



HAL
open science

Maladie de Creutzfeldt-Jakob : exploration des pistes thérapeutiques & perspectives d'avenir

Margaux Clausier

► **To cite this version:**

Margaux Clausier. Maladie de Creutzfeldt-Jakob : exploration des pistes thérapeutiques & perspectives d'avenir. Sciences pharmaceutiques. 2023. dumas-04390006

HAL Id: dumas-04390006

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04390006>

Submitted on 12 Jan 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance.

La propriété intellectuelle du document reste entièrement celle du ou des auteurs. Les utilisateurs doivent respecter le droit d'auteur selon la législation en vigueur, et sont soumis aux règles habituelles du bon usage, comme pour les publications sur papier : respect des travaux originaux, citation, interdiction du pillage intellectuel, etc.

Il est mis à disposition de toute personne intéressée par l'intermédiaire de [l'archive ouverte DUMAS](#) (Dépôt Universitaire de Mémoires Après Soutenance).

Si vous désirez contacter son ou ses auteurs, nous vous invitons à consulter en ligne les annuaires de l'ordre des médecins, des pharmaciens et des sages-femmes.

Contact à la Bibliothèque universitaire de Médecine Pharmacie de Grenoble :

bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

Année : 2023

**MALADIE DE CREUTZFELDT-JAKOB : EXPLORATION DES PISTES
THÉRAPEUTIQUES & PERSPECTIVES D'AVENIR**

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
SPÉCIALITÉ : INDUSTRIE

SOUTENUE PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE GRENOBLE
Le 19/12/2023

Par Mme Margaux CLAUSIER

[Données à caractère personnel]

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

Présidente du jury :

Mme le Dr Anne BRIANÇON-MARJOLLET (tutrice universitaire)

Membres :

M. le Dr Laurent VERCUEIL (directeur de thèse)

M. le Dr Sylvain KOTZKI

M. le Dr Jean BRETON

L'UFR de Pharmacie de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

ENSEIGNANTS - CHERCHEURS Année 2023 / 2024

Doyen de la Faculté - Pr Michel SÈVE
Vice-Doyen Pédagogie - Dr Pierre CAVAILLÈS
Vice-Doyen Recherche – Pr Walid RACHIDI

STATUT	NOM	PRÉNOM	LABORATOIRE	HDR
MCF	ALDEBERT	DELPHINE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheREx	Oui
PU-PH	ALLENET	BENOÎT	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheMAS	Oui
AHU	AMEN	AXELLE		
Professeur Emérite	BAKRI	ABDELAZIZ	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS	
MCF	BARDET	JEAN-DIDIER	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheMAS	
MCF	BATANDIER	CÉCILE	GIN-U1216 INSERM	
PU-PH	BEDOUCH	PIERRICK	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheMAS	Oui
MAST	BELLET	BÉATRICE	-	
MCF	BOUCHERLE	BENJAMIN	DPM - UMR 5063 CNRS	
PU	BOUMENDJEL	AHCÈNE	LRB -INSERM U 1039	Oui
MCF	BOURGOIN	SANDRINE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS	
MCF	BRETON	JEAN	LCIB – UMR E3 CEA	Oui
MCF	BRIANÇON-MARJOLLET	ANNE	HP2 – INSERM U1042	Oui
PU	BURMEISTER	WILHEM	UVHCI- UMI 3265 EMBL CNRS	Oui
PU-PH	BUSSER	BENOÎT	IAB-UMR 5309 CNRS- INSERM U1209	Oui
Professeur Emérite	CALOP	JEAN		
MCF	CAVAILLÈS	PIERRE	IAB-UMR 5309 CNRS- INSERM U1209	
MCU-PH	CHANOINE	SÉBASTIEN	CR UGA - INSERM U1209 - CNRS 5309	
MCF	CHOISNARD	LUC	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCU-PH	CHOVELON	BENOIT	DPM – UMR 5063 CNRS	
MAST	COMBE	JÉRÔME	-	
PU-PH	CORNET	MURIEL	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheREx	Oui
Professeur Emérite	DANEL	VINCENT	-	
Professeur Emérite	DECOUT	JEAN-LUC	DPM – UMR 5063 CNRS	
MCF Emérite	DELÉTRAZ-DELPORTE	MARTINE	LPSS – EAM 4129 LYON	
PR	DEMEILLIERS	CHRISTINE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS	Oui
ATER	DETRAIT	MAXIMIN		
PU-PH	DROUET	CHRISTIAN	GREPI EA7408	Oui
PU	DROUET	EMMANUEL	IBS – UMR 5075 CEA CNRS	Oui
MCF	DURMORT	CLAIRE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS	Oui

