

Trois grands colloques ont été consacrés spécifiquement à la S.L.A. cette année:

- Le "Airlie House Workshop on therapeutic trials in A.L.S." qui s'est tenu du 29 avril au 1er mai,
- les 12<sup>èmes</sup> Journées Internationales de Pathologie Neuromusculaires, Marseille, 28 / 29 octobre,
- le 5<sup>ème</sup> Symposium International sur la S.L.A. / M.N.D., Noordwijk, Hollande, 7 / 9 novembre

## Données fondamentales

Différentes théories qui ne sont pas forcément exclusives font actuellement l'objet de recherches considérables.

### 1 - La théorie de l'excitotoxicité

Elle s'est trouvée récemment mise en avant par la publication, en mars, des premiers résultats sur l'effet possible du Riluzole qui est un composé chimique qui, probablement, agit sur le glutamate.

L'année dernière, nous avons décrit les bases de cette théorie, qui, schématiquement, tente d'expliquer l'atteinte progressive des motoneurones (impliqués dans la SLA) par l'action toxique d'un des composants essentiels (acide aminé excitateur) de la transmission synaptique (transmission entre deux cellules nerveuses) : le glutamate.

Depuis un an, des progrès importants ont été faits :

Les principales protéines qui permettent le transport du glutamate entre deux cellules nerveuses et leurs gènes ont été isolés. Le rôle et la localisation de ces transporteurs ont été précisés.

D'ores et déjà, le rôle probable de l'un de ces transporteurs dans la dégénérescence des motoneurones semble se confirmer.

D'autre part, on commence à mieux connaître les types de récepteurs cellulaires (protéines de la paroi cellulaire) sur lesquels le glutamate agit pour modifier le comportement de la cellule dite "cible".

L'hypothèse la plus solide actuellement semble être une anomalie d'une protéine de transport du glutamate (la GLAST) présente dans certaines cellules de soutien du système nerveux central, conduisant à une augmentation de la concentration en glutamate dans la fente synaptique et à une activité toxique de cet acide aminé sur les motoneurones.

Cette hypothèse semble trouver sa confirmation dans différents modèles cellulaires qui permettent maintenant l'étude non seulement des mécanismes d'action du glutamate mais aussi des substances pharmacologiques qui peuvent agir sur son activité toxique.

Les mécanismes cellulaires conduisant à la dégénérescence cellulaire font l'objet de très nombreuses études.

Les données les plus importantes semblent impliquer des altérations simultanées des transporteurs au glutamate et du métabolisme de l'oxygène. Comme nous le reverrons, ces anomalies du métabolisme de l'oxygène sont fortement soupçonnées depuis l'isolement, en 1993, d'une mutation d'une des enzymes de la chaîne de l'oxygène dans certaines formes familiales de SLA.

Par ailleurs, d'autres mécanismes cellulaires ont été isolés, notamment le rôle probable de certains canaux (protéines de la paroi des cellules permettant le passage dans certaines conditions d'ions comme le sodium ou le calcium). Parmi les ions responsables, le plus fréquemment mis en cause est le calcium.

D'autres travaux en cours étudient comment ces ions, lorsqu'ils pénètrent dans les cellules nerveuses, contribuent à les détruire et comment la cellule nerveuse est capable de réagir.

Enfin, les protéines permettant la transmission dans la cellule du signal induit par le calcium sont de mieux en mieux connues. Elles permettent d'agir comme de véritables "thermostats" internes à la cellule lors d'un signal induit par le glutamate et le calcium.

Ces protéines qui entraînent des phénomènes particuliers dits de phosphorylation (adjonction d'ions phosphates sur des composants cellulaires) sont importantes. En effet, on a montré et souligné la survenue précoce de phosphorylation anormales dans des constituants des motoneurones dès les stades les plus précoces de la maladie.

L'une de ces protéines, la Protéine Kinase C (PKC) jouerait un rôle majeur dans cette cascade d'événements (glutamate-calcium-PKC-phosphorylation) sans qu'il soit encore bien clair lequel de ces mécanismes est premier.

### 2 - Les anomalies du métabolisme de l'oxygène, le " stress oxydatif ".

Depuis la découverte d'une mutation du gène de la SuperOxyde Dismutase 1 (SOD1), de nombreux chercheurs ont tenté d'analyser comment ces anomalies pouvaient conduire à une dégénérescence spécifique des motoneurones.

Il est probable que les motoneurones ne disposent pas spontanément en quantité suffisante des enzymes (notamment de la S.O.D. 1) permettant le contrôle d'une agression par l'oxygène.

En effet, comme nous l'avions expliqué l'année dernière, l'oxygène peut avoir une action nocive sur les cellules dans certaines conditions. Par ailleurs, on a isolé le rôle très vraisemblable d'un de ces composés, l'Oxyde Nitrique (NO) sur les motoneurones.

