

SYNDROME DE RETT

Thérapie génique de remplacement : vers un traitement plus sûr

Léna Bourcin

Étudiante en thèse (direction J.C. Roux & J.L. Gaiarsa)

Aix-Marseille université - INSERM, Equipe de Neurogénétique Humaine – MMG, Institut de Neurobiologie de la Méditerranée

Nos cellules abritent notre **patrimoine génétique dit ADN**. Chaque fragment permet la **fabrication de protéines**, indispensables au bon fonctionnement de nos organes. Parfois cet ADN présente des erreurs. Cela entraîne la production d'une protéine anormale et induit une pathologie. **La thérapie génique** repose sur **l'utilisation d'un gène comme médicament**. Il est possible de transporter ce gène médicament jusqu'aux cellules d'intérêts grâce à des virus rendus non pathogènes.

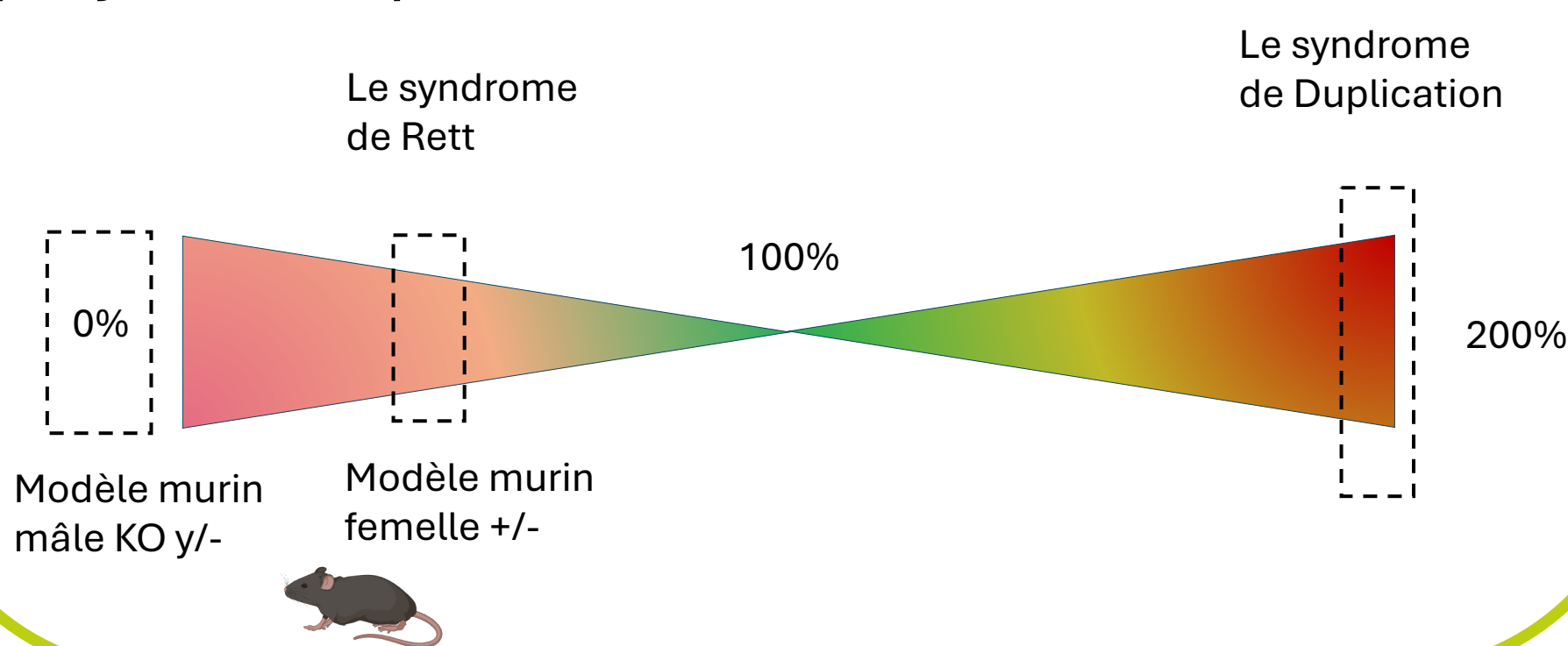
Les chiffres clés :