Mise à jour le 07/09/2023 Sana HACHANI

STATUT	NOM	PRÉNOM	LABORATOIRE	HDR
CDD	DURVILLE	SABINE		
PU-PH	FAURE	PATRICE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCF	FAURE-JOYEUX	MARIE	HP2 – INSERM U1042	Oui
PRCE	FITE	ANDRÉE	-	
MCU-PH	GARNAUD	CÉCILE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheReX	
PRAG	GAUCHARD	PIERRE-ALEXIS	-	
PU-PH	GERMI	RAPHAËLE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS HIV & virus persistants Institut de Biologie Structurale	Oui
MCF	GÉZE	ANNABELLE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCF Emérite	GILLY	CATHERINE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCF	GONINDARD	CHRISTELLE	LECA – UMR CNRS 5553	Oui
MCF	GRENIE	MATTHIAS	LECA – UMR CNRS 5553	
Professeure Emérite	GRILLOT	RENÉE	-	
MCF	GUIEU	VALÉRIE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS	
MCU-PH	HENNEBIQUE	AURÉLIE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheReX	
MCF	HININGER-FAVIER	ISABELLE	LBFA – INSERM U1055	Oui
AHU	IHL	CORDELIA		
MCF	KHALEF	NAWEL	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS	
MCF	KOTZKI	SYLVAIN	HP2 – UMR S1042	
MCF	KRIVOBOK	SERGE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
PHU	LEENHARDT	JULIEN	INSERM – U1039	
PU	LENORMAND	JEAN-LUC	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheReX	Oui
AHU	LEO	CAROLINE		
MAST	LOGEROT	SOPHIE		
PU	MARTIN	DONALD	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS	Oui
PRCE	MATTHYS	LAURENCE	-	
MCU-PH	MINOVÉS	MÉLANIE	HP2 – INSERM U1042	
PU	MOINARD	CHRISTOPHE	LBFA - INSERM U1055	Oui
PU-PH	MOSSUZ	PASCAL	IAB – INSERM U1209	Oui
MCF	MOUHAMADOU	BELLO	LECA – UMR 5553 CNRS	Oui
MCF	NICOLLE	EDWIGE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCF	OUKACINE	FARID	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCF	PERES	BASILE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
AHU	PERRIER	QUENTIN		
MCF	PEUCHMAUR	MARINE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
PU	PEYRIN	ERIC	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui

Mise à jour le 07/09/2023 Sana HACHANI

STATUT	NOM	PRÉNOM	LABORATOIRE	HDR
ATER	PEYRONNEL	CÉLIAN		
PU	RACHIDI	WALID	BGE/BIOMICS/ CEA	Oui
PU	RAVELET	CORINNE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
PU	RIBUOT	CHRISTOPHE	HP2 – INSERM U1042	Oui
Professeure Emérite	ROUSSEL	ANNE-MARIE	-	Oui
PU-PH	SÈVE	MICHEL	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS	Oui
MCF	SOUARD	FLORENCE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCF	SPANO	MONIQUE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS	
MCF	TARBOURIECH	NICOLAS	IBS – UMR 5075 CEA CNRS	
AHU	TRUFFOT	AURÉLIE		
MCF	VANHAVERBEKE	CÉCILE	DPM – UMR 5063 CNRS	
AHU	VITALE	ELISA		
MCF	WARTHER	DAVID	DPM – UMR 5063 CNRS	
Professeur Emérite	WOUESSIDJEWE	DENIS	DPM – UMR 5063 CNRS	

AHU : Assistant Hospitalo-Universitaire

ATER : Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherches

BCI : Biologie du Cancer et de l'Infection

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CIB : Centre d'Innovation en Biologie