Les relations entre l'activation anormale des récepteurs au glutamate et le NO sont actuellement en cours d'élucidation et pourraient unifier les hypothèses excitotoxiques et celle du "stress oxydatif".

### 3 - Les facteurs neurotrophiques.

Lors du développement normal du système nerveux, il se produit un phénomène de perte de neurones à la suite d'une hyperproduction.

Cette perte neuronale permet l'ajustement du nombre de neurones à sa valeur définitive. Elle peut être diminuée par des substances particulières : les facteurs trophiques.

En outre, certains de ces facteurs sont indispensables au maintien et à la survie des neurones chez l'adulte.

Un grand nombre de travaux suggèrent l'importance des facteurs de croissance dans le maintien de connexions normales entre les motoneurones dit périphériques (ceux qui sont situés dans la moelle épinière et qui vont innervier les muscles) et les motoneurones dit centraux (qui sont situés dans le cerveau moteur et permettent le contrôle du mouvement en agissant sur les motoneurones périphériques).

Dans la S.L.A., l'atteinte simultanée de ces deux types de motoneurones suggère un manque de facteurs trophiques.

Des études longues et très complexes tentent d'isoler ces facteurs spécifiques. D'ores et déjà, on a essayé d'analyser le rôle de certains facteurs de croissance sur la survie des motoneurones. Citons le Ciliary Neurotrophic Factor (C.N.T.F.), le Brain Derived Neurotrophic Factor (B.D.N.F.), l'Insuline Growth Factor (I.G.F.), les Neurotrophines 3-5 (N.T. 3-5).

D'autres facteurs de croissance sont en cours d'isolement et leur activité spécifique sur les motoneurones en cours d'analyse.

### 4 - Analyse génétique.

Nous avons déjà souligné l'importance des formes dites familiales de SLA dans la compréhension des mécanismes de la maladie. Toutefois, ces études sont extrêmement complexes et les résultats encore difficiles à systématiser.

La première mutation mise en évidence est celle de la S.O.D. 1, c'est à dire d'une enzyme permettant le contrôle du métabolisme de l'oxygène. On estime actuellement que cette mutation n'intéresse que 12% environ des formes familiales (qui elles représentent moins de 5% de la totalité des cas de S.L.A.). L'analyse de plus de 700 patients présentant des formes dites "sporadiques" de la maladie (formes dans lesquelles aucun caractère familial n'est retrouvé) n'a pas permis de mettre en évidence de mutations.

Ce qui veut dire qu'il n'y a pas de risque de mutation nouvelle dans les formes dites sporadiques. Il ne semble donc pas nécessaire de faire ce type de recherche génétique dans les familles de patients atteints de formes sporadiques.

Le mode d'action de cette mutation est sans doute très complexe : En effet, il ne semble pas qu'il y ait de relation entre cette mutation et une baisse d'activité de l'enzyme. Il ne semble même pas évident qu'il y ait de relation simple entre cette mutation et un stress oxydatif.

Cependant, dans des conditions expérimentales très difficiles, on a pu établir, d'ores et déjà, au moins quatre lignées de souris porteuses de cette mutation.

Ces modèles animaux, très difficiles à obtenir et à maintenir, ouvrent des perspectives passionnantes dans l'étude des mécanismes d'action de la mutation et, notamment, des conséquences de cette mutation sur les motoneurones.

D'autre part, ces souches de souris devraient permettre à court terme l'étude de substances pharmacologiquement actives dans la S.L.A., ce qui nous manquait cruellement jusqu'à ce jour.



Ci-dessus : vue d'ensemble du 5<sup>ème</sup> Symposium

Le rôle et la localisation de ces transporteurs ont été précisés.

D'ores et déjà, le rôle probable de l'un de ces transporteurs dans la dégénérescence des motoneurones semble se confirmer.

D'autre part, on commence à mieux connaître les types de récepteurs cellulaires (protéines de la paroi cellulaire) sur lesquels le glutamate agit pour modifier le comportement de la cellule dite "cible".

L'hypothèse la plus solide actuellement semble être une anomalie d'une protéine de transport du glutamate (la GLAST) présente dans certaines cellules de soutien du système nerveux central, conduisant à une augmentation de la concentration en glutamate dans la fente synaptique et à une activité toxique de cet acide aminé sur les motoneurones.

Cette hypothèse semble trouver sa confirmation dans différents modèles cellulaires qui permettent maintenant l'étude non seulement des mécanismes d'action du glutamate mais aussi des substances pharmacologiques qui peuvent agir sur son activité toxique.