- ✓ ~ **40** essais cliniques pharmacologiques initiés dans les 10 dernière années
- ✓ **2** essais de thérapie génique en cours
- ✓ ~ **1000** publications scientifiques sur 10 ans

Les principaux obstacles rencontrés

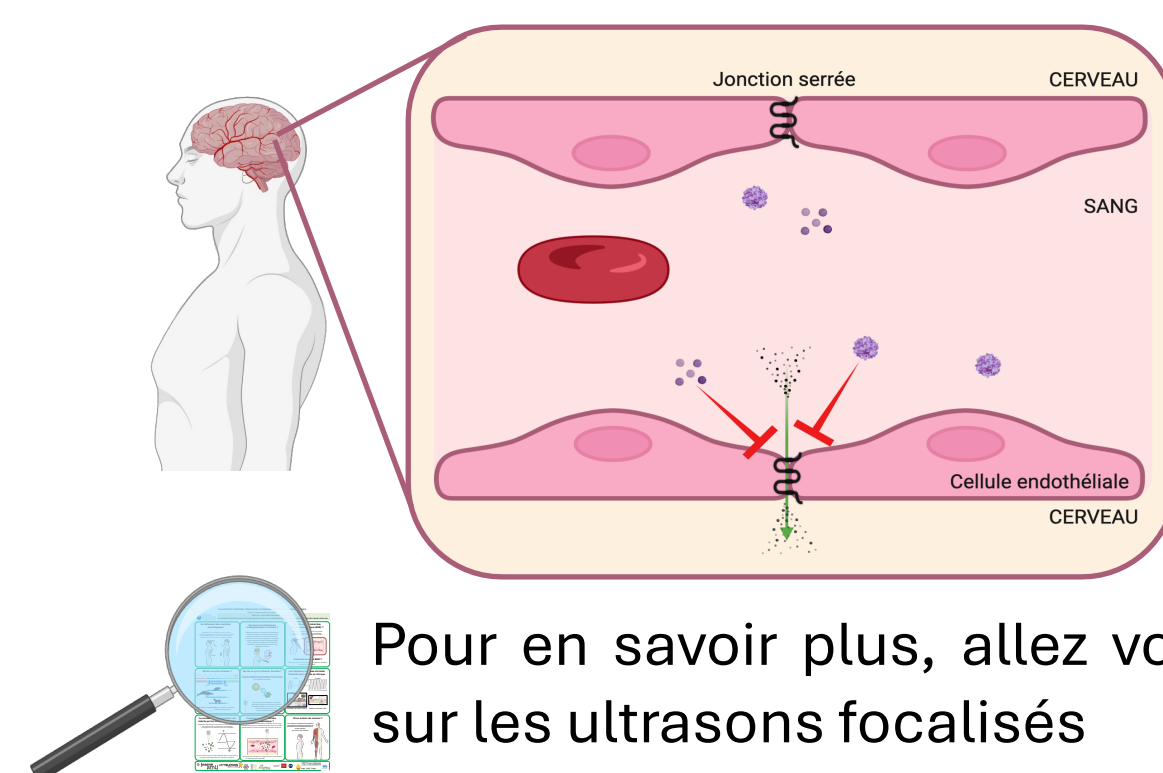
Le surdosage

Chez les patientes, environ 50% des cellules ne produisent pas la protéine Mecp2. La thérapie génique nous permet de combler le manque de la protéine Mecp2. Cependant, cette dose doit être finement régulée car le surdosage entraîne également une déficience intellectuelle et un polyhandicap sévère.



