

## Maladie de Huntington : de la recherche à la clinique

1 Avril 2005 - 9h20 - 17h20

Auditorium - Bâtiment Cardiologie - Pitié-Salpêtrière  
(accès 56 bd Vincent Auriol)

Organisateurs scientifiques

Anne-Catherine BACHOUD-LÉVI (Inserm U 421), Alexis BRICE (Inserm U 289)

- 9h20-9h30 Introduction et accueil
- 9h30-10h05 Karl Kiebertz (Rochester, USA)  
*Projet Huntington – une approche intégrée de recherches cliniques?*
- 10h05-10h40 Stéphane Viville (Strasbourg, France)  
*Nouveaux outils pour le diagnostic génétique Preimplantaire (DPI) de la maladie de Huntington (MH) et leurs applications cliniques*
- 10h40-11h15 Raymund Roos (Leiden, The Netherlands)  
*Perturbations motrices dans la maladie de Huntington*
- 11h15-11h35 *Pause café*
- 11h35-12h10 Anne-Catherine Bachoud-Lévi (Créteil, France)  
*Désordres du langage dans la MH*
- 12h10-12h45 Anne Rosser (Cardiff, UK)  
*Transplantation neurale dans la maladie de Huntington*
- 12h45-13h55 *Pause de midi avec buffet*
- 13h55-14h30 Alexandra Dürr (Paris, France)  
*Avances récentes dans la génétique : gènes modificateurs et nouvelle entité identique à la Maladie de Huntington*
- 14h30 -15h05 Hindrik Mulder (Lund, Sweden) *la maladie de Huntington et diabète*
- 15h05-15h40 Karine Merienne (Illkirch, France)  
*Indicateurs signalant des voies dans la Maladie de Huntington et d'autres maladies d'origines polyglutaminiques*
- 15h40-16h00 *Pause café*
- 16h00-16h35 Erich Wanker (Berlin, Germany)  
*Traceurs d'interaction de protéine : implications pathogènes dans la maladie de Huntington*
- 16h35-17h10 Stéphane Palfi (Créteil, Orsay, France)  
*Mouvements choreiques associés avec le dysfonctionnement des agrégats striataux suivant une surexpression de la Huntingtine mutée chez les primates non humains?*
- 17h10-17h20 Conclusions

## PROJET HUNTINGTON

### Une approche intégrée de recherche clinique ?

**Karl Kieburtz** (University of Rochester – Centre Médical Rochester, New York, USA)

Le groupe d'étude de Huntington (HSG) s'est créé par une collaboration informelle de chercheurs cliniciens intéressés à identifier des traitements pour la maladie de Huntington. La mission du groupe est de proposer des thérapies et de soulager le fardeau de la maladie pour les individus et les familles affectés par la maladie de Huntington, ceux qui sont atteints (maladie déclarée), les personnes à risque ou qui sont porteurs de gène sans signes de la maladie de Huntington. Le groupe a débuté en 1993 et a travaillé sur plusieurs projets de collaboration comprenant des études d'observation et des essais cliniques.

Approximativement dix ans après son démarrage le HSG (Huntington Study Group) a commencé à participer avec d'autres chercheurs et les groupes de recommandation dans le projet Huntington (HP).

Le projet Huntington s'efforce de générer participation et communication dans le monde entier avec un esprit coopératif et dans un large effort coordonné. La mission du projet Huntington est : "fonctionner ensemble pour trouver des traitements différents". Le projet Huntington a identifié deux projets de collaboration principaux actuellement : SET-HD et COHORT.

SET-HD fait une évaluation systématique des traitements pour la maladie de Huntington, essentiellement une revue systématique des signes précliniques et cliniques qui nécessiteraient des recherches potentielles plus avancées pour la maladie de Huntington.

COHORT (COopérative Huntington Research Trial) est un observatoire mondial des recherches sur la maladie de Huntington. Des participants à l'étude seront recrutés (au début) aux USA, Canada et Australie et incluront des malades atteints et à risque aussi bien que les conjoints ou avec test négatif du gène. Tous les individus seront répertoriés dans une banque de données concernant aussi bien les antécédents familiaux détaillés et la collection d'échantillons de sang et d'urine pour un dépôt de bio-spécimens. Des évaluations annuelles sont projetées pour COHORT. Plusieurs défis sont relevés dans ce type d'effort de collaboration comprenant les implications de multiples instituts de recherches : logistique, manipulations de spécimens, recrutement des individus éloignés des sites de recherches existants et maintien de la confidentialité d'information sur les antécédents familiaux. Le projet est prévu pour débiter sous peu dans les pays initiaux.

