



Analyse protéomique pour sous typage des patients SLA

Investigateur principal : **Markus Otto**, Professeur de Neurologie, Chef du service de jour, Département de Neurologie, Université d'Ulm, Allemagne

Autres investigateurs : **Johannes Brettschneider**, Département de Neurologie, Université d'Ulm, Allemagne, **Olaf Jahn**, Biochimiste, Chef du groupe protéomique, Institut Max-Planck de médecine expérimentale, Göttingen, Allemagne

Subvention : 180 000 €

Durée : 2 ans

Résumé

La SLA est caractérisée par une très grande hétérogénéité de forme clinique et une grande variabilité d'évolution de la maladie. Bien qu'elle soit toujours d'issue fatale avec une médiane de 2 à 4 ans, le temps de survie peut varier de quelques mois à plusieurs décades. De plus certaines formes avec atteinte prédominante des neurones centraux ou périphériques peuvent être associées avec une survie prolongée. De même les phénotypes qui atteignent certaines zones spécifiques peuvent être associés à des progressions très différentes, par exemple, la forme débutant par une atteinte des bras est souvent associée à une progression lente alors que la forme débutant par une atteinte bulbaire est souvent associée à une progression plus rapide.

Nous ne savons pas actuellement pourquoi certains patients évoluent beaucoup plus lentement et survivent plus longtemps que d'autres, un enjeu majeur de la recherche est donc de trouver quels sont les facteurs propres aux patients qui modifient le tableau clinique et comment ils interviennent dans les différents types d'évolution.

Il y a un grand besoin de découverte de biomarqueurs pour l'évolution de la maladie. Un biomarqueur est défini comme une donnée mesurable de façon objective et qui est un indicateur d'un processus biologique normal ou pathologique et/ou d'une réponse pharmacologique à une intervention thérapeutique. La découverte de biomarqueurs associés à différents phénotypes et évolutions pourrait apporter de nouvelles données sur les déterminants physiologiques de la progression de la pathologie. Ils pourraient faire progresser la compréhension du rôle des facteurs endogènes dans l'expression clinique de la maladie. De plus, ils permettraient d'identifier les patients à évolution très rapide (ou très lente) afin d'adapter la prise en charge de façon optimale (par exemple recours précoce à la ventilation non invasive). Actuellement, les essais cliniques reposent sur une évaluation binaire des critères d'efficacité comme le temps de survie, critère nécessitant un très long suivi pour pouvoir interpréter des résultats. L'échelle d'évaluation fonctionnelle utilisée (ALSFRS-R : ALS functional rating scale) est très peu sensible. La découverte de biomarqueurs de progression pourrait permettre une identification plus rapide de



nouvelles thérapeutiques modifiant la progression ainsi que la diminution de la durée des essais cliniques.

Le liquide céphalo rachidien (LCR) étant anatomiquement proche des sites atteints du cerveau et de la moelle épinière, sa composition pourrait refléter des modifications associées à la maladie. De précédentes études ont validé l'intérêt du LCR pour la recherche de biomarqueurs et différentes approches protéomiques ont été tentées mais elles n'ont pas été concluantes faute d'une approche spécifique à la SLA qui demande une préparation des échantillons particulière, une caractérisation très précise des patients et un protocole d'analyse protéomique adapté.

Plan d'analyse : Pour identifier les modifications associées aux différents types d'évolution de la maladie nous allons faire une analyse protéomique exhaustive du LCR de patients avec de nouvelles méthodes ultrasensibles mises au point dans notre laboratoire et optimisées pour l'analyse du LCR. Nous ciblerons plus spécifiquement les patients avec progression rapide de la maladie comparés à des patients à progression lente, les profils trouvés seront comparés à une cohorte témoin.

Le département d'Ulm dispose d'une banque de plus de 430 LCR de patients parfaitement caractérisés. Pour la phase d'analyse, 2 méthodes complémentaires seront utilisées, une méthode d'analyse sur gel bidimensionnelle avec marquage fluorescent des protéines et une sans gel avec marquage isotopique au niveau des peptides.

Pour la phase de validation des protéines candidates, nous utiliserons en plus des méthodes classiques basées sur les anticorps, une méthode ciblée de spectrographie de masse (multiple-reaction-monitoring) récemment adaptée dans notre laboratoire.

En utilisant ces nouvelles méthodes pour analyser le LCR d'une large cohorte de patients, nous espérons mieux comprendre les facteurs qui déterminent la survie et la progression dans la SLA.



ProtALS - Analyse protéomique pour sous typage des patients

Appel à projets 2011

Subvention: 180 000 €

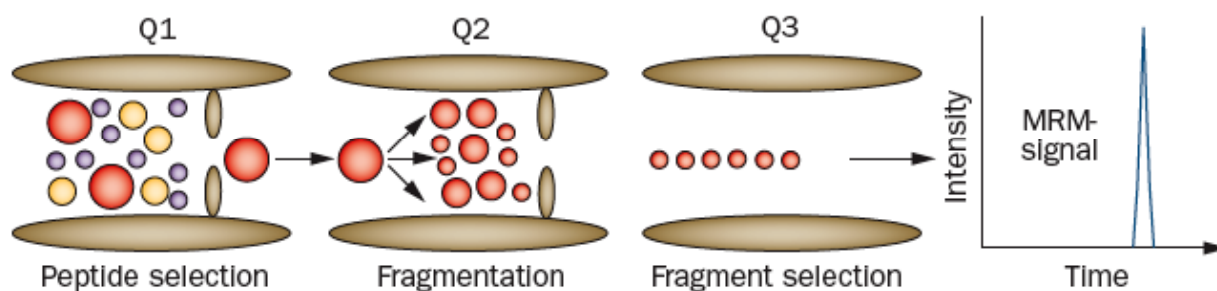
Durée du projet : 2 ans

Investigateurs: Markus Otto, Johannes Brettschneider, Université d'Ulm, Olaf Jahn, Institut Max-Planck de médecine expérimentale, Göttingen, Allemagne.

Point sur les résultats Décembre 2012

Nous ne savons pas actuellement pourquoi certains patients évoluent beaucoup plus lentement et survivent plus longtemps que d'autres, un enjeu majeur de la recherche est donc de trouver quels sont les facteurs propres aux patients qui modifient le tableau clinique et comment ils interviennent dans les différents types d'évolution.

La découverte de biomarqueurs associés à différents phénotypes et évolutions pourrait apporter de nouvelles données sur les déterminants physiologiques de la progression de la pathologie et permettre de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques. De plus de tels marqueurs pourraient aider la réalisation d'essais cliniques et permettre une meilleure prise en charge des malades. Le liquide céphalo rachidien (LCR) étant anatomiquement proche des sites atteints du cerveau et de la moelle épinière, sa composition pourrait refléter des modifications associées à la maladie. Pendant la première année, nous avons mis au point la technique permettant une analyse protéomique exhaustive du LCR de patients à différents stades de progression. Avec une approche sans gel, ni anticorps, appelée MRM (cf ci-dessous), nous avons pu quantifier des protéines qui n'étaient pas détectables par les méthodes existantes. En utilisant ces nouvelles méthodes pour analyser le LCR d'une large cohorte de patients, nous espérons mieux comprendre les facteurs qui déterminent la survie et la progression dans la SLA.



Déroulé d'une analyse MRM dans un spectromètre de masse à triple Quadripôle
Abreviations: MRM, Monitoring de Réaction Multiple ; Q, quadripôle