Accéder au cerveau

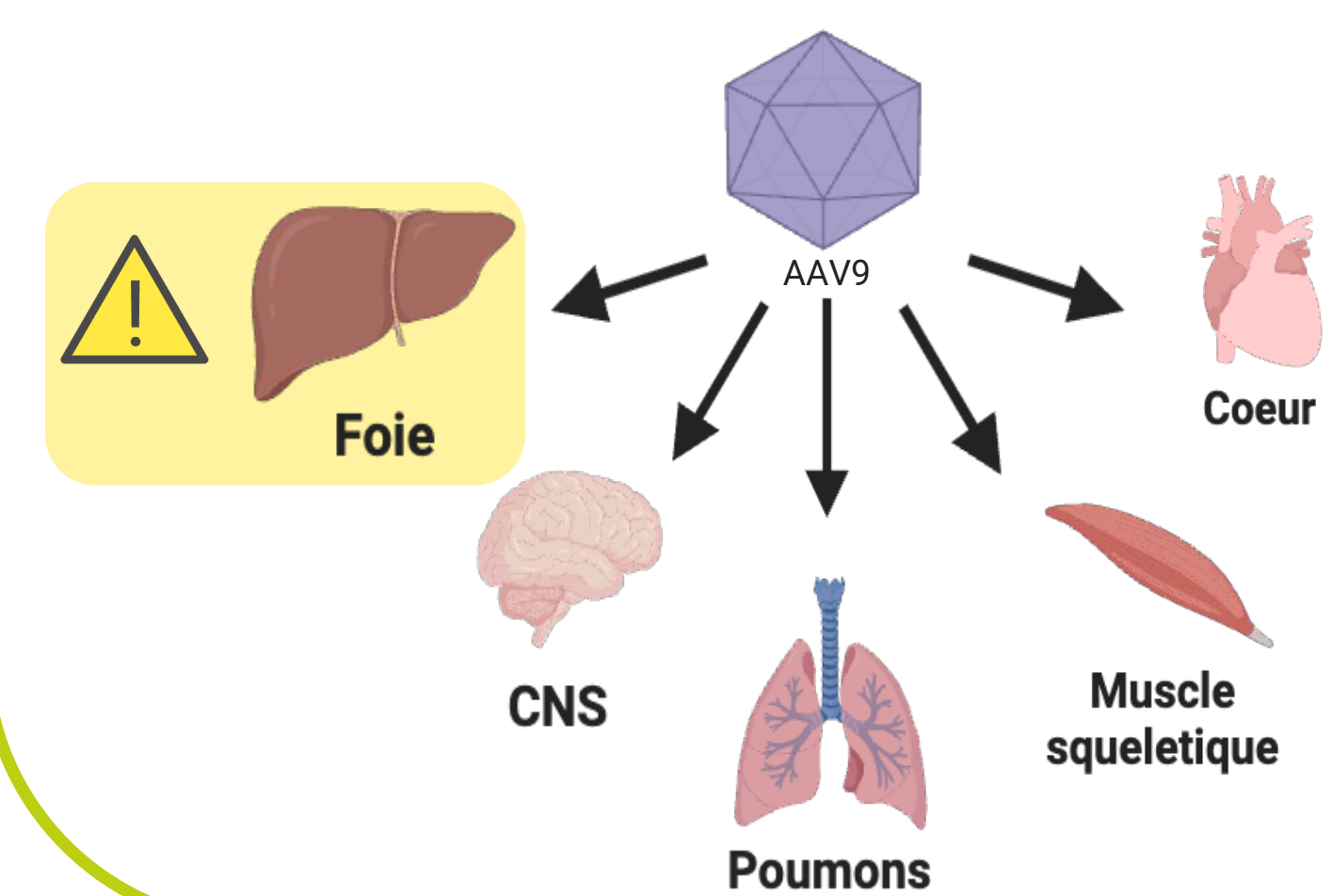
Les principaux symptômes sont liés au rôle important de Mecp2 dans le cerveau. Le cerveau est protégé par une barrière physique nommée barrière hémato-encéphalique (BHE). La majorité des médicaments délivrés de manière non invasive sont alors bloqués.