Contenu de la banque de données :

- **Phénotypes (manifestations extérieures)**
- **Les histoires familiales (Indiana)**
- **Les liens entre familles identifiées et d'autres**
- **Les prélèvement de sang et d'urine (Corriel)**

**Programmes du HSG en recherche de médicaments :**

- Phénylbutyrate		16 semaines	60 sujets	1 <sup>er</sup> trim 2005
- DOMINO	minocycline	18 mois	125 sujets	
- 2care		2,5 ans	600 sujets	

## **NOUVEAUX OUTILS POUR LE DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE PREIMPLANTOIRE (DPI) DANS LA MALADIE DE HUNTINGTON (MH) ET LEURS APPLICATIONS CLINIQUES.**

**Stéphane Viville** (Service de Biologie de la Reproduction - SIHCUS-CMCO, CHU de Strasbourg, France)

**Introduction :** La maladie de Huntington (MH) est une mutation autosomique dominante caractérisée par une neuro-dégénération progressive. Le début tardif caractéristique de la MH soulève la question difficile du test pré symptomatique. Pour des personnes à risque voulant créer une famille, le diagnostic prénatal ou préimplantatoire sont des options disponibles.

Le DPI pour la MH représente notre première demande. Nous avons développé une série de cellules fluorescente PCR. Nous présentons ici ces différents protocoles et leurs applications cliniques.

**Matériels et méthodes :** Des conditions pour quinze PCR duplex ont été établies en utilisant les lymphoblasts simples. Les résultats PCR ont été analysés sur un compteur séquentiel ABI3100 automatique.

**Résultats :** Nous avons caractérisé le nouveau fabricant intragenic fortement polymorphe situé dans l'intron du gène IT15. Des conditions de PCR sur les lymphoblasts simples pour quinze PCR duplex ont été établies, 12 comprenant deux microsatellites et 3 comprenant la répétition de CAG et un microsatellite. Au total 1278 des cellules ont été examinées. Nous avons obtenu une efficacité et l'exactitude de PCR appropriées à une application clinique. Soixante trois couples ont formulé une demande de DPI, 33 des personnes connaissant leur statut génétique (groupe I) - et 30 des personnes refusant le test (groupe II). Nous avons exécuté 65 cycles pour 26 couples, 35 transferts d'embryon, ayant pour résultat 8 bHCG positifs, 4 grossesses dont 3 enfants sont nées et un à venir.

**Conclusion :** Afin de prendre en charge les patients MH, nous développons une série de PCR duplex nous permettant de proposer un essai direct ou d'exclusion. L'application clinique de ces protocoles mène à l'obtention de quatre grossesses.

**Le Professeur Viville projette un film remarquable montrant l'ouverture de la membrane qui entoure les cellules de l'embryon (technique LASER), puis l'aspiration de deux cellules qui seront ensuite testées génétiquement avant implantation de l'embryon s'il est réputé sain (donc exempt de MH).**

## PERTURBATIONS MOTRICES DANS LA MALADIE DE HUNTINGTON

**Raymund Roos** (Leiden, Pays-Bas)

Traditionnellement la maladie de Huntington a été appelée le chorée de Huntington. La caractéristique de la maladie était les mouvements involontaires, plutôt non voulus. Chorée signifie littéralement en langue grecque 'danse'. Un des aspects de la maladie était le comportement moteur, la démarche de l'ivrogne. Le diagnostic clinique final était fait sur cet aspect spécifique. Des changements d'humeur, la démence, l'agression, et la dépression ont été identifiés en tant qu'élément de la maladie mais n'étaient jamais suffisants par eux mêmes pour faire un diagnostic clinique précis. Même des antécédents familiaux clairs n'étaient pas suffisants.

Plusieurs choses ont changé depuis. Le changement majeur est la découverte de la répétition de CAG sur le chromosome 4 en 1993. Par conséquent nous sommes maintenant confrontés avec les étapes beaucoup plus précoces de la maladie qu'avant. Ainsi nous pouvons avoir un regard plus marqué sur le comportement moteur et psychiatrique. De plus en plus il est apparu clairement une augmentation des mouvements (hyperkinésie) mais aussi pour d'autres cas une énorme diminution de mouvement se produit. Les patients de la maladie de Huntington, (et pas seulement ceux de la variante Westphal), peuvent développer hypokinésie et akinésie. Par conséquent nous identifions de nos jours les antécédents familiaux du père ou du grand-père certainement affecté qui ont été admis en hôpital psychiatrique en tant que patients parkinsoniens présentant une démence.

