le polymorphisme rs2695121 du gène *NR1H2* est associé à la survie des patients. Ces résultats apportent de nouvelles clés dans la compréhension des mécanismes moléculaires sous-jacents à la SLA. De plus, ces récepteurs nucléaires étant activables, ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives quant au développement futur de ligands dans la prise en charge des patients.

Mots-clefs : Liver X Receptors, SNP, Sclérose Latérale Amyotrophique

Session 2 : Biologie cellulaire et génétique

RECENT ADVANCES IN GENETIC MODELS FOR ALS

Sorana Ciura, Hortense de Calbiac, Doris-Lou Demy, ML Campanari, Serena Lattante, Corinne Besnard-Guérin, Edor Kabashi

ICM, INSERM UMRS-1127; CNRS UMR-7225; UPMC, Hôpital de la Salpêtrière – Université de la Sorbonne – Paris

Les progrès récents des techniques de séquençage a permis l'identification d'un certain nombre de mutations génétiques chez les patients atteints de SLA familiale et sporadique. L'objectif de notre équipe est d'établir de nouveaux modèles animaux présentant ces mêmes mutations afin de déterminer leur rôle pathogène, de mieux comprendre les mécanismes conduisant à la dégénérescence des neurones moteurs et d'identifier des cibles pharmacologiques pour le traitement des SLA. Pour atteindre ces objectifs majeurs, notre équipe utilise le poisson zèbre comme modèle vertébré pour établir des lignées transgéniques stables et transitoires. L'utilisation du poisson-zèbre a permis la caractérisation de ces lignées transgéniques exprimant les protéines mutées associés à la pathologie ALS (TDP43, FUS, C9ORFT2 et SQSTM1). Ces modèles de poisson-zèbre sont caractérisés par des déficiences axonales des motoneurones spinaux qui provoquent des altérations de la nage ainsi qu'une dégénération des motoneurones. De plus, ces modèles novateurs ont permis à notre équipe d'identifier les mécanismes moléculaires et physiologiques déclenchés au cours de la perte des motoneurones. Les criblages pharmacologiques de ces mécanismes physiopathologiques permettent d'annuler les déficits observés dans les modèles de poisson-zèbre. Ce travail utilisant des modèles animaux simples fournit un cadre idéal pour élucider les mécanismes de maladies qui peuvent être ciblées par des composés pharmacologiques afin d'élucider les stratégies thérapeutiques pour traiter les patients atteints de SLA et ceux qui sont touchés par des troubles neurodégénératifs apparentés.

Recent advances in genetic sequencing capability has prompted the identification of a number of genetic mutations in familial and sporadic ALS patients. The objective of our team is to translate these genetic findings by developing novel animal models that can be used to determine the pathogenic role of these genetic variants, to understand disease mechanisms relevant to motor neuron degeneration, and to define pharmacological targets for treatment. To achieve these major objectives, we have specialized in the usage of zebrafish as an ideal vertebrate model to perform genetic manipulation. This model has permitted to functionally characterize ALS-relevant mutations allowing us to develop stable and transient transgenic zebrafish lines for the major ALS genes; including TDP-43, FUS, C9orf72 and SQSTM1 zebrafish models. These zebrafish models are characterized by axonal deficits from spinal motor neuron that arise to swimming impairment as well as motor neuron degeneration. Furthermore, these innovative models have allowed our team to identify molecular mechanisms that are elicited upon motor neuron demise. Pharmacological targeting of these pathophysiological mechanisms were able to reverse the deficits observed in zebrafish models. This work provides a translational framework to utilize simple animal models to elucidate disease mechanisms that can be targeted by pharmacological compounds in order to elucidate therapeutic strategies to treat ALS patients and those affected by related neurodegenerative disorders.

Funding : We acknowledge the following foundations for their support: ARSLA, AFM, ANR (E-rare program), Inserm Atip-Avenir, FRM, FRC, ALS Canada, IRME, Robert Packard Foundation for ALS Research at John Hopkins University.

Références:

Lattante S, Ciura S, Rouleau GA, Kabashi E. Defining the genetic connection linking amyotrophic lateral sclerosis (ALS) with frontotemporal dementia (FTD). *Trends Genet.* 2015 May;31(5):263-273. doi: 10.1016/j.tig.2015.03.005. Epub 2015 Apr 10. Review.

Lattante S, de Calbiac H, Le Ber I, Brice A, Ciura S, Kabashi E. Sqsstm1 knock-down causes a locomotor phenotype ameliorated by rapamycin in a zebrafish model of ALS/FTLD. *Hum Mol Genet.* 2015 Mar 15;24(6):1682-90. doi: 10.1093/hmg/ddu580. Epub 2014 Nov 19.

Lattante S, Millecamps S, Stevanin G, Rivaud-Péchoux S, Moigneu C, Camuzat A, Da Barroca S, Mundwiller E, Couarch P, Salachas F, Hannequin D, Meininger V, Pasquier F, Seilhean D, Couratier P, Danel-Brunaud V, Bonnet AM, Tranchant C, LeGuern E, Brice A, Le Ber I, Kabashi E; French Research Network on FTD and FTD-ALS. Contribution of ATXN2 intermediary polyQ expansions in a spectrum of neurodegenerative disorders. *Neurology.* 2014 Sep 9;83(11):990-5. doi: 10.1212/WNL.0000000000000778. Epub 2014 Aug 6.

Mots-clefs : Zebrafish, Genetic models, Pharmacological screening

Session 2 : Biologie cellulaire et génétique

EXOSOMES: A POTENTIAL WAY TO STUDY TDP-43 SPREADING AND TO ISOLATE NEW SLA BIOMARKERS

Emilien Bernard ¹, Armand Perret-Liaudet ², Pierre-François Prada ³, Graça Raposo ⁴, Emmanuel Broussolle ¹,
Laurent Schaeffer ⁵ & Pascal Leblanc⁵

¹Centre SLA de Lyon, Hôpital neurologique P. Wertheimer, Bron-Lyon.

²Neurobiologie, CHU Lyon, BioRan, Centre Neurosciences de Lyon.

³Département des Maladies du Système Nerveux Hôpital de la Pitié Salpêtrière Paris.

⁴Institut Curie, UMR144-CNRS, Paris.

⁵Laboratoire de Biologie Moléculaire de la Cellule (LBMC), UMR5239-CNRS, Ecole Normale Supérieure de Lyon.

Pascal.Leblanc@ens-lyon.fr

La Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) est une maladie neurodégénérative appartenant au spectre dit des « protéinopathies » TDP-43. En effet, depuis 2006, la SLA est caractérisée sur le plan anatomopathologique par la présence dans le cerveau ou la moelle des patients, d'inclusions dont le composant principal est la forme ubiquitinylée, hyperphosphorylée et clivée de la protéine TAR DNA Binding Protein 43 (TDP-43). Des preuves s'accumulent pour indiquer aujourd'hui que cette protéine présente des caractéristiques similaires à celle de la protéine prion impliquée par exemple dans la maladie de Creutzfeldt-Jakob. En effet, Nonaka *et al.*, (Cell Report 2013) ont montré que la TDP-43 pathologique préparée à partir de cerveaux de patients atteints de SLA pouvait, comme la protéine prion, induire en culture de cellule (neuroblastomes humains SH-SY5Y), la conversion des formes normales de TDP-43 en formes anormales agrégées pathologiques. Par ailleurs, cette même étude a également suggéré que la TDP-43 pathologique pouvait être propagée au sein de la culture cellulaire SH-SY5Y via des vésicules extracellulaires appelées exosomes. Ces exosomes sont de petites vésicules d'origine endosomale libérées par la plupart des cellules dans le milieu extracellulaire et retrouvées dans de nombreux fluides biologiques comme le sang ou le liquide céphalorachidien (LCR).