Pour en savoir plus, allez voir le poster sur les ultrasons focalisés

Cible trop large

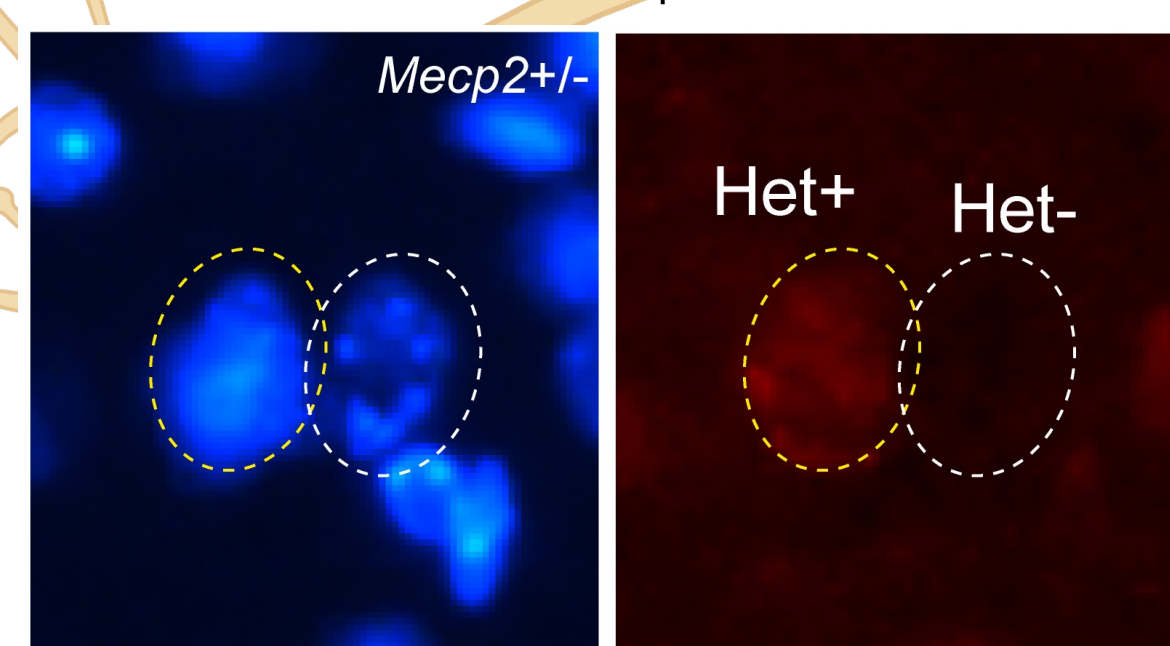
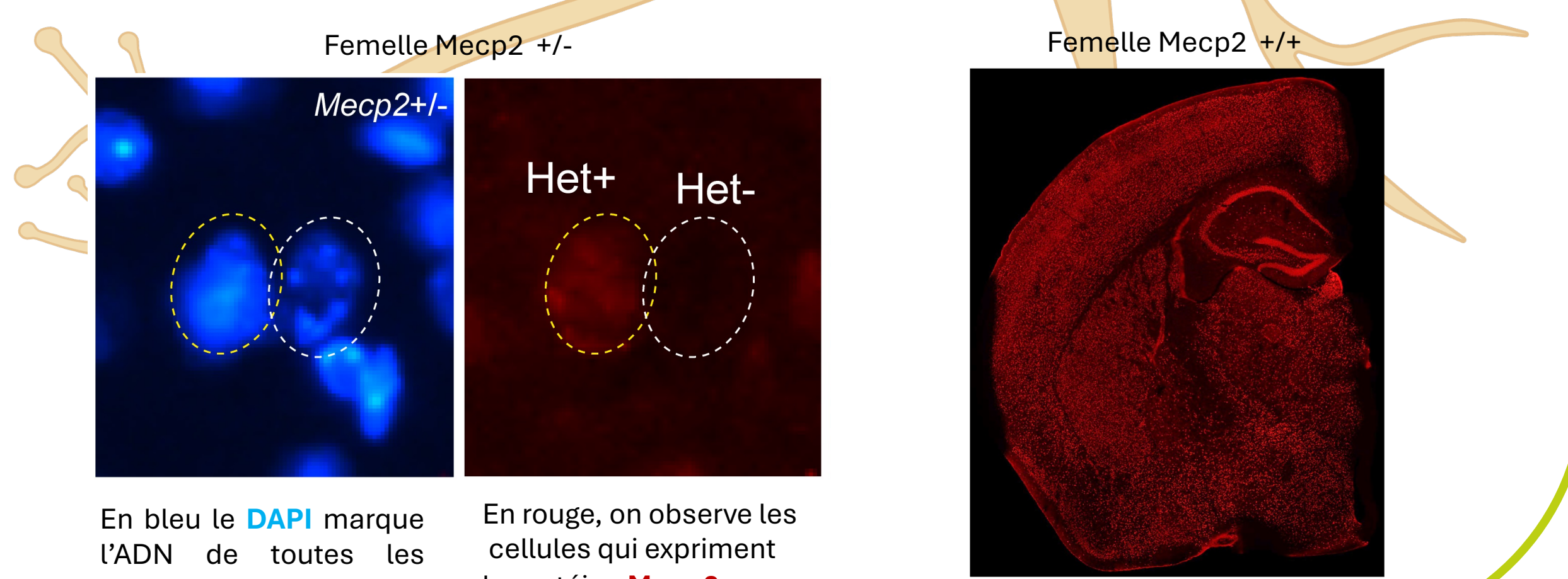
L'AAV9 est le véhicule le plus utilisé dans les essais pour les pathologies neuronales. Cependant, il a tendance à aller dans d'autres organes ce qui induit des effets secondaires.



Comment avons-nous choisi de répondre à ces obstacles ?

Contrôler la production de Mecp2

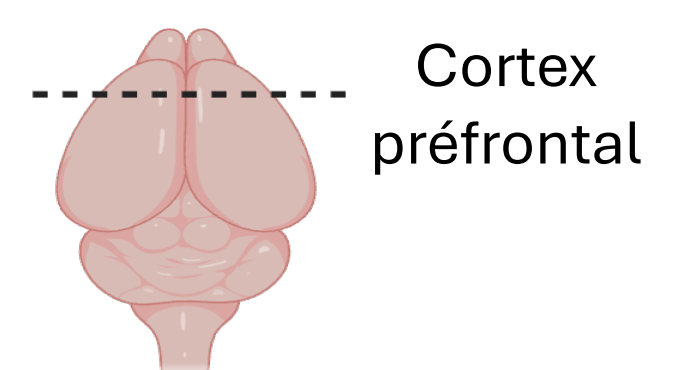
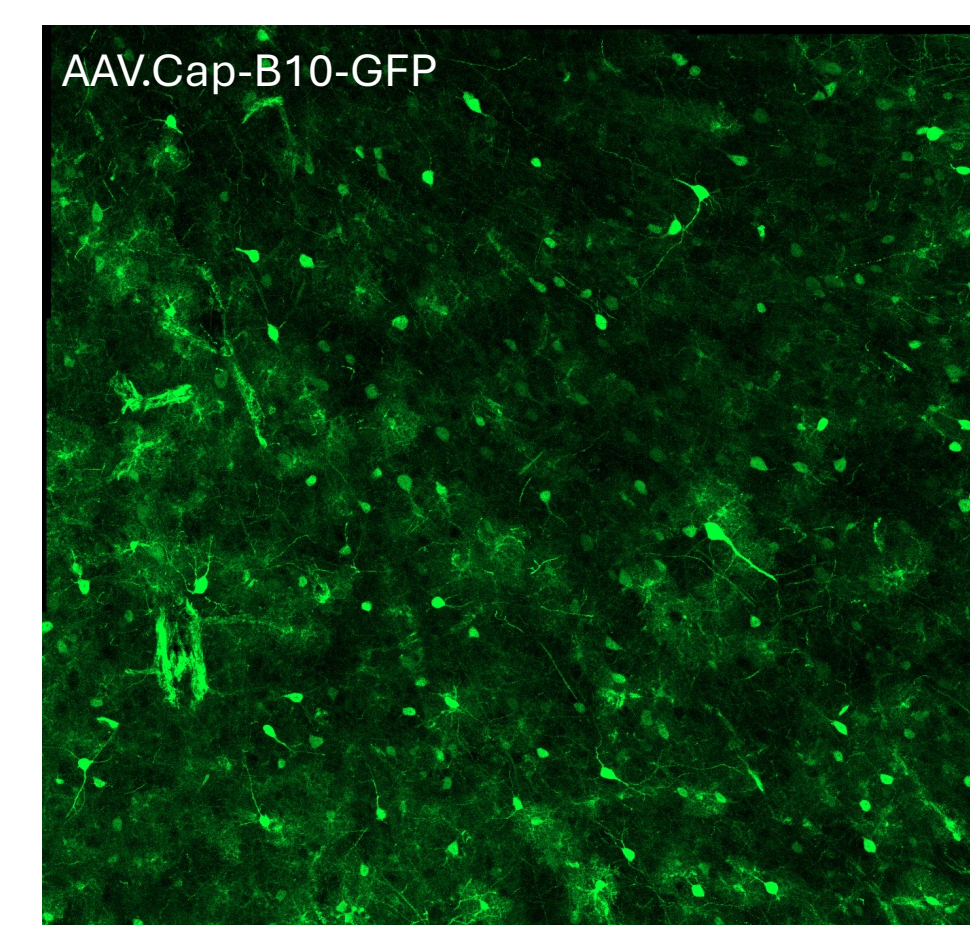
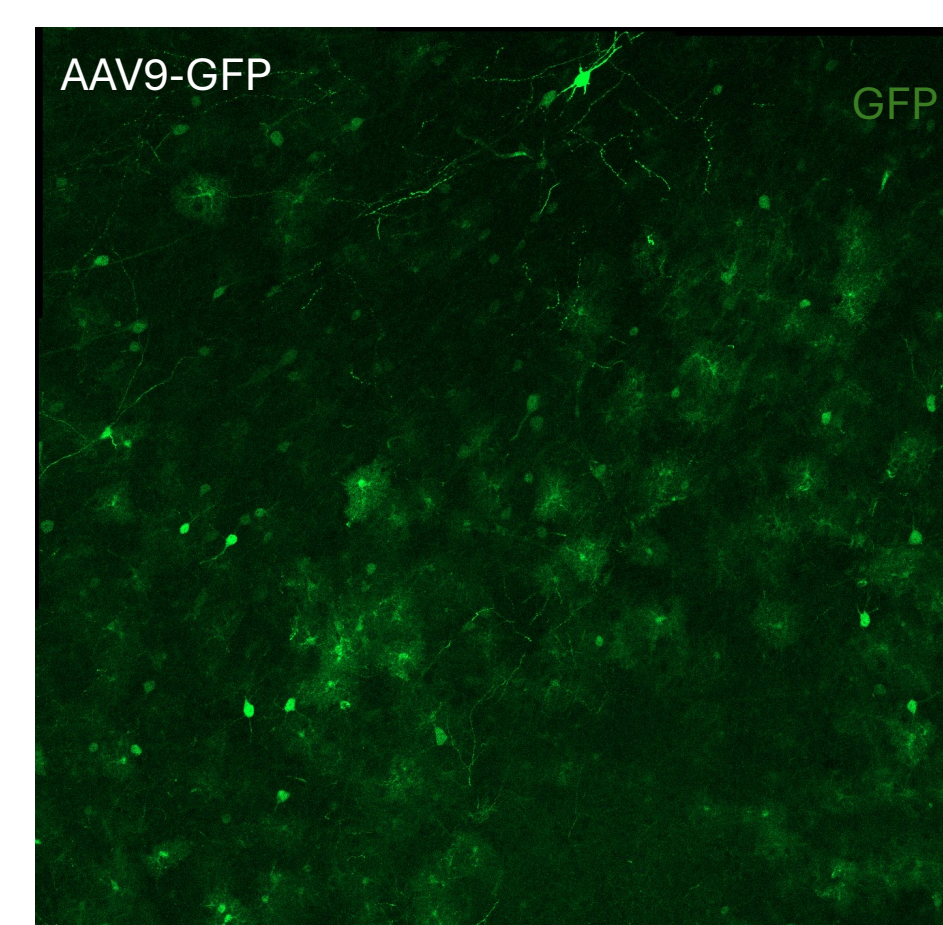
Mise en place d'un **système d'ARN interférent** pour « **réinitialiser** » les cellules infectées qui expriment déjà une quantité de Mecp2 normale. L'ARN est une étape intermédiaire dans le processus de production d'une protéine. En bloquant cette étape la protéine n'est pas produite. De cette manière, **seul le gène médicament** apporté par le virus **est exprimé et le surdosage est limité**. Cette méthode nécessite de travailler chez le modèle murin femelle hétérozygote (Mecp2 +/-).



En bleu le **DAPI** marque l'ADN de toutes les cellules

En rouge, on observe les cellules qui expriment la protéine **Mecp2**

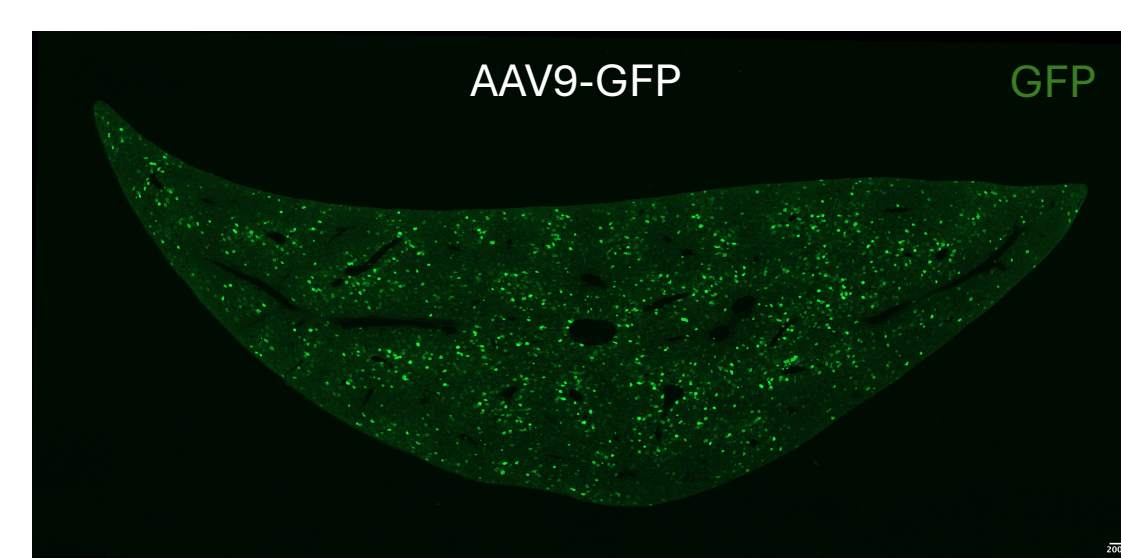
Un véhicule plus fiable : l'AAV.Cap-B10



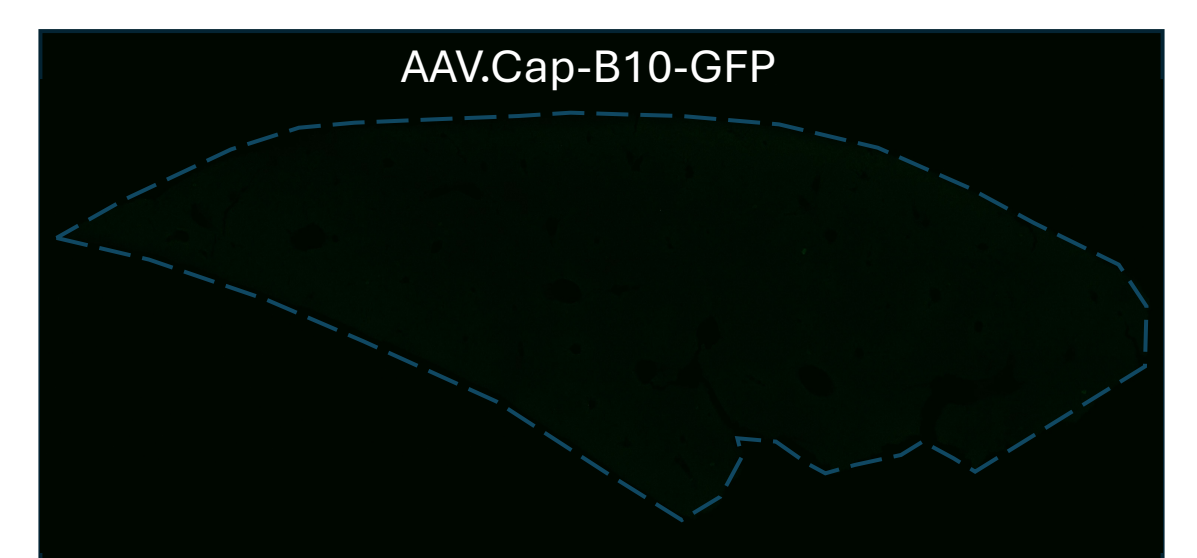
L'AAV.Cap-B10 est capable d'infecter les neurones autant que l'AAV9

Le foie est un organe critique car il a une tendance naturelle à capter une grande quantité d'AAV en drainant le sang. Le risque est d'induire une toxicité hépatique liée à la surexpression de Mecp2.

L'AAV.Cap-B10 a été conçu pour ne pas infecter le foie contrairement à l'AAV9.



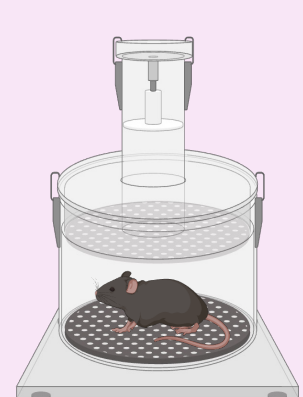
Foie



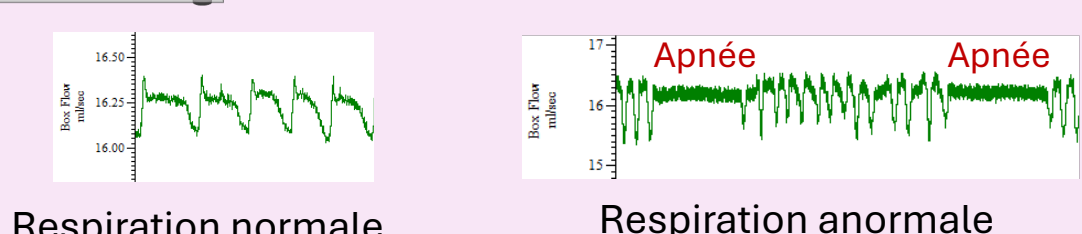
La souris Mecp2 +/- femelle : plus proche de la pathologie mais plus complexe

Caractérisation du modèle : À quel âge apparaissent les principaux symptômes ?

La respiration Pléthysmographie



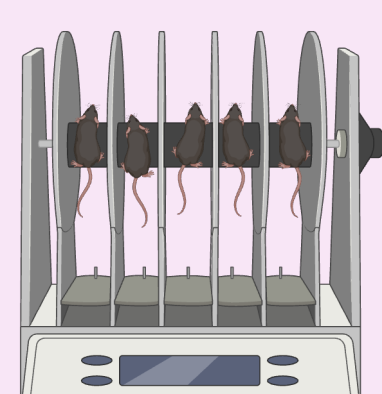
Nous mesurons les différences de pression dans la boîte, liées aux mouvements de la cage thoracique de la souris. Ainsi, on peut observer des anomalies comme les apnées.



Respiration normale

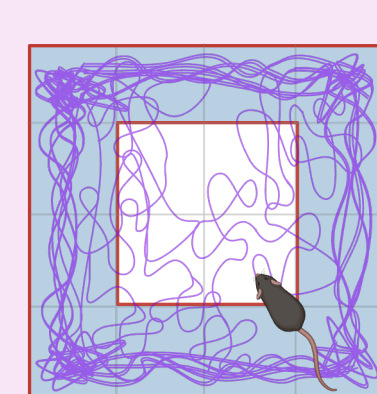
Respiration anormale

Coordination motrice Rotarod



À la façon d'un tapis de course, la vitesse de rotation augmente. Le temps pendant lequel la souris arrive à rester sur l'axe rotatif reflète la coordination motrice.

Locomotion générale Open Field



Une souris placée dans un nouvel environnement va naturellement l'explorer. Grâce au tracking vidéo nous pouvons notamment suivre la distance parcourue et la vitesse des souris.

Transit intestinal Micropipette-guided drug administration



À l'aide d'un colorant rouge naturel nous suivons la durée du transit intestinal des souris.

Traditionnellement, on a considéré que la pathologie apparaissait tardivement chez le modèle femelle Mecp2 +/-, c'est pourquoi il est moins utilisé en recherche en comparaison du modèle mâle KO. Cependant, de nombreux symptômes comportementaux sont détectables dès 40 à 50 jours après la naissance. Cette caractérisation plus fine du modèle permet une harmonisation des connaissances et ouvre la possibilité de commencer les tests thérapeutiques plus tôt, facilitant les études.