En 1999 une échelle d'évaluation unifiée a été développée (UHDRS : Unified Huntington's Disease Rating Scale). Dans cette échelle plusieurs paramètres sont pris en considération. Ils permettent un meilleur diagnostic, une analyse plus fine des changements moteurs et un suivi de l'évolution.

**Le Professeur Roos étudie essentiellement la motricité. Il projette des séquences montrant différents patients assis et ayant les mouvements involontaires que l'on connaît. « Elle fait beaucoup de mouvements, ça ne la dérange pas, mais ça dérange seulement son mari ».**

**Il montre qu'il existe également une hyperkinésie et une hypokinésie en chaque patient atteint de la MH, et ceci, indépendamment de l'âge.**

**Afin de montrer la difficulté du diagnostic des neurologues, il a réalisé une expérience sur 124 participants dont les tests ADN avaient été faits sans qu'ils aient été communiqués au patients : ces participants (un tiers d'entre eux sont porteurs du gène) sont étudiés par trois neurologues qui ne connaissent pas leur statut. Après consultation et comparaison, 16% des consultants qui ne portaient pas le gène ont été déclarés porteurs par les neurologues (?).**

**Ainsi, sans connaître l'histoire familiale, il est très difficile de distinguer l'hyperkinésie, la MH ou la maladie de Parkinson. D'autres diagnostics peuvent s'avérer totalement faux : une fillette de 4 ans présentait les manifestations choréiques de la MH : en fait elle était atteinte d'une infection échovirale et guérit après 6 mois de soins.**

## Troubles du langage dans la maladie de Huntington

**A C Bachoud-Lévi** (Equipe Avenir, INSERM U421, Paris XII/IM3 Créteil et Département d'Etudes Cognitives, Ecole Normale Supérieure, Paris, France. Département des Neurosciences, Hôpital Henri Mondor, Créteil France)

Le rôle des ganglions de la base et plus spécifiquement du striatum dans le langage est très discuté et les données obtenues dans les maladies dégénératives entrent souvent en contradiction avec celles obtenues dans les lésions focales notamment après accident vasculaire. En particulier, les données obtenues dans la maladie de Huntington (MH), qui à son début est considérée comme un modèle de lésion relativement pur d'atteinte du striatum, semblent indiquer la présence de troubles du langage plutôt à un stade tardif de la maladie (Brandt, 1991 pour une revue). Sans qu'on puisse parler d'aphasie franche les patients atteints de MH ont des troubles de la production de la parole (notamment troubles de son déroulement temporel, dysarthrie...), de la syntaxe et à un stade tardif, ils souffrent de troubles de compréhension. A l'inverse, dans l'aphasie par lésion vasculaire du noyau caudé gauche la compréhension des patients est préservée, leur fluence est normale et il n'existe pas de troubles de l'articulation (Cambié, et al., 1970). L'essentiel des troubles observés est la production de paraphrasies sémantiques ou fantastiques. Pour résoudre ce paradoxe, il faut faire appel aux modèles de traitement du langage apporté par la psycholinguistique et l'aphasiologie.

Dans un modèle modulaire intégrant la perception et la production du langage, les tests dont les performances déclinent au cours du temps dans un suivi longitudinal de patients MH (Bachoud-Lévi et coll., 2001) indiquent une vraisemblable atteinte de la planification phonologique et de l'articulation dans la MH mais ceci ne permet pas d'expliquer les troubles de la syntaxe rencontrés dans cette maladie. Pour comprendre les troubles du langage par lésion striatale, il faut ajouter à ce modèle un autre registre d'hypothèses parmi lesquelles, au premier plan, la dichotomie règle/lexique énoncée par Ulmann (1997). Dans cette hypothèse, le circuit fronto-striatal soutendrait l'acquisition et l'utilisation des règles linguistiques alors que les circuits temporaux corticaux (atteints dans la maladie d'Alzheimer par exemple) seraient impliqués dans la connaissance et l'utilisation des connaissances conceptuelles et lexicales.