Dans ce projet, nous proposons de développer un test biologique permettant de détecter la présence de la TDP-43 pathologique associée aux exosomes libérés dans le plasma et le LCR de patients atteints de SLA. La présence de la TDP-43 pathologique sera détectée par Western blotting et par immuno marquage en microscopie électronique à l'aide d'un anticorps spécifique dirigé contre la forme phosphorylée de la protéine pTDP-43 (S409/S410). Ses propriétés de type prion, c'est à dire sa capacité à convertir les formes TDP-43 endogènes normales en formes anormales pathologiques agrégées seront mises en évidence par inoculation des cellules permissives SH-SY5Y avec les exosomes purifiés issus de patients.

Nous espérons ainsi utiliser la TDP-43 pathologique comme biomarqueur spécifique de la maladie afin d'améliorer la fiabilité et la précocité du diagnostic, développer des moyens de monitorer la progression de la maladie et éventuellement la réponse à des traitements futurs. Cette étude devrait par ailleurs nous permettre d'apporter de nouveaux éclairages quant aux mécanismes de progression de la maladie et aider à identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.

Mots-Clefs : SLA/Exosomes/Biomarqueurs

Session 2 : Biologie cellulaire et génétique

C9ORF72 HAPLOINSUFFICIENCY COMPONENT IN FTLD-ALS: RESULTS FROM A NEW MOUSE MODEL

*Maria Belen Lopez¹, Stéphanie Godard-Bauché¹, Delphine Roussel¹, Sebastien Dussaud¹, Pierre Guillabert.¹,
Magali Dumont¹, Delphine Bouteiller¹, Philippe Ravassard¹, Isabelle Le Ber¹, Sophie Nicole¹, Alexis Brice.¹,
Morwena Latouche¹*

ICM, INSERM UMRS-1127; CNRS UMR-7225; UPMC, Hôpital de la Salpêtrière – Université de la Sorbonne – Paris

La répétition intronique GGGGCC dans le gene *C9orf72* constitue la cause génétique la plus fréquente de sclérose latérale amyotrophique (SLA) et de dégénérescence lobaire fronto-temporale (DLFT). Les conséquences de cette répétition non-codante sont encore débattues, mais une baisse d'expression de l'ARNm de *C9orf72* ainsi qu'une diminution de la quantité de protéine C9ORF72 ont été observées chez les patients lors de plusieurs études. Cela suggère un mécanisme perte de fonction, bien qu'un gain de fonction au niveau ARN et peptidique soit aussi observé qui pourrait lui aussi intervenir dans le processus pathologique.

Afin d'analyser le rôle de l'haploinsuffisance en C9ORF72 dans la SLA et la DLFT, nous avons généré un modèle murin knock-down pour C9ORF72. L'étude de ce modèle montre que ces souris développent assez précocement un comportement de type dépressif ainsi qu'un défaut d'interaction sociale, mais ne présentent pas d'atteinte de la mémoire spatiale ou de déficit d'apprentissage. Plus tardivement, une baisse de force musculaire est aussi observée chez ces animaux, accompagnée par l'apparition d'anomalies au niveau des jonctions neuromusculaires, mais pas de défaut locomoteur détectable. Ainsi, la déficience en C9ORF72 induit chez la souris un phénotype évocateur de la maladie humaine. Bien qu'une importante caractérisation histologique et moléculaire soit encore à faire, ces souris peuvent représenter un outil majeur pour l'élucidation des mécanismes physiopathologiques de la DLFT-SLA et le développement de futurs traitements.

Session 3 : Biomarqueurs, électrophysiologie

LES ALTÉRATIONS DU MÉTABOLISME DES LIPIDES DANS LA SLA: DE LA RECHERCHE FONDAMENTALE VERS LA RECHERCHE CLINIQUE

Jose-Luis Gonzalez De Aguilar

Mécanismes Centraux et Périphériques de la Neurodégénérescence - Université de Strasbourg, INSERM, UMR_S 1118 - Strasbourg

Pendant ces dernières années, la notion que les pathologies neurodégénératives ne sont pas limitées au système nerveux central s'est imposée. Ceci est particulièrement vrai pour les atteintes du métabolisme énergétique. Nos propres travaux, pionniers dans ce domaine des aspects centraux et périphériques des maladies neurodégénératives, ont montré que la SLA ne touche pas seulement le motoneurone mais affecte l'organisme dans son ensemble. Nous avons en effet observé la présence d'altérations du métabolisme énergétique et lipidique tant chez les patients que dans les souris portant une forme mutée de la SOD1 retrouvée dans certains cas de SLA familiale. L'aspect le plus important de cette découverte est que ces altérations sont mises en évidence très précocement dans les modèles murins et qu'elles précèdent largement les premiers signes cliniques de la phase d'état de la maladie. Ceci nous a conduit à formuler la notion particulièrement novatrice à l'époque de nos premières publications d'une contribution majeure des paramètres métaboliques dans l'initiation et le décours de la pathologie. L'objectif de nos recherches actuelles est de comprendre le lien entre ces paramètres métaboliques et le statut de la maladie ainsi que sa progression. Pour ce faire, nous analysons la composition en acides gras des lipides sanguins comme marqueur de la consommation alimentaire ainsi que du métabolisme endogène. En particulier, nos données récentes ont montré que le ratio palmitoléate/palmitate corrèle négativement avec le déclin du score ALSFRS-R sur une période de 6 mois. De plus, nos analyses de régression multiple ont montré que le ratio palmitoléate/palmitate est un facteur pronostique indépendant ($HR=0.1$, $95\%CI=0.01-0.59$, $p=0.0081$, $n=117$). En effet, la survie mesurée à partir du prélèvement sanguin était augmentée d'environ 10 mois chez les patients ayant un ratio palmitoléate/palmitate élevé, en comparaison avec les patients ayant un ratio plus bas. Ainsi, nos études futures nous permettront d'établir de biomarqueurs robustes mettant en relation le métabolisme lipidique et la SLA.

Mots-Clefs : *acide gras, biomarqueur, métabolisme*

Session 3 : Biomarqueurs, électrophysiologie

LA MÉTABOLOMIQUE DANS L'ÉTUDE DE BIOMARQUEURS DIAGNOSTIQUES ET PRONOSTIQUES DANS LA SLA

Hélène Blasco, Piere-François Pradat, Lydie Nadal-Desbarats, Patrick Emond, Christian Andres, Philippe Corcia

Equipe "Neurogénétique et neurométabolomique", Unité INSERM U930, CHU Tours - Tours

Une des difficultés de la prise en charge de patients SLA repose entre autres sur l'hétérogénéité de cette pathologie et l'absence de biomarqueurs diagnostiques ou pronostiques fiables. L'approche métabolomique fait partie des techniques « omiques », émergentes, sans *a priori* et à haut débit, et a été appliquée à certaines pathologies dont la SLA. La détermination d'un profil métabolique pourrait permettre d'identifier des biomarqueurs mais aussi d'améliorer la connaissance des voies physiopathologiques. A terme, la détermination d'un profil métabolique pourrait aider à caractériser le phénotype de la pathologie en vue d'une stratification des patients dans les essais cliniques.