Les mécanismes cellulaires conduisant à la dégénérescence cellulaire font l'objet de très nombreuses études.

Les données les plus importantes semblent impliquer des altérations simultanées des transporteurs au glutamate et du métabolisme de l'oxygène.

Comme nous le reverrons, ces anomalies du métabolisme de l'oxygène sont fortement soupçonnées depuis l'isolement, en 1993, d'une mutation d'une des enzymes de la chaîne de l'oxygène dans certaines formes familiales de SLA.

Par ailleurs, d'autres mécanismes cellulaires ont été isolés, notamment le rôle probable de certains canaux (protéines de la paroi des cellules permettant le passage dans certaines conditions d'ions comme le sodium ou le calcium). Parmi les ions responsables, le plus fréquemment mis en cause est le calcium.

D'autres travaux en cours étudient comment ces ions, lorsqu'ils pénètrent dans les cellules nerveuses, contribuent à les détruire et comment la cellule nerveuse est capable de réagir.

Enfin, les protéines permettant la transmission dans la cellule du signal induit par le calcium sont de mieux en mieux connues. Elles permettent d'agir comme de véritables "thermostats" internes à la cellule lors d'un signal induit par le glutamate et le calcium.

Ces protéines qui entraînent des phénomènes particuliers dits de phosphorylation (adjonction d'ions phosphates sur des composants cellulaires) sont importantes. En effet, on a montré et souligné la survenue précoce de phosphorylation anormales dans des constituants des motoneurones dès les stades les plus précoces de la maladie.

L'une de ces protéines, la Protéine Kinase C (PKC) jouerait un rôle majeur dans cette cascade d'événements (glutamate-calcium-PKC-phosphorylation) sans qu'il soit encore bien clair lequel de ces mécanismes est premier.

**D'autres gènes candidats sont actuellement à l'étude.**

Parmi ces gènes, il faut citer la mise en évidence récente de mutations du gène codant certaines protéines des neurofilaments.

Les neurofilaments sont des structures importantes de la cellule nerveuse, et particulièrement des motoneurones, qui interviennent dans les mécanismes de transport. Ces neurofilaments sont anormalement phosphorylés dans les motoneurones lors de la S.L.A..

Des travaux récents font état de mutations du gène codant les protéines phosphorylés chez des patients atteints de S.L.A..

Par ailleurs, des souris dites transgéniques (porteuses d'une mutation de gène) porteuses de ce type de mutation, développent des tableaux qui peuvent rappeler celui observé lors de la S.L.A.. Elles constituent aussi des modèles importants dans l'étude des mécanismes de survenue de la maladie et des thérapeutiques possibles.

D'autres gènes candidats sont en cours d'analyse, notamment les gènes codant les récepteurs au glutamate et le gène responsable des amyotrophies spinales, maladies caractérisées par une atteinte pure des motoneurones de la moëlle épinière.

## Données cliniques

**De nombreux travaux sont en cours sur le plan clinique.**

Ce sont surtout des travaux électrophysiologiques (par des méthodes électromyographiques notamment) destinés à mieux comprendre les modifications dont sont atteints les motoneurones lors de la maladie.

Ces travaux portent sur l'étude des modifications de certains canaux ioniques du motoneurone périphérique (voir ci-dessus) qui sont responsables de troubles de l'excitabilité de la cellule.

Par ailleurs, d'autres travaux portent sur l'analyse plus complexe mais essentielle des modifications des motoneurones centraux et de leur état d'excitabilité. Ces études sont indispensables pour connaître le point de départ de la maladie, elles constituent des outils importants dans le diagnostic précoce ou dans certaines formes de diagnostic difficile.

D'autres méthodes d'explorations sont en cours de développement : ce sont des analyses complexes d'imagerie qui permettent d'étudier le fonctionnement des cellules motrices du cortex cérébral.

Enfin, d'autres méthodes encore, devraient permettre d'étudier chez les malades les modifications chimiques qui surviennent dans le cortex cérébral et la moëlle épinière des patients atteints de S.L.A..

Ces méthodes dérivées de la résonance magnétique nucléaire permettent d'analyser de petites zones de substance nerveuse et de déterminer leur composition chimique. Elles permettent de déterminer déjà la composition d'un tissu dit "normal", ce qui permettra dans un bref avenir de connaître les modifications survenant lors de la maladie.

## Essais thérapeutiques

**Ils font l'objet d'un essor important. Toujours trop lents aux yeux des patients, ils nécessitent des règles très strictes qui seules permettent de s'assurer de la fiabilité des résultats.**

L'étude de l'activité d'une drogue est un processus complexe. Lorsqu'un produit chimique est supposé actif dans une maladie, il faut s'assurer, d'abord chez l'animal, que ce produit n'est pas toxique.