Pour le vérifier, nous avons réalisé un certain nombre d'expériences linguistiques aussi bien en perception qu'en production, en morphologie (conjugaison), en syntaxe (compréhension de phrases), en phonologie (détection de mots en phrases) et non linguistiques sur le calcul. Nos résultats suggèrent que le striatum joue un rôle dans l'application de règles, en production et en perception, en morphologie, consciemment aussi bien qu'inconsciemment, en syntaxe et dans le calcul (Teichmann et al. Brain sous presse, Teichmann et al, soumis) mais pas en phonologie. De plus, la préservation de certains types de règles (par exemple phonologiques) chez les patients MH nous conduit maintenant à caractériser la nature des règles traitées par le striatum. Finalement, le lien entre structure et fonction peut être renforcé par la comparaison avec d'autres types de modèles notamment par l'étude de patients porteurs de lésions cérébrales focales. L'étude de patients opérés de gliomes de bas grade semblent indiquer une certaine spécificité de l'atteinte des règles lors de lésions du striatum mais pas lors de lésions temporales. A l'avenir, l'amélioration des performances des patients MH dans des tâches pures de langage lors de la reconstruction du striatum par la greffe intracérébrale pourra offrir un modèle unique de plasticité cérébrale permettant d'établir le lien entre structure et fonction et apportera une approche complémentaire à la neuropsychologie classique.

## TRANSPLANTATION NEURALE DANS LA MALADIE DE HUNTINGTON

**Anne Rosser** (Université de Cardiff, Grande-Bretagne)

La caractéristique la plus saisissante dans la maladie de Huntington, pour simplifier les étapes, est la perte de neurones spinaux moyens du striatum. Une stratégie de traitement est d'implanter les neurones spinaux moyens embryonnaires afin d'essayer de reconstruire les circuits neuronaux endommagés. Jusqu'ici, le succès de cette approche dépend de la récolte de cellules du striatum embryonnaire (l'éminence ganglionique) pendant une fenêtre spécifique du développement. Il a été montré dans les modèles animaux de la MH que la transplantation de neurones dans le striatum peut apporter un rétablissement fonctionnel, et il y a maintenant un nombre restreint d'études cliniques dans le monde. Jusqu'ici, de telles études se sont fondées sur l'utilisation des cellules issues du fœtus humain, mais les difficultés pratiques et éthiques liées à cette source de tissu rendent impératif une source alternative.

Les cellules souches sont attrayantes comme source de cellules en raison de leur capacité d'expansion *in vitro* en nombre tout en maintenant leur capacité pour la différenciation terminale. Une gamme diverse de sources émergentes sont à l'étude pour l'application en transplantation neurale, y compris les cellules souches neurales, cellules souches embryonnaires et cellules embryonnaires germinales. Les cellules souches neurales peuvent être isolées dans le fœtus et utilisées en lignée neurale suivant l'expansion *in vitro*. Cependant, il est crucial que les neurones différenciant de telles populations soient du phénotype approprié afin d'effectuer la réparation, et c'est cette condition qui présente actuellement le plus grand défi pour l'application clinique de ces cellules. Si on permet aux cellules souches neurales fœtales de se différencier dans des états standard de culture de tissu, on observe une gamme restreinte des phénotypes neuronaux. Après la transplantation dans le cerveau du rat, une gamme des phénotypes morphologiques est obtenue suggérant que la capacité pour le différenciation emplacement-spécificité soit maintenue, de même les cellules souches neurales humaines dérivées du striatum et transplantées dans le striatum de rongeur conservent la capacité de se différencier dans des neurones et de montrer des phénotypes typiques du tissu striatal, mais seulement à condition que les cellules souches soient cultivées et amplifiées pendant des périodes relativement courtes (4 semaines). La capacité de se développer en tissu striatal a été perdue avec l'augmentation des durées dans la culture, suggérant que les changements de la population de cellules se soient produits pendant ce processus, et ceci a été encore confirmé par des études d'expression de gène. Définir la nature de ces changements sera une étape essentielle dans la compréhension des manipulations pour un usage clinique.