A ce titre, nous avons réalisé la première étude métabolomique sur le Liquide Céphalorachidien (LCR) de patients SLA en montrant la faisabilité de discriminer les patients des témoins par le métabolome déterminé en Spectroscopie par Résonance Magnétique (RMN) (1). Nous avons profité de ces profils métaboliques pour appliquer une méthode innovante d'analyse des données basée sur le principe de dominance et nous avons montré que des outils mathématiques complémentaires pouvaient apporter de la robustesse aux résultats de métabolomique. Nous avons également réalisé un travail qualifié de méthodologique en montrant la faisabilité d'utiliser la spectrométrie de masse pour caractériser le métabolome du LCR afin de discriminer les patients SLA des contrôles (2). Nous nous sommes ensuite concentrés sur le développement d'une stratégie robuste de validation de biomarqueurs, en se basant sur la validation de modèles statistiques de prédiction sur une population indépendante (3). Après analyse du LCR par RMN de patients avec atteinte du motoneurone, nous avons obtenu des performances correctes de prédiction du diagnostic avec une sensibilité de 78,9% et une spécificité de 78,9% sur la cohorte externe (4). Nous avons poursuivi cette approche en évaluant la possibilité de caractériser un phénotype et un profil évolutif de la maladie à partir de la combinaison de données cliniques et métabolomiques. Nous avons également obtenu des résultats encourageants avec une prédiction correcte de la survie pour 76 % des patients d'une cohorte externe.

Ainsi, ces travaux se sont révélés prometteurs en terme de capacité à discriminer les patients SLA des contrôles mais également en terme de nature des biomarqueurs pertinents identifiés et des voies métaboliques impliquées telles que le métabolisme énergétique ou le métabolisme des acides aminés ramifiés par exemple.

Quelques autres équipes ont également rapporté des résultats prometteurs d'analyse métabolomique du sang ou du LCR pour aider au diagnostic ou pour caractériser par exemple un statut génétique pour la SOD. Tous ces résultats sont prometteurs mais posent le problème d'un manque de cohérence dans les biomarqueurs identifiés. De même, aucun des résultats publiés jusqu'alors en métabolomique dans la SLA n'est utilisé en pratique de routine. Ces limites pointent la difficulté d'analyse de données globales telles que les « omiques », et surtout le manque de validation des biomarqueurs identifiés. Il est possible que la métabolomique ne soit pas encore suffisamment robuste pour une utilisation en pratique de routine mais qu'elle soit adéquate pour une vision générale mécanistique du métabolisme et de ses altérations et donc pour l'exploration de la physiopathologie.

Références :

- (1) Blasco et al., 2010
- (2) Blasco et al., 2013
- (3) Otto and al., 2012
- (4) Blasco et al., 2014

LES NEUROSCIENCES THÉORIQUES : UN OUTIL PUISSANT POUR COMPRENDRE ET MIEUX CIBLER LA NEURO-DÉGÉNÉRESCENCE DANS LA SLA

Gwendal Le Masson

INSERM U862, Neurocentre Magendie, CHU Bordeaux, Bordeaux

Il est maintenant bien reconnu que la physiopathologie de la Sclérose Latérale Amyotrophique implique de très nombreux mécanismes et voies de signalisation, dont il est difficile de reconnaître le caractère causal ou secondaire conduisant à la dégénérescence des motoneurons. Le spectre clinique de la maladie s'élargit lui-même, et le caractère sélectif des processus dégénératifs comme limité aux motoneurons est aussi remis en question. Pour appuyer cette complexité, une énorme quantité de données expérimentales et clinique a clairement démontré au cours des dernières années, l'implication de nombreux acteurs intrinsèques ou extrinsèques aux motoneurons dans l'initiation ou l'entretien des processus pathologiques menant à la disparition de certains types cellulaires.

Les Neurosciences théoriques proposent des techniques capables d'agréger ces données dans des modèles informatiques dont l'intérêt est triple : (1) analyser la cohérences de plusieurs hypothèses concurrentes ou conjointes, permettant ainsi une forme de validation théorique de la plausibilité de ces hypothèses, (2) étudier les conséquences de certaines hypothèses en dehors du contexte dans lesquelles elles ont été proposée et donc en élargir le champs, (3) explorer de façon systématique ou dirigée, l'immense espace des combinaisons des états possibles pour en extraire des cibles potentielles d'intérêt. Ce « screening » pharmacologique virtuel est rendu possible par l'émergence de techniques puissantes d'optimisation et de modèle de neurone intégrant de plus en plus de voies métaboliques ou ioniques, de spécificités morphologiques que ce soit au niveau d'une cellule ou d'un réseau. Nous illustrerons, à l'aide d'exemples précis, chacun des points précédents dans le cas spécifique des déficits mitochondriaux observés dans la SLA. Ces méthodes sont à mettre en œuvre en relation étroite avec l'expérimentation dans une démarche de constant apport mutuel. Même si les modèles dont on dispose aujourd'hui sont loin d'intégrer l'ensemble des données disponibles, ils ont leur place dans l'arsenal visant à mieux comprendre et cibler les mécanismes de la dégénérescence cellulaire dans cette maladie.

APPROCHE ÉLECTROPHYSIOLOGIQUE DES ALTÉRATIONS SENSORI-MOTRICES DANS LA SLA

Véronique Marchand-Pauvert¹, Sina Sangari¹, Mohammed-Mouni El Mendili¹, Caroline Iglesias¹, Habib Benali¹,
Pierre-François Pradat^{1,2}

¹Laboratoire d'Imagerie Biomédicale, Inserm U1146/UPMC/CNRS UMRS 7371

²Pôle des Maladies du Système Nerveux

Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

Une atteinte sensitive précoce peut remettre en cause le diagnostic de SLA alors qu'il existe une altération des voies sensibles aux stades pré-symptomatiques chez le modèle murin¹. Par ailleurs, l'imagerie de diffusion au niveau médullaire a révélé des métriques anormales au niveau des cordons postérieurs suggérant une altération des voies sensorielles chez des patients à un stade précoce de la maladie². Malgré une littérature abondante mais hétérogène révélant des potentiels évoqués somesthésiques (PES) anormaux chez 1/3 des patients, la SLA est toujours considérée comme une maladie purement motrice. Le premier objectif a donc été de confirmer l'existence d'une atteinte sensitive infraclinique chez des patients à un stade peu avancé de la maladie, en couplant l'imagerie de diffusion de la moelle épinière et l'électrophysiologie. Des PES anormaux ont été observés chez 1/3 des patients et leur normalisation a permis d'augmenter ce taux à 2/3. De même, 2/3 des patients ont présenté une diffusion anormale au niveau des cordons postérieurs de la moelle épinière. Par ailleurs, une corrélation significative a été observée entre la taille des PES et les mesures de diffusion. Couplées, ces mesures suggèrent une atteinte sensitive infraclinique chez plus de 80 % des patients inclus dans l'étude³. Ceux-ci présentaient une atteinte motrice distale. Comme il existe des projections directes des retours sensitifs provenant des extrémités sur les motoneurones des muscles proximaux⁴, le second objectif a été d'explorer la réponse de ces motoneurones aux influx sensitifs provenant de muscles cliniquement atteints, de la comparer à leur réponse aux influx corticospinaux et enfin, d'étudier la convergence des influx sensitifs et corticospinaux au niveau de ces mêmes motoneurones. L'étude des courbes de recrutement des potentiels évoqués moteurs (PEM) a révélé une augmentation de l'intensité seuil de la stimulation magnétique trans-crânienne du cortex moteur (TMS) et une diminution de la taille maximale des PEM suggérant une diminution de l'excitabilité corticospinale et une perte probable des motoneurones alors que l'examen clinique et EMG était normal au niveau du triceps brachial. Malgré la perte d'influx sensitifs suggérée par l'altération des PES périphériques, les potentiels évoqués par la stimulation combinée des troncs nerveux périphériques et du cortex moteur étaient significativement plus grands chez les patients que chez les sujets sains. Ces résultats indiquent que la réponse des motoneurones de muscles proximaux aux influx sensitifs provenant de muscles distaux est augmentée chez des patients SLA. Néanmoins, les données sur les PEM ne permettent pas de conclure à une hyper-excitabilité intrinsèque des motoneurones. Alternativement, ces résultats suggèrent une modulation de l'excitabilité d'interneurones inhibiteurs contrôlant les influx sensitifs au niveau des motoneurones.