CRI : Centre de Recherche INSERM

CNRS : Centre National de Recherche Scientifique

DCE : Doctorants Contractuels Enseignement

DPM : Département de Pharmacochimie Moléculaire

HP2 : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire

IAB : Institute for Advanced Biosciences

IBS : Institut de Biologie Structurale

LAPM : Laboratoire Adaptation et Pathogenèse des Microorganismes

LBFA : Laboratoire Bioénergétique Fondamentale et Appliquée

LCBM : Laboratoire Chimie et Biologie des Métaux

LCIB : Laboratoire de Chimie Inorganique et Biologie

LECA : Laboratoire d'Ecologie Alpine

LPSS : Laboratoire Parcours Santé Systémique

LR : Laboratoire des Radio pharmaceutiques

MAST : Maître de Conférences Associé à Temps Partiel

MCF : Maître de Conférences des Universités

MCU-PH : Maître de Conférences des Universités et Praticiens Hospitaliers

PAST : Professeur Associé à Temps Partiel

PRAG : Professeur Agrégé

PRCE : Professeur certifié affecté dans l'enseignement

PU : Professeur des Universités

PU-PH : Professeur des Universités et Praticiens Hospitaliers

SyMMES : Systèmes Moléculaires et nanoMatériaux pour l'Energie et la Santé

TIMC-IMAG : Laboratoire Technique de l'Imagerie, de la Modélisation

UMR : Unité Mixte de Recherche

UVHCI : Unit of Virus Host Cell Interactions

Dédicace

Je dédie cette thèse à ma tante, Maude, emportée cette année par la maladie de Creutzfeldt-Jakob. Tu resteras toujours dans mon cœur et ce travail représente mon humble contribution à la science, dans l'espoir qu'un jour, la découverte d'un traitement pour cette maladie devienne une réalité.

Remerciements

Je souhaite tout d'abord remercier le Dr. Briançon-Marjollet, Maître de Conférences, et le Dr. Vercueil, Médecin Neurologue Hospitalier, pour m'avoir encadrée tout au long de ce travail, de s'être montrés disponibles et à l'écoute et enfin pour leurs conseils avisés.

Je souhaite également remercier chaleureusement les membres de mon jury de thèse, le Dr. Kotzki, Docteur en Pharmacie, Maître de Conférences, et le Dr. Breton, Docteur en Pharmacie, Maître de Conférences, pour leurs précieux commentaires, leurs suggestions éclairées et leurs efforts pour enrichir ce travail de leur expertise.

Merci à ma famille pour son soutien sans faille depuis toujours et particulièrement à Hugo et Cyrus, pour l'aide précieuse et la motivation que vous m'avez apportée, qui m'ont permis d'aller au bout de mon travail mais aussi de mes études.

Merci à Léa, ta présence m'a réconfortée plus d'une fois et notre binôme de travail m'a de nouveau donné l'occasion de me dépasser.

Enfin, je tiens à exprimer ma reconnaissance envers toutes les personnes qui m'ont apporté leur aide et leur soutien dans la rédaction de ce travail ou plus généralement au long de mes études ; Lydia, Kamel, Anaïs, Maud, Emmanuelle, toute l'équipe de Galderma, Amélie, Myriam, Eric, Caroline et toute l'équipe de la pharmacie des Cascades. Merci infiniment pour votre bienveillance et vos encouragements.

TABLE DES MATIÈRES

Liste des abréviations.....	8
Liste des figures.....	10
Liste des tableaux.....	12
I- Introduction.....	14
II - Généralités et histoire de la maladie de Creutzfeldt-Jakob.....	15
A- Généralités.....	15
B- Histoire.....	16
III - Caractéristiques de la maladie de Creutzfeldt-Jakob.....	19
A- Etiopathologie.....	19
B- Les différents types de MCJ et leur symptomatologie.....	23
C- Méthodes diagnostiques (18).....	26
IV - Les axes de recherche préclinique et clinique.....	32
A- Prévention de conversion de la PrpC en PrPSc.....	32
1. Le Rouge Congo.....	32
2. La Quinacrine.....	33
3. L'Amphotéricine B.....	46
4. Le Pentosan polysulfate.....	54
B- Sensibilisation aux protéases.....	60
1. Les Tétracyclines.....	60
C- Protection des neurones contre l'apoptose.....	72
1. La Flupirtine.....	72
V - Les pistes de la recherche actuelle.....	75
A- L'immunothérapie.....	75
1. Immunisation active.....	75
a. Immunisation passive.....	79
B- La thérapie génique.....	90
1. Les oligonucléotides antisens (ASO).....	91
2. Interférence par ARN.....	107
VI - Discussion.....	121
VII - Conclusion.....	124
BIBLIOGRAPHIE.....	125
SITOGRAFIE.....	134
Serment de Galien.....	138

Liste des abréviations

Ac	Anticorps
ADAS	<i>“Alzheimer's Disease Assessment Scale”</i>
ADL	<i>“Activities of Daily Living”</i>
AmB	Amphotéricine B
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
ARNi	Acide Ribonucléique interférent
ASO	<i>“Antisense Oligonucleotide”</i>
BHE	Barrière Hémato-Encéphalique
BPRS	<i>“Brief Psychiatric Rating Scale”</i>
CDR	<i>“Clinical Dementia Rating”</i>
CE	Critère d'Évaluation
CIBIC-P-plus	<i>“Clinician-Interview-Based Impression of Change plus carer input”</i>
DPI	<i>“Days Post Infection”</i>
DSE	<i>“Disease-Specific Epitopes”</i>
EEG	Électroencéphalogramme
EI	Effet Indésirable
EIG	Effet Indésirable Grave
ESB	Encéphalopathie Spongiforme Bovine
GCS	<i>“Glasgow Coma Score”</i>
GFAP	<i>“Glial Fibrillary Acidic Protein”</i>
GSS	Gerstmann-Sträussler-Scheinker
HPLC	<i>“High Performance Liquid Chromatography”</i>
HR	<i>“Hazard Ratio”</i>
IC	Intervalle de Confiance
ICV	Intracérébroventriculaire
IFF	Insomnie Fatale Familiale

IM	Intramusculaire
IP	Intrapéritonéal
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
IV	Intraveineux
LCR	Liquide Céphalo-Rachidien
MCJ	Maladie de Creutzfeldt-Jakob
MMSE	<i>“Mini Mental State Examination”</i>
NFS	Numération de la Formule Sanguine
NMDA	N-méthyl-D-aspartate
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PI	Post-Infection
PK	Protéinase K
PMCA	<i>“Protein Misfolding Cyclic Amplification”</i>
PPS	Pentosan Polysulfate
PrP	<i>“Prion Protein”</i>
RML	<i>“Rocky Mountain Laboratories”</i>
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RT-QuIC	<i>“Real-Time Quaking-Induced Conversion”</i>
SC	Sous-Cutané
SNC	Système Nerveux Central
VO	Voie Orale

Liste des figures

Figure 1 : Alfons Maria Jakob (1885-1964).....	16
Figure 2 : Breslau Hans Gerhard Creutzfeldt (1884-1931).....	16
Figure 3 : D. Carleton Gajdusek.....	17
Figure 4 : Gajdusek et Zigas examinant, en 1957, un jeune enfant papou atteint du kuru... 17	17
Figure 5 : Stanley B. Prusiner.....	18
Figure 6 : (A) Schéma de la structure de la forme cellulaire de la protéine prion (PrPC) (B) La structure de la protéine prion pathologique (anormale) (PrPSc).....	19
Figure 7 : Prions agglutinés en fibrilles.....	20
Figure 8 : Plaques de type Kuru dans la MCJ sporadique.....	20
Figure 9 : Spongiose de la couche moléculaire du cortex cérébelleux.....	21
Figure 10 : Gliose astrocytaire (immunomarquage de la GFAP).....	22
Figure 11 : Mutations de la PrP associées à la forme génétique de la MCJ.....	24
Figure 12 : Onde biphasique.....	27
Figure 13 : Onde triphasique.....	27
Figure 14 : EEG d'une patiente atteinte de MCJ avec ondes triphasiques en rouge et ondes biphasiques en bleu.....	27
Figure 15 : Résultats de l'imagerie par résonance magnétique (IRM) dans un cas de maladie de Creutzfeldt-Jakob iatrogène.....	28
Figure 16 : Coupes IRM FLAIR in vivo d'un cas de vMCJ confirmé histologiquement.....	28
Figure 17 : Molécule de Rouge Congo.....	32
Figure 18 : Effet du rouge Congo sur le marquage métabolique de la PrP-res.....	33
Figure 19 : Molécule de quinacrine.....	34
Figure 20 : Taux de survivants entre les groupes traités par quinacrine ou non traités au cours du temps.....	40
Figure 21 : Réponse globale basée sur des échelles d'évaluation neurologiques.....	41
Figure 22 : Analyse de survie Kaplan-Meier de la ligne de base au 2ème mois (A) et au décès ou fin de l'étude (B).....	42
Figure 23 : Evolution des scores cognitifs et fonctionnels moyens après 2 mois chez les survivants.....	43
Figure 24 : Molécule d'amphotéricine B.....	46
Figure 25 : Molécule de pentosan polysulfate.....	54
Figure 26 : Temps de survie (en mois) des patients après la chirurgie (0 sur l'axe horizontal) relativement au temps entre le diagnostic et la chirurgie.....	58
Figure 27 : Structure de la molécule de doxycycline.....	60
Figure 28 : Temps de survie à partir de la date de randomisation de l