## AVANCEES RECENTES EN GENETIQUE : GENES MODIFIANTS ET NOUVELLES ENTITES SEMBLABLES A LA MALADIE DE HUNTINGTON

Alexandra Dürr et Giovanni Stevanin ( Inserm 679 (former 289), Hôpital de la Salpêtrière, Paris France)

**La maladie de Huntington (MH) est connue pour être monogénique par excellence avec un gène responsable et une mutation simple. Récemment, des gènes supplémentaires de la MH ont été identifiées. En outre, d'autres facteurs génétiques affectant la présentation clinique dans les patients présentant la mutation principale dans le gène IT15 ont été indiqués exactement.**

**L'âge au début dans HD provoqué par des expansions de répétition de CAG dans le gène IT15 est déterminé pour environ 40% par l'expansion de répétition de CAG dans le gène IT15. Les facteurs de modification sont une combinaison des causes déterminantes génétiques et environnementales. L'existence des modificateurs génétiques est soutenue par une étude récente vénézuélienne sur une population MH. Plusieurs modificateurs génétiques ont été identifiés : a) la taille de l'allèle est négativement corrélé avec l'âge au début chez les patients présentant de grandes expansions s'étendant de 47 à 80 répétitions de CAG ; b) le polymorphisme de répétition de TAA dans le gène de la sous-unité GluR6 est franchement corrélé avec l'âge au début c) une répétition dans le facteur de transcription CA150.**

**En outre, l'analyse large de génome dans des paires affectées a permis d'identifier plusieurs régions hébergeant des modificateurs possibles sur le chromosome 4q, 6p et 6q. Aucun gène n'a pourtant été identifié dans les régions correspondantes. Néanmoins, les modifications identifiées expliquent jusqu'ici seulement une petite proportion de la variabilité de l'âge de début.**

**On a suspecté l'hétérogénéité génétique de la MH dans une proportion très petite parmi les patients atteints, estimée de 5 à 10%. La participation des expansions de CTG/CAG dans JPHéncoding 3 situé sur le chromosome 16q a prouvé l'hétérogénéité génétique. La mutation responsable est une répétition augmentée de CTG/CAG qui provoque une MH identique avec la signature pathologique des expansions de polyglutamine comme dans ce qui est trouvé dans la MH et dû aux mutations du gène IT15. Plusieurs études ont prouvé que le gène HDL2 est rarement impliqué. Notre groupe a rapporté une série de 60 patients se présentant avec une MH « identique » avec le phénotype (HDL) et pour lequel des expansions pathologiques dans le gène IT15 avaient été exclues. Des patients connus ont fait l'objet de recherches pour des expansions pathologiques de trinuécléotides dans le gène JPH3 aussi bien que dans d'autres gènes responsables des maladies reliées : Expansions de CAG dans les gènes de DRPLA et de TBP (SCA17/HDL4) aussi bien que pour des insertions dans le gène de PRNP (HDL1). Deux patients ont porté 43 et 50 répétitions non interrompues de CTG dans le gène JPH3. Deux autres patients ont eu 44 et 46 répétitions de CAA/CAG dans le gène de TBP. Des expansions dans le gène de DRPLA et les insertions dans le gène de PRNP n'ont pas été trouvées dans notre série. Intéressant : les seuls patients connus présentant des mutations dans le gène HDL2 proviennent d'Afrique.**

**Ceci prouve que davantage d'hétérogénéité génétique existe et ceci a des conséquences à prendre en considération pour la consultation génétique et le test prédictif dans les familles pour lesquelles aucune mutation n'a été identifiée.**

### References

- Van Dellen A, Hannan AJ. - Genetic and environmental factors in the pathogenesis of Huntington's disease, *Neurogenetics*, 5(1):9-17, 2004. Wexler NS, et al. - Venezuelan kindreds reveal that genetic and environmental factors modulate Huntington's disease age of onset. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 101(10):3498-3503, 2004.
- Andrew SE, et al. - Rethinking genotype and phenotype correlations in polyglutamine expansion disorders. *Hum. Mol. Genet.*, 6(12):20052010, 1997.
- Brinkman RR, et al. - The likelihood of being affected with Huntington disease by a particular age, for a specific CAG size. *Am. J. Hum. Genet.*, 60(5):1202-1210, 1997.
- Djousse L, et al. - Interaction of normal and expanded CAG repeat sizes influences age at onset of Huntington's disease. *Am. J. Med. Genet.*, 15:119A(3):279-82, 2003.
- Duyao M, et al. - Trinucleotide repeat length instability and age of onset in Huntington's disease. *Nat. Genet.*, 4(4):387-392, 1993. MacDonald ME, et al. - Evidence for the G1uR6 gene associated with younger onset age of Huntington's disease. *Neurology*, 53(6):13301332, 1999.
- Rubinsztein DC, et al. - Genotypes at the GluR6 kainate receptor locus are associated with variation in the age of onset of Huntington disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 94(8):3872-3876, 1997.
- Holbert S et al. - The Gln-Ala repeat transcriptional activator CA150 interacts with huntingtin: neuropathologic and genetic evidence for a role in Huntington's disease pathogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 98(4):1811-1816, 2001. Margolis RL et al. - Huntington's Disease-like 2 (HDL2) in North America and Japan. *Ann. Neurol.*, 56(5):670-674, 2004.