Références :

¹Guo Y-S et al. *Exp Mol Med* 2009;41:140–50.

²Cohen-Adad J et al. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener* 2013;14:30–8.

³Iglesias C et al. *Open*. 2015;5:e007659.

⁴Lourenço G et al. *Exp Brain Res*. 2007;178:267-84.

IS MOTONEURON HYPER-EXCITABILITY HARMFUL IN MOUSE MODELS OF ALS ?

Daniel Zytnicki

Center for Neurophysics, Physiology and Pathology, UMR 8119 CNRS/University Paris Descartes- Paris

It has long been suggested that hyperexcitability of motoneurons induces excitotoxicity in Amyotrophic Lateral Sclerosis. However this assumption had received little support so far. In my talk, I will review recent data that we have obtained in our laboratory. We have studied the properties of spinal motoneurons in ALS mouse models: first in adult animals, using an in vivo preparation that we have recently developed and which allows us to perform intracellular recordings of type-identified motoneurons; and then in neonatal animals, using whole cell-recordings of motoneurons in lumbar slices. Our data indicate that intrinsic hyperexcitability is confined to neonatal S-type motoneurons, which are resistant in ALS. In sharp contrast FF and FR types motoneurons that degenerate in ALS tend to become hypoexcitable in adults in the days that precede their degeneration. Our results show that, as far as intrinsic hyperexcitability is concerned, it is unlikely to trigger motoneuron degeneration. However, firing does not depend solely on intrinsic properties but also on the synaptic inputs received by the cell. Indeed, motoneuron excitotoxicity might still arise, if a strong unbalance of excitatory versus inhibitory inputs exists in ALS mice. An unbalance towards more excitation could overcome the intrinsic hypoexcitability of vulnerable motoneurons and force them to discharge more than usual. In this perspective, I will also present preliminary experiments in which we have started investigating whether excitatory and inhibitory pathways to motoneurons are dysfunctional or not in ALS.

Key words: Electrophysiology, Intracellular recordings, Vulnerability

MOTOR UNIT NUMBER INDEX (MUNIX) : UNE NOUVELLE TECHNIQUE ÉLECTROPHYSIOLOGIQUE POUR SUIVRE LA PROGRESSION DE LA MALADIE DANS LA SLA

Shahram Attarian

CHU La Timone- APMH - Marseille

Depuis longtemps, la quantification du nombre d'unités motrice a été un outil pour la surveillance de la progression de la maladie et pour l'évaluation de l'efficacité thérapeutique. Ces quatre dernières décennies, un certain nombre de techniques ont été développées pour estimer le nombre d'unités motrices in vivo. Ces méthodes complexes nécessitent du temps et une maîtrise technique importante.

L'indice de nombre d'unité motrice (MUNIX) est une méthode d'évaluation du nombre et de la taille (MUSIX) des unités motrices en utilisant le potentiel musculaire d'action global (PGAM) et enregistrements électromyographiques de surface d'interférence.

Le MUNIX est une technique non invasive qui peut être appliquée à n'importe quel muscle dans lequel un PGAM peut être obtenu par une stimulation nerveuse supramaximale. Il peut être mesuré dans plusieurs muscles en relativement peu de temps.

Chez les sujets sains le MUNIX a montré une bonne reproductibilité intra- et inter- opérateur. Chez les patients atteints de SLA suivis sur une période d'un an, une baisse significative du MUNIX et une augmentation du MUSIX a été notée sans modification notable de l'amplitude du PGAM. Ces résultats indiqueraient une perte des unités motrices fonctionnelles compensée par la réinnervation. Lorsque l'amplitude du PGAM diminue de manière significative (> 30%) sur 1 an, le MUNIX et le MUSIX diminuent en parallèle.

Conclusion : Cet outil semble pertinent pour la mesure de la progression du dysfonctionnement motoneuronal.

Session 4 : Imagerie, Pistes thérapeutiques, Etudes cliniques, et Epidémiologie

BRAIN AND SPINAL CORD RMI IN MOTOR NEURON DISEASES

Pierre-François Pradat^{1,2}

¹Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, INSERM, Laboratoire d'Imagerie Biomédicale, F-75013, Paris, France;

²APHP, Hopital Pitié-Salpêtrière, Département des Maladies du Systeme Nerveux, Paris, France

Neuroimaging allows investigating the extent of neurological systems degeneration in amyotrophic lateral sclerosis (ALS). Advanced MRI methods can detect changes related to the degeneration of upper motor neurons but have also demonstrated the participation of other systems such as the sensory system or basal ganglia, demonstrating *in vivo* that ALS is a multisystem disorder. Structural and functional imaging also allows studying dysfunction of brain areas associated with cognitive signs. From a biomarker perspective, numerous studies using diffusion tensor imaging showed a decrease of fractional anisotropy in the intra-cranial portion of the corticospinal tract but its diagnostic value at the individual level remains limited. A multiparametric approach will be required to use MRI in the diagnostic workup of ALS. A promising avenue is the new methodological developments of spinal cord imaging that has the advantage to investigate the two motor system components that are involved in ALS, i.e the lower and upper motor neuron. For all neuroimaging modalities, due to the intrinsic heterogeneity of ALS, larger pooled banks of images with standardized image acquisition and analysis procedures are needed.

Key words: MRI, brain, spinal cord

Session 4 : Imagerie, Pistes thérapeutiques, Etudes cliniques, et Epidémiologie

HUMAN PLURIPOTENT STEM CELL APPROACHES TO MOTOR NEURON DIVERSITY IN DISEASES

Vincent Mouilleau¹ et Yves Maury², Léa Lesueur¹, Julien Côme², Marc Peschanski¹, Cécile Martinat¹, Stéphane Nedelec¹

¹ISTEM, INSERM UMR 861, Genopole Campus 1, 5 rue Henri Desbruères, Evry

²ISTEM, CECS, Genopole Campus 1, 5 rue Henri Desbruères, Evry

Les maladies des motoneurones comme les amyotrophies spinales ou la maladie de Charcot sont actuellement incurables et souvent fatales. Bien qu'étant toutes caractérisées par une atteinte des motoneurones, ces différentes maladies présentent des symptômes hétérogènes provoqués par l'atteinte sélective de certains groupes de motoneurones alors que d'autres sont préservés. Les causes de cette sensibilité différentielle sont actuellement inconnues. Il est donc essentiel de comprendre comment, chez l'homme, les identités des différentes catégories de motoneurones sont spécifiées au cours du développement puis maintenues, et comment des mutations génétiques ou des facteurs environnementaux perturbent spécifiquement certaines identités et en préservent d'autres. La différenciation ciblée des cellules souches pluripotentes humaines (cellules souches embryonnaires et cellules souches induites à la pluripotence (iPS)) représente une opportunité unique d'aborder ces questions. Cependant, la conversion de ces cellules en motoneurones, encore plus en sous-types de motoneurones, restait jusqu'à récemment relativement inefficace empêchant la mise en place de telles études.

Nous avons récemment développé la première approche haut débit permettant de tester de manière systématique comment des combinaisons de facteurs développementaux contrôlent la différenciation des cellules souches pluripotentes humaines. Ceci nous a permis de développer les procédures les plus efficaces à l'heure actuelle pour spécifier plusieurs catégories de neurones humains fonctionnels et, plus particulièrement, plusieurs types de motoneurones spinaux ou crâniens. Ces approches nous permettent maintenant de disséquer les mécanismes moléculaires gouvernant la diversification des motoneurones au cours du développement et de déterminer les conditions optimales de différenciation des cellules pluripotentes humaines en sous types de motoneurones afin d'aborder les bases de leur sensibilité différentielle dans l'amyotrophie spinale proximale.

Mots-clefs : Cellules souches pluripotentes humaines, diversité des motoneurones, différenciation neuronale

Session 4 : Imagerie, Pistes thérapeutiques, Etudes cliniques, et Epidémiologie

LES OLIGONUCLÉOTIDES ANTI-SENS DANS LE TRAITEMENT DE LA SLA

Pr William Camu

Clinique du motoneurone, Explorations Neurologiques, Hôpital Gui de Chauliac- CHU de Montpellier -Montpellier

La cause de la SLA n'est pas connue et son traitement reste décevant. Ces dernières années de nombreux candidats moléculaires soit pouvant mener à la neurodégénérescence directement ou indirectement, soit jouant un rôle neuroprotecteur ont été décrits. Parmi les principaux et les premiers d'entre eux, il faut citer les gènes soit causaux (C9ORF 72, SOD1, FUS, TARDBP etc.) soit jouant un rôle de susceptibilité à la maladie, comme SMN par exemple. Les recherches ont indiqué, dans les cas familiaux, que les mutations, qui pour la plupart se transmettent selon un mode autosomique dominant, étaient responsables d'un gain de fonction. Ce gain de fonction est sous tendu par l'acquisition de métabolites toxiques qui jouent un rôle souvent déterminant dans la mort neuronale.

Les oligonucléotides antisens (ONAS) sont des fragments d'ADN qui bloquent la transcription et ainsi permettent d'empêcher une mutation donnée d'avoir son effet toxique. L'ONAS peut aussi être purement bloqueur d'une protéine normale, telle que SOD1, dont le rôle supra physiologiquement toxique a été suspecté dans plusieurs travaux.

Dans les modèles animaux de la SLA, l'utilisation des ONAS donne des résultats très prometteurs, permettant même parfois de "gommer" les stigmates d'action toxique dans la cellule *in vitro*. L'effet sur l'animal est au rendez-vous, bien que non toujours très marqué, mais ceci souligne la limite de ces modèles.

Un premier travail chez l'homme a été publié en 2013 (Miller et al) qui a jeté les bases d'une phase II qui, après de longues négociations, va pouvoir donner le jour à une phase II. Les auteurs ont traité des patients porteurs d'une mutation SOD1 avec un ONAS anti SOD1. Ces molécules ne passant pas la barrière, les patients doivent être équipés d'une pompe permettant la délivrance intrathécale de l'ONAS. L'étude a montré non seulement la faisabilité de l'approche mais aussi son inocuité. Elle ne permettait en rien de montrer un effet, rôle de la phase II à venir.

Bien que focalisée sur les cas familiaux, il se peut que l'approche bénéficie aussi aux formes sporadiques si l'hypothèse de la toxicité de la SOD1 normale, une fois la dégénérescence des motoneurons débutée, se confirme. Au delà, se sont d'autres études qui sont envisagées, en particulier avec C9ORF72, dont les modèles *in vitro* ont montré l'importance de l'effet des ONAS pour agir sur les stigmates de mort cellulaire.

Si les obstacles réglementaires ne sont pas trop longs à passer, un paradoxe actuel très problématique, on peut dire que la SLA est passée dans l'ère thérapeutique de façon résolue pour les 10 ans à venir.

Session 4 : Imagerie, Pistes thérapeutiques, Etudes cliniques, et Epidémiologie

EFFICACY, ACTIVITY AND SAFETY OF LOW-DOSE IL-2 (LD-IL-2) AS A TREG ENHANCER FOR ANTI-NEUROINFLAMMATORY THERAPY IN NEWLY DIAGNOSED ALS PATIENTS (MIROCALS : MODIFYING IMMUNE RESPONSE AND OUTCOMES IN ALS)

The MIROCALS Consortium: Gilbert Bensimon¹, P Nigel Leigh², Florence Chung³, Nuala Murphy⁴, Safaa Saker⁵, Cecilia Garlanda⁶, Massimo Locati⁶, Henrik Zetterberg⁷, Pamela Shaw⁸, Janine Kirby⁸, Ammar Al-Chalabi⁹, Timothy Tree¹⁰, Andrea Malaspina¹¹, Brian Dickie¹²

¹ BESPIM, Nîmes University Hospital, Nîmes, & Dept of Clinical Pharmacology, Pitié-Salpêtrière University Hospital, UPMC Université Paris VI & Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France.

² Neurology Department, Brighton and Sussex Medical School, Trafford Centre for Medical Research, University of Sussex, Brighton, East Sussex, UK.

³ Inserm-Transfert, Paris, France.

⁴ ICON Clinical Research, Dublin, Ireland.

⁵ DNA and Cell Bank, Genethon, France.

⁶ Humanitas Clinical Research Center, Rozzano, Italy.

⁷ Clinical Neurochemistry Laboratory, Institute of Neuroscience and Physiology, Sahlgrenska Academy at University of Gothenburg, Sahlgrenska University Hospital, Mölndal, SE-431 80 Mölndal, Sweden.

⁸ Sheffield Institute for Translational Neuroscience, Department of Neuroscience, University of Sheffield, 385A Glossop Road, Sheffield, S10 2HQ, UK.

⁹ Department of Basic and Clinical Neuroscience, Institute of Psychiatry, Psychology and Neuroscience, King's College London, London SE5 8AF, UK.

¹⁰ Department of Immunobiology, King's College London, Guy's Hospital, London SE1 9RT, UK

¹¹ Neuroscience and Trauma Centre, Institute of Cell and Molecular Medicine, Neuroimmunology Department, Barts and the London School of Medicine and Dentistry, London, E1 2AT, UK.

¹² The Motor Neuron Disease Association (MNDAs) – UK

Background. Much attention has focused on neuroinflammation in Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) as a possible target for therapy, although until now, such therapeutic attempt has proven unsuccessful. The recent discovery of regulatory T cells (Tregs) as key players in controlling immuno-inflammatory processes has shed new light on these failures. Low-dose interleukin-2 (ld IL-2) was shown to safely and specifically increase and activate Tregs, resulting in significant clinical improvements in several autoimmune disorders. Recently, defective Treg function was convincingly shown to be involved in ALS pathogenesis, and Treg number and activity prospectively shown to predict rate of disease progression and survival with a three fold increase in risk of death associated with the “low-Tregs” group; Interestingly, the difference in Treg number/ or function between fast and slow progressing groups was of the same magnitude as Treg changes achieved by ld IL-2 therapy. Thus, ld IL-2 has the potential to become the long awaited therapeutic breakthrough in ALS.

Objectives. The “Modifying Immune Response and Outcomes in ALS” project (MIROCALS) will test in a proof-of concept / proof of mechanism (PoC/ PoM) study the hypotheses that (i) ld IL-2-induced increase in Tregs results in decreased rate of neuronal damage in ALS patients, as measured by early change in CSF neurofilament levels, which (ii) is predictive of long-term clinical efficacy as assessed by survival over an 18 months treatment period.

Trial design. This will be a double-blind, randomized, stratified (by countries and site of onset) placebo-controlled, parallel group, study of low dose IL-2 (aldesleukin, Novartis) at 2 MIU/ days for 5 days every 4 weeks during 18 months, in newly diagnosed patient prior to riluzole treatment initiation. The study is preceded by a three month run-in period to establish safety and stability of the riluzole treatment. The primary end-points is long-term survival over an 18- month treatment period. The secondary end-points include long-term safety of Id IL-2 therapy over 18 months of treatment, efficacy on functional decline (ALSFRS, Vital Capacity), chemokine markers for immuno-inflammation (CSF and blood), immuno-cytometry (blood)), and CSF and blood NF levels. Ancillary studies will include investigation of new biomolecular targets for drug intervention through genomics and transcriptomics profiling of Id IL-2 responder/non-responder patients. Overall 216 patients will be randomised with 108 patients per group to achieve a power >0.80 , at $\alpha(2\text{-sided})= 0.05$, to detect at 18 months an absolute difference in death rate of 17 % (placebo expected survival: 0.65 vs 0.82 in Id IL-2 group).

Expected patient or public health benefit. The effect size used for power calculations is based on solid evidence of Id IL-2 activity on Tregs, and a prospective demonstration of a strong relationship between Tregs deficit and rate of ALS progression. Due to poor knowledge of ALS pathogenesis and lack of predictive preclinical models, drug trials in ALS are pursuing two objectives, (i) testing clinical efficacy, and (ii) testing the hypothesis justifying drug assessment. However, in “standard” trials, there is no means to know whether drug failure is due to a wrong hypothesis, or poor drug activity on targeted pathways, or ineffective doses. By including in the design biomarkers quantifying both pharmacodynamic and disease activity responses to the drug, and by testing their surrogacy on the hard clinical end-point survival, we expect to achieve a high level of evidence on Id IL-2 clinical efficacy. Together with high GCPs / GCLPs quality settings, this study should provide optimal Regulatory acceptance of the results. In addition, this design will determine the strength of evidence of the pathogenic hypothesis being tested, while omics approaches will provide deep understanding of the drug effects, pathways involved, and their interactions with disease processes, eventually paving the way for new drug developments and further therapeutic progress. The MIROCALS study should becomes a milestone in ALS drug development, setting new study standards that will improve trials’ cost effectiveness, and ultimately overall rate of therapeutic progress for the benefit of the ALS population.

Key words: *ALS clinical trial, low-dose IL-2, neuro-inflammation*

Session 4 : Imagerie, Pistes thérapeutiques, Etudes cliniques, et Epidémiologie

ASSESSMENT OF PREDICTIVE FACTORS FOR DISEASE PROGRESSION IN ALS.

A PREDICTIVE APPROACH TO FACILITATE THE SELECTION OF PATIENTS FOR THERAPEUTIC TRIALS PULSE

*David. Devos¹, Claude Desnuelle², Philippe Corcia³, Pierre-François Pradat⁴, Lucette Lacomblez⁴, T Lenglet⁴, Jean-Philippe Camdessanché⁵, Shahram Attarian⁶, Aurélie Funkiewiez-Guignebert⁴, Marie-Odile Habert⁴, François Salachas⁴, Philippe Couratier⁷ and the PULSE study group **

¹ Service de Pharmacologie Médicale INSERM U1171 Faculté de Médecine de Lille, Centre SLA, CHRU de Lille, Université de Lille

² Service de Neurologie, Centre SLA, CHRU de Nice, Université de Nice

³ Service de Neurologie, Centre SLA, CHRU de Tour, Université de Tour

⁴ Service de Neurologie, Centre SLA, AP-HP Paris, Université

⁵ Service de Neurologie, Centre SLA, St Etienne, Université de St Etienne

⁶ Service de Neurologie, Centre SLA, Marseille, Université Marseille

⁷ Service de Neurologie, Centre SLA, Limoge, Université de Limoges

*** Comité de pilotage :**

D. Devos, C. Desnuelle, P Couratier, P Corcia, F. Salachas, PF Pradat, L. Lacomblez, T Lenglet, JP Camdessanché, S Attarian, A Funkiewiez-Guignebert, M.O Habert

Study group :

C. Desnuelle (Nice), MH Soriani (Nice), S Sacconi (Nice), Puma (Nice), P Couratier (Limoge), G Lautrette (Limoge), P Corcia (Tour), H Blasco (Tour), F. Salachas (Paris), PF Pradat (Paris), L. Lacomblez (Paris), T Lenglet (Paris), JP Camdessanché (St Etienne), JC Antoine (Saint Etienne), S Attarian (Marseille), A Verschuere (Marseille), J Pouget (Marseille), A Funkiewiez-Guignebert (Paris), M.O Habert (Paris), V Danel-Brunaud (Lille), D. Devos, (Lille), C. Delmaire (Lille), D Deplanque (Lille) A. Duhamel (Lille), P Gelé (Lille), A Destée (Lille), L Defebvre (Lille), C Moreau (Lille), T Pérez (Lille), D Maugin (Angers), G Le Masson (Bordeaux), AC Wielanek (Bordeaux), S. Genestet (Brest), C Gut-Gobert (Brest), F Viader (Caen), L Carlier (Caen), O Etard (Caen), S Schaeffer (Caen), G Fromager (Caen), P Mouton (Caen), N Guy (Clermont Ferrand), M Giroud (Dijon), K Beauvais (Dijon), E Bernard (Lyon), C Vial (Lyon), E Broussolle (Lyon), W Camu (Montpellier), R Juntas-Morales (Montpellier), S Pittion-Vouyovitch (Nancy), Y Kolev (Briec), C Tranchant (Strasbourg), MC Fleury (Strasbourg), JB Chanson (Strasbourg), P Cintas (Toulouse), Arne Bes (Toulouse).

Il n'existe actuellement aucun traitement qui soit en mesure de réduire considérablement la progression de la sclérose latérale amyotrophique (SLA). Cela est probablement lié au fait que la SLA n'est pas une maladie unique mais un ensemble de maladies avec différents mécanismes étiopathogénétiques et physiopathologiques. Cette hétérogénéité est un frein dans la recherche thérapeutique par l'inclusion de populations très variables et l'utilisation de critères d'évaluation trop généraux et peu sensibles. Ces décennies d'échecs thérapeutiques recommandent un changement. Il apparaît nécessaire de caractériser les sous groupes de patients (« taxonomie des endophénotypes ») et de suivre leur profil évolutif afin d'établir une valeur pronostic aux paramètres recueillis. Les nouvelles séquences d'imagerie (moelle épinière), les nouvelles techniques électrophysiologiques (MUNIX, triple stimulation), l'évaluation cognitive (troubles frontaux), le TEP scan, les récents biomarqueurs histologiques et biologiques pourraient être déterminant dans le pronostic. Il apparaît donc essentiel de mettre en place une étude multimodale sur une très large cohorte de patients suivie de manière prospective et harmonisée sur l'ensemble des centres SLA français, depuis les premiers signes jusqu'au décès.

L'objectif primaire est d'établir des facteurs pronostic de la survie sans évènement (décès, comorbidités, prise en charge invasive) à partir de paramètres cliniques, neurophysiologiques, biologiques, histologique et d'imagerie à partir d'une cohorte prospective de 1000 patients ayant une SLA. La participation de témoins sains (n=100) et témoins neurologiques (n=100) pour contextualiser les anomalies sera proposée.

PULSE est déjà enregistrée (Protocol ID 2012-50; ClinicalTrials.gov: NCT02360891). PULSE pourrait établir les critères pronostiques et les différent endophénotypes, ainsi qu'identifier les mécanismes délétères de progression afin d'orienter la sélection des patients pour les futurs essais thérapeutiques. PULSE pourra fournir la possibilité de vérifier les hypothèses scientifiques précliniques (étant donné la mauvaise valeur prédictive actuelle des modèles précliniques) afin d'amener de nouvelles stratégies thérapeutiques. PULSE pourra renforcer l'harmonisation et la promotion d'un réseau français de recherche sur la SLA avec des collaborations européennes et internationales. En fait, PULSE a déjà débuté l'harmonisation des examens paracliniques avec des sessions d'entraînement et les inclusions. PULSE est déjà associé à des projets européens comme ceux du Professeur Van Den Berg (SOPHIA, NEUROMOTOR, and MINE).

Mots-clefs : Pronostic, Taxonomie des of endophénotypes, Traitement ciblé

Session 4 : Imagerie, Pistes thérapeutiques, Etudes cliniques, et Epidémiologie

IMPACT D'UNE SUPPLÉMENTATION ALIMENTAIRE PRÉCOCE PAR VOIE ORALE SUR L'ÉTAT FONCTIONNEL DE PATIENTS ATTEINTS DE SCLÉROSE LATÉRALE AMYOTROPHIQUE ETUDE NUTRALS

*Philippe COURATIER¹², Pierre JESUS²³, Philippe FAYEMENDY³, Benoit MARIN², Géraldine LAUTRETTE¹,
Dorothée FRUIT⁴, Marie NICOL¹², Jean-Claude DESPORT²³, au nom de la Filière des centres SLA*

1 CHU Limoges, Service de Neurologie, F-87000 Limoges, France.

2 INSERM, U1094, Neuroépidémiologie Tropicale, F-87000 Limoges, France.

3 CHU Limoges, Service d'hépatogastro-entérologie, F-87000 Limoges, France.

4 CHU Limoges, CIC-ARCH, F-87000 Limoges, France

Contexte

Les patients atteints de Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) peuvent développer une altération de l'état nutritionnel et/ou un hypermétabolisme entraînant une augmentation de la perte de poids. Des études précédentes ont démontré i) qu'une dénutrition est un facteur de mauvais pronostic de la survie (1), ii) qu'une perte de poids de 5% au diagnostic multiplie par 2 le risque de décès (2) et iii) que des niveaux élevés de cholestérolémie totale et de triglycéridémie sont des facteurs de bon pronostic (3,4). Le but de notre étude multicentrique, randomisée, est d'évaluer si la prescription précoce, dans les 4 mois suivant l'annonce du diagnostic, de compléments nutritionnels oraux (CNO) peut modifier la pente évolutive de la dégradation fonctionnelle motrice à 6 mois.

Objectifs

Evaluer les bénéfices d'une supplémentation alimentaire orale précoce sur l'état fonctionnel neurologique, mesuré par l'échelle ALSFRS-R entre l'inclusion (T0) et T+6 mois chez les patients nouvellement diagnostiqués.

Méthodes

16 centres SLA Français se sont engagés à inclure 310 patients atteints de SLA sur une période de 18 mois. Les patients doivent être diagnostiqués depuis moins de 4 mois selon les critères d'Airlie House : certain, probable ou probable sur des examens paracliniques. La durée entre les premiers symptômes et le diagnostic doit être inférieure à 18 mois et le patient doit avoir perdu au moins 1 point dans au moins 3 items de l'échelle ALSFRS-R ou au moins 2 points dans au moins 2 items de l'échelle ALSFRS-R. Les patients ne prenant pas le traitement par Riluzole et les patients prenant des CNO entre le diagnostic et l'inclusion ne peuvent être inclus dans l'étude. La durée de participation pour chaque patient est de 6 mois, avec 3 visites (T0 ; T+3 mois et T+6 mois) pour évaluer le statut fonctionnel, le statut nutritionnel, le statut lipidique sanguin, le statut respiratoire, le statut neurologique, la qualité de vie, le niveau d'anxiété et de dépression, la survie des patients, la tolérance et la compliance des prises de CNO.

Résultats

Toutes les mises en place des 16 centres Investigateurs ont été réalisées entre juillet 2014 et janvier 2015. Nous sommes loin des objectifs d'inclusions fixés puisque nous aurions dû inclure 138 patients et seulement 36 patients sont inclus au 31 mai 2015. Le premier rapport annuel de sécurité montre que l'étude NUTRALS n'entraîne pas de modification du rapport bénéfice/risque.

Références

- 1) Desport JC et al., *Neurology* 1999
- 2) Marin B et al., *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011
- 3) Dupuis L et al., *Neurology* 2008
- 4) Dost J et al., *J Neurol* 2011

Mots-Clefs : Etude multicentrique, Etat nutritionnel, ALSFRS-R

Session 4 : Imagerie, Pistes thérapeutiques, Etudes cliniques, et Epidémiologie

PREMIERS RÉSULTATS DU PROJET BMAALS – INVESTIGATION DU LIEN, EN FRANCE, ENTRE LA CYANOTOXINE L-BMAA ET L'INCIDENCE DE LA SCLÉROSE LATÉRALE AMYOTROPHIQUE

*Benoît Marin*¹²³, *Farid Boumediene*¹², *Vincent BONNETERRE*⁴, *Emmeline LAGRANGE*⁵, *Gérard BESSON*⁵, *William CAMU*⁶, *Nicolas PAGEOT*⁶, *Raul JUNTAS-MORALES*⁶, *Pierre Marie PREUX*¹²³, *Philippe COURATIER*¹²⁷ et
Groupe BMAALS

¹ INSERM, U1094, Neuroépidémiologie Tropicale, F-87000 Limoges, France.

² Univ. Limoges, UMR_S 1094, Neuroépidémiologie Tropicale, Institut d'Epidémiologie Neurologique et de Neurologie Tropicale, CNRS FR 3503 GEIST, F-87000 Limoges, France

³ CHU Limoges, Centre d'Epidémiologie, de Biostatistique et de Méthodologie de la Recherche, F-87000 Limoges, France.

⁴ UMR 5525, Environnement et Prédiction de la Santé des Populations - Laboratoire TIMC, F-38100 Grenoble, France.

⁵ CHU Grenoble, Service de Neurologie, F-38100 Grenoble, France.

⁶ CHU Montpellier, Service de Neurologie, Centre exter SLA, F-34000 Montpellier, France.

⁷ CHU Limoges, Service de Neurologie, F-87000 Limoges, France.

Groupe BMAALS: UMR Inserm 1094 NET, ENSCP, UMR CNRS 6042 GEOLAB, ESPCI, EPSP-TIMC (UJF Grenoble/CNRS), Centre SLA Montpellier

Contexte

L'étude BMAALS a pour objectif principal d'améliorer les connaissances scientifiques concernant le lien possible entre la survenue de la Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) et la cyanotoxine L-BMAA. Nous rapportons ici les résultats des étapes neuro-épidémiologique et géo-épidémiologique de l'étude qui consistent à identifier tous les cas incidents de SLA dans les zones géographiques considérées et à réaliser la recherche de cas groupés dans l'espace (1, 2).

Objective

Identifier la présence d'éventuels cas groupés de SLA au sein de 9 départements Français (53 600 km²) représentant 4,6 million d'habitants suivis pendant 10 ans.

Méthodes

De multiples sources d'identification des cas ont été utilisées afin d'assurer une identification de tous les cas de SLA incidents sur la période 2003-2011 et diagnostiqués selon les critères de Airlie House. L'étude couvre les régions suivantes : Région Limousin (Départements de Corrèze, Creuse et Haute-Vienne), (ii) Région Rhône-Alpes (Isère, Savoie, Haute Savoie, Drôme, Ardèche); (iii) Région Languedoc Roussillon (Pyrénées Orientales, Hérault). Les sources de notification des cas étaient : (i) les centres SLA Français, (ii) les hôpitaux et cliniques des zones considérées, (iii) les caisses d'assurance maladie. L'incidence brute et standardisée sur la population Française et Européenne pour 100 000 personnes-années (PA) a été déterminée. Des méthodes précédemment utilisées (3) pour détecter la présence de cas groupés dans l'espace (clusters), ont été utilisées : Ratios d'incidence standardisés (SIR), I de Moran et statistique de Kulldorf.

Résultats

Entre Janvier 2003 et Décembre 2011, 1199 patients ont été diagnostiqués atteints de SLA probable, probable sur la base d'éléments paraclinique et certaine dans la zone d'étude. L'incidence brute de SLA était de 2.55/100 000 PA [IC95% 2.40–2.69]. 23 communes Françaises présentaient un SIR significativement différent de 1 et 14 zones de cas groupés ont été identifiées.

Discussion et Conclusion

Nous rapportons ici la plus large investigation épidémiologique de l'incidence de SLA à l'échelle Française en utilisant une méthodologie appropriée. Nous avons basé nos calculs d'incidence sur une zone couvrant plus de 4,6 millions d'habitants. Les 14 clusters identifiés seront investigués concernant leur lien éventuel avec la L-BMAA au cours des phases suivantes du projet BMAALS.

Références :

- 1) Delzor A, Couratier P, Boumédiène F, Nicol M, Druet-Cabanac M, Paraf F, Méjean A, Ploux O, Leleu JP, Briant L, Lengronne M, Pichon V, Combès A, El Abdellaoui S, Bonneterre V, Lagrange E, Besson G, Bicout D, Boutonnat J, Camu Wu, Pageot N, Juntas-Morales R, Rigau V, Masseret E, Abadie E, Preux PM, Marin B. Searching for a link between the L-BMAA neurotoxin and Amyotrophic Lateral Sclerosis: study protocol of the French BMAALS program. *BMJ Open*. 2014 ; 4 : e005528
- 2) Delzor A, Marin B, Boumediene F, Preux PM, Couratier P; BMAALS Group. BMAALS: A French national project searching for a link between amyotrophic lateral sclerosis and the neurotoxic amino acid L-BMAA. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2013 Oct 8.
- 3) Boumédiene F, Druet-Cabanac M, Marin B, Preux PM, Allée P, Couratier P. Contribution of geolocalisation to neuroepidemiological studies: incidence of ALS and environmental factors in Limousin, France. *J Neurol Sci*. 2011;309:115-22.



L'initiative des 1ères JRSLA vient de la volonté commune de la Filière Santé Maladies Rares FILSLAN et de l'Association ARSLA d'optimiser les passerelles pour favoriser une recherche sur la SLA et les maladies du neurone moteur, transversale et collaborative. Ainsi nous avons réuni les experts nationaux reconnus, qu'ils soient fundamentalistes ou cliniciens.

Les organisateurs ont dans cette optique 2 objectifs pour ces Journées :

- Contribuer à l'émergence de nouveaux projets de recherche collaboratifs dans ce domaine, grâce à un enrichissement collectif, une meilleure connaissance mutuelle du travail et des outils de chacun, un partage des concepts et des points de vues,

- Améliorer la reconnaissance de ce thème de recherche au niveau national et une meilleure identification des communautés de chercheurs et de cliniciens-chercheurs qui s'y consacrent.

Nous remercions les orateurs qui ont accepté de coopérer au succès de ces Journées. Nous remercions les modérateurs et tous les participants dont nous attendons qu'ils contribuent largement par des discussions dynamiques et interactives à faire émerger de nouvelles pistes de travail porteuses d'espoir pour les malades.

Bonnes JRSLA à tous.

Pr. Claude Desnuelle

Coordonnateur de la FSMR FILSLAN

Marie Léon

Présidente de l'ARSLA



FILSLAN

Filière de Santé Maladies Rares
Sclérose Latérale Amyotrophique
et Maladies du Neurone Moteur

Organisation



Association pour la Recherche sur
la Sclérose Latérale Amyotrophique
et autres Maladies du Motoneurone

Filière Nationale de Santé SLA et Maladies du Neurone Moteur

Responsable National de Filière: C. Desnuelle

Chef de Projet FILSLAN : J. Cillario

Bureau FILSLAN: JP. Camdessanché, W. Camu, P. Cintas,
P. Corcia, P. Couratier, M. Dib, J. Pouget, F. Salachas, C. Vial

Comité Scientifique des JR1SLA:

JP. Camdessanché, W. Camu, P. Corcia, P. Couratier, C. Desnuelle, M. Dib, G. Le Masson, PF. Pradat

Association pour la Recherche sur la SLA et autres maladies du motoneurone

Présidente: M. Léon

Secrétaire générale : C. Tabuenca

Membres du CA impliqués dans l'organisation:
M. Dib, MF. Cazalère-Fouquin, J. d'Artigues

Informations pratiques :

Réservation sur : www.airfranceklm-globalmeetings.com

Code identifiant : 25130AF

Contact Organisation :

Stéphane JACQUET

Tél : 09 81 39 08 15

Mobile : 06 50 46 46 53

Site Internet Inscription : <http://reservation.handelse.com/>

Identifiant : FILSLAN Mot de passe : filslan1

FORMASANTÉ

Formation & Accompagnement

