



## 2. SESSION 2

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

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



**Giovanni STEVANIN**

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

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

Permettez-moi de commencer en parlant des formes dominantes.

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

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

## 2. COMMENT IDENTIFIER LES GÈNES RESPONSABLES DE MALADIES HÉRÉDITAIRES ?

Deux situations peuvent être rencontrées :

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

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

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

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

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

### 4. QUELS SONT LES DIFFÉRENTS TYPES D'ANOMALIES ?

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

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

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

Giovanni Stevanin

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

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

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

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

## 5. COMMENT ACCÉLÉRER L'IDENTIFICATION DES GÈNES ?

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

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

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

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

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

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

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

❖ Le concours des patients et de leur famille est essentiel. ❖

Giovanni Stevanin

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

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

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

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

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

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

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

## 8. ALTERNATIVE DE TRAITEMENT

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

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

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

## Échange avec la salle

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

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

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

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

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

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



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

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

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

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



# ➤ État des lieux des connaissances en génétique des formes récessives



**Cyril GOIZET**

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

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

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

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

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

## 2. COMMENT IDENTIFIER UNE MALADIE HÉRÉDITAIRE DU CERVELET ?

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

##### • La maladie de Friedreich

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

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

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

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

- **Ataxie spinocérébelleuse de début infantile (IOSCA)**

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

- **Neuropathie sensitive ataxiante avec dysarthrie et ophthalmoparésie (SANDO)**

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

- **Ataxie spastique récessive de Charlevoix-Saguenay (ARSACS)**

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

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

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

Cyril Goizet

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

##### • Abétalipoprotéïnémie (ABL)

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

##### • Maladie de Refsum

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

##### • Xanthomatose cérébro-tendineuse

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

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

Cyril Goizet

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

- **PHARC**

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

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

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

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

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

- **ARCA 1 et ARCA 10**

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



## 7. COMMENT DRESSER UN BILAN DE PREMIÈRE INTENTION ?

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

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

### Échange avec la salle

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

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

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

Cyril Goizet

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

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

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

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

#### ■ Alexandra DURR

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

#### ■ Cyril GOIZET

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

#### ■ Claudie BALEYDIER

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

### ■ Cyril GOIZET

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

---

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

---

### ■ Cyril GOIZET

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

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

---

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

---

En général oui, mais pas systématiquement.

### ■ Giovanni STEVANIN

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

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

Cyril Goizet

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



**Christelle TESSON**  
Étudiante préparant une thèse sur les ataxies cérébelleuses dominantes

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

## 1. COMMENT LOCALISER UNE MUTATION SUR UN CHROMOSOME ?

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

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

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

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

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

## 2. COMMENT IDENTIFIER LA MUTATION QUI CAUSE LA MALADIE ?

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

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

## 3. EN QUOI CONSISTE L'EXOME ?

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

Nous avons voulu utiliser cette technologie sur deux familles.

### • Clinique de la famille AAD-560

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

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

Christelle Tesson

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

Christelle Tesson

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

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

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

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

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

#### • Famille AAD-363

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

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

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

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

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

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

#### 4. QUELLES SONT LES PERSPECTIVES ?

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

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

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

## COMMUNIQUÉ DE PRESSE INSERM

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

02.10.2012

#### **Neurosciences, sciences cognitives, neurologie, psychiatrie**

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

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

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

Ces travaux sont publiés dans la revue *Annals of neurology* (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ana.23701/abstract;jsessionid=BC9161FDCF97BBF999BBE83C9418EA07.d03t01>)



## Échange avec la salle

### ■ Giovanni STEVANIN

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

### ■ Cyril GOIZET

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

### ■ Hervé TRICOIRE

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

### ■ Giovanni STEVANIN

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

---

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

---

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

Giovanni Stevanin

### ■ Giovanni STEVANIN

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

### ■ Alexandra DURR

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

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

### ■ Giovanni STEVANIN

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

### ■ Cyril GOIZET

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

### ■ Giovanni STEVANIN

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

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

### ■ Giovanni STEVANIN

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

---

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

---

### ■ Giovanni STEVANIN

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

### ■ Hubert BŒUF

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

### ■ Giovanni STEVANIN

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

⏪ ...nous risquons d'assister à une explosion des connaissances... ⏩

Giovanni Stevanin