## DIABETE ET MALADIE DE HUNTINGTON

Hindrik Mulder (Lund, Suède)

Un fait peu connu sur des désordres neurodégénératifs est qu'ils sont fréquemment accompagnés de perturbations métaboliques. Dans la maladie de Huntington (MH), en fin de stade, 10 à 25% des patients MH présentent une altération de l'homéostasie du glucose, dans beaucoup de cas se transformant en diabète franc. En outre la souris R6/2, un modèle transgénique de souris MH, développe fréquemment le diabète mais les mécanismes fondamentaux n'ont pas été clarifiés. L'élucidation de la pathogénie du diabète chez la souris R6/2 a pu potentiellement améliorer notre compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans le neuropathologie de la MH. Dans ce but, nous avons examiné notre colonie des souris R6/2 en ce qui concerne l'homéostasie de glucose. À la semaine 12, correspondant au fin de stade MH, les souris R6/2 étaient hyperglycémiques et hypoinsulinémiques, et ne libèrent pas l'insuline dans un essai intraveineux de tolérance de glucose. *In vitro*, la sécrétion basique et gluco-stimulée d'insuline a été nettement réduite. L'abondance d'inclusions nucléaires de huntingtine est accrue considérablement, principalement dans les cellules  $\beta$

**La masse des cellules  $\beta$  n'a pas augmenté normalement avec l'âge chez les souris R6/2. Par conséquent, à la semaine 12, la masse des cellules  $\beta$  et le contenu pancréatique d'insuline chez les souris R6/2 étaient respectivement à  $35\pm 5\%$  et  $16\pm 3\%$  en deçà par rapport à la souris normale. Normalement les occurrences de cellules répliquées sont largement absents des îlots R6/2, alors qu'aucune mort anormale de cellules ne pourrait être détectée. Les expériences sur de simple cellules rapportées ont indiqué l'activité électrique inchangée dans R6/2 cellules  $\beta$ . Cependant, l'exocytosis a été pratiquement supprimé dans  $\beta$  mais pas dans les cellules alpha. L'émoussement de l'exocytosis a pu être attribué à une réduction de 96% du nombre de vésicules sécréteuses d'insuline. Ainsi, le diabète chez les souris R6/2 est provoqué par une combinaison de déficience de la masse de la cellule  $\beta$  et la rupture de l'exocytosis. Nous croyons qu'élucider ces anomalies cellulaires fondamentales dans les cellules  $\beta$  de R6/2 augmentera notre compréhension de la pathologie fondamentale dans la MH.**

## **Indicateurs signalant des voies dans la Maladie de Huntington et d'autres maladies d'origines polyglutaminiques**

**Karine Merienne**, Greta Abou-Sleymane, Dominique Helmlinger, Didier Devys, Jean-Louis Mandel et Yvon Trotter (IGBMC, Strasbourg, France)

La maladie de Huntington (MH) et huit autres désordres neurodégénératifs progressifs sont provoqués par expansion de polyglutamine (polyQ) dans les protéines mutées correspondantes, et qui ne partagent aucune autre similitude fonctionnelle. PolyQ confèrent un gain de la fonction toxique aux protéines, qui a comme conséquence le neuro-dégénérescence. Jusqu'ici, aucun traitement n'empêche le début et la progression mortelle de la MH ou d'autres désordres de polyQ. Nous visons à déchiffrer les mécanismes cellulaires de la toxicité fondamentale polyQ, pour donner de nouvelles pistes thérapeutiques. La toxicité de PolyQ se corrèle avec leur propension d'agrèger, qui déclenche l'activation de la réponse neuronale. En outre, dans la MH, le traitement protéolytique des protéines mutées produit peu de fragment fortement toxiques et enclins à l'agrégation. Des essais étendus ont été faits pour empêcher l'agrégation du polyQ (empêchant les effets toxiques neuronal), ou la génération de fragments courts de polyQ. Des résultats au sujet des deux matières seront présentés.