Après cette étape, qui demande souvent un an environ, il faut faire des études dites de phase 1, où l'on administre ce produit pendant des temps courts à des volontaires non malades.

Il faut ensuite s'assurer que le produit peut être administré pendant des durées plus prolongées.

**6 mois environ après ces études initiales, il est possible de commencer à étudier le produit chez les patients.**

Pour raccourcir les délais, on est tenté, de plus en plus, de faire l'étude initiale de tolérance directement chez les malades ce qui n'est pas totalement dépourvu de risques.

Cependant, les méthodes pharmacologiques actuelles permettent, en général, de prendre ce risque. Il faut alors s'assurer que le produit n'entraîne pas de trouble supplémentaire chez les malades et mesurer quelle est la dose la mieux tolérée.

C'est seulement après que l'on peut commencer des études dites d'efficacité, c'est à dire du rôle possible d'une substance sur l'évolution de la maladie.

Or nous avons déjà souligné la difficulté que l'on a de connaître l'évolution "normale" de la maladie chez un patient donné.

Deux études récentes portant chacune sur environ 900 malades ont clairement montré que nous n'avons actuellement aucun élément permettant de prédire l'évolution d'un patient donné. Cette extraordinaire diversité d'évolution de la maladie explique que nous soyons obligés d'utiliser un placebo pour connaître l'activité d'un produit.

En effet, ce placebo - administré au hasard au patient qui ne sait pas ce qu'il reçoit par un médecin qui ne sait pas ce qu'il prescrit - permet d'analyser comparativement les patients recevant le produit supposé actif et ceux qui n'en reçoivent pas.

Seule cette analyse, d'ailleurs complexe, permet de savoir si le produit administré est ou non actif mais aussi s'il est ou non éventuellement toxique.

En effet, trop souvent, les patients supposent que toute drogue administrée est a priori active sur leur maladie. Des exemples récents d'essais contre placebo ont clairement montré que certaines substances, au contraire, aggravaient les patients.

Le développement des essais thérapeutiques a conduit la Fédération Mondiale de Neurologie à réunir les principaux chercheurs intéressés dans la S.L.A. pour tenter d'harmoniser ces essais entre les différents pays. Ce groupe a eu sa première réunion à Airie House aux Etats-Unis. Il a édicté des règles "de bonne conduite" des essais (voir p. 14) afin d'éviter que se développent des pratiques dangereuses et a nommé un comité de pilotage pour coordonner les essais au niveau international.

Ce comité comprend trois américains (Th Munsat, B. Brooks, H. Mitsumoto), un canadien (M. Brooke), un anglais (M. Swash), un néerlandais (V. de Jong) et un français (V. Meininger).

Suivant cet exemple, des réseaux nationaux se sont formés. Le réseau français, par exemple, soutenu par l'A.R.S., est en cours d'achèvement (voir p. 11). D'ores et déjà, des collaborations se mettent en place au niveau européen, notamment entre les groupes français et anglais.

Les grands essais, achevés ou en cours, tentent d'agir sur les grands mécanismes connus de la maladie :

- Le Riluzole, substance anti-glutamate, a fait l'objet d'un premier essai entre 1990 et 1992.

En décembre 1994, s'est achevé le deuxième essai de confirmation. Cet essai, le plus important jamais entrepris dans la S.L.A. porte sur plus de 900 malades en Europe et en Amérique du Nord. Nous devrions en connaître les résultats fin mars 1995.

- Trois facteurs de croissance font l'objet d'essais thérapeutiques: le C.N.T.F., l'ILGF et le B.D.N.F.. Nous devrions en connaître les résultats dès le mois de juin 1995.

- Les substances dites antioxydantes sont actuellement en développement. Malgré les premiers résultats négatifs de l'acétyl cystéine, il semble que ce type de produit puisse constituer une voie thérapeutique intéressante.

**Il faut cependant admettre que nous n'aurons pas de substance miracle.**

**Il est actuellement illusoire de penser qu'un seul produit va à lui seul permettre d'arrêter définitivement le processus évolutif.**

Par contre, il est licite de penser que, dès la fin de cette année, nous disposerons des premières substances permettant au moins de ralentir l'évolution de cette maladie et il est raisonnable d'avancer que des progrès considérables seront faits dans les cinq ans à venir.

Le chemin paraît long, mais il suffit de se tourner juste un peu en arrière et ne pas oublier que pendant 100 ans la S.L.A. est restée une maladie dont on ne savait rien et pour laquelle il n'y avait rien à faire.

Il faut aussi être conscient de l'effort humain considérable que représente la formidable avancée de ces cinq dernières années et se concentrer plus encore sur les toutes prochaines années.



Professeur Vincent Meininger