## **Traceurs d'interaction de protéine : implications pathogènes dans la maladie de Huntington**

**Erich Wanker (MDC Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin, Germany)**

**Le projet de génome humain a créé la base pour la protéomique en fournissant les données d'ordre essentielles pour l'analyse systématique des protéines. Maintenant, notre but est de comprendre que les protéines biologiques de processus complexes sont impliquées en employant des approches biochimiques et biologiques de haut niveau. Dans le passé nous avons développé un système automatisé de deux hybrides de levure et employé cette technologie que nous avons produit dans un réseau fortement relié d'interaction de protéine-protéine pour la maladie de Huntington (HD). Notre réseau contient 186 PPIs parmi 35 et 51 protéines d'amorce. Il a indiqué 165 nouvelles interactions potentielles, dont 32 ont été confirmées par des expériences obligatoires indépendantes. Le réseau a également permis l'annotation fonctionnelle de 16 protéines non caractérisées et a facilité la découverte de GIT1, une protéine kinase-agissante l'un sur l'autre de récepteur protéine-couplée G, qui augmente l'agrégation de huntingtine. Coimmunoprecipitations et études d'immunofluorescence ont indiqué que GIT1 et huntingtine s'associent. D'ailleurs, GIT1 localise aux inclusions neuronales et est N-terminally tronqué dans des cerveaux de MH, indiquant que sa distribution est changée pendant la pathogénie de la maladie.**

**Plusieurs évidences indiquent que le processus de l'agrégation de huntingtine est ainsi critique pour le développement de la MH, empêchant la formation des agrégats insolubles de huntingtine dans les neurones des patients peut représenter une stratégie thérapeutique attrayante pour améliorer la MH. Afin d'identifier des inhibiteurs d'agrégation de huntingtine nous avons développé une analyse automatisée de retardement. En utilisant cette méthode nous avons protégé une bibliothèque d'environ 180.000 petites molécules et avons identifié 25 dérivés de benzothiazole qui empêchent le fibrillogenesis de l'exon 1 de HD d'une façon dépendante de la dose. Les résultats obtenus par l'analyse de filtre ont été confirmées par microscopie électronique et spectrométrie de masse. D'ailleurs, des composés chimiques ont été examinés dans un système de modèle de culture de cellules MH. Nos résultats peuvent servir de base pour une nouvelle approche thérapeutique pour empêcher les agrégats d'accumulation de huntingtine dans la MH et désordres relatifs de répétition de glutamine.**

## **Mouvements choreiques associés avec le dysfonctionnement des agrégats striataux suivant une surexpression de la Huntingtine mutée chez les primates non humains?**

**Stéphane Palfi (Orsay, France)**

**Dans la présente étude, des vecteurs lentiviraux codant un fragment de la protéine de huntingtine (htt) (171AA) avec 19 ou 82 répétitions de CAG ont été fournis dans 4 voies situées dans la région sensorimotrice du putamen des primates pour évaluer si une pathologie striatale pourrait avoir comme conséquence des symptômes moteurs réminiscent de la MH. Cette région a été visée pour évoquer des anomalies motrices observées chez les premiers patients symptomatiques de MH et après les lésions striatales dans les primates. Animaux injectés d'un côté avec Htt171-82Q et sur l'autre hémisphère avec Htt171-19Q, ceci n'a pas montré de comportement anormal dans des conditions spontanées. Cependant, avec un D1 et D2 agoniste de la dopamine, on a observé une augmentation d'activité locomotrice à comparer au contrôle. Pendant la période d'étude de 9 semaines, les animaux 82Q infectés ont montré un aspect progressif de chorée typique et de mouvements dystoniques liés à un comportement de rotation ipsilatéral fort. Ces déficits moteurs ont été associés à une pathologie striatale caractérisée par la présence d'agrégats de huntingtine et le dysfonctionnement neuronal. D'une manière primordiale, les animaux 82Q bilatéral-infectés ont développé des symptômes moteurs spontanés, la plupart du temps des tics et des mouvements dyskinétiques des jambes, des bras et du tronc, jusqu'à 30 semaines après l'infection. Ces données ont suggéré tout à fait l'expression de la huntingtine mutante chez les primates et peut fournir une piste de recherche pour déterminer les rapports entre les déficits moteurs, le dysfonctionnement neuronal et la mort de cellules et pour examiner de nouvelles stratégies thérapeutiques pour la MH dans un modèle génétique de la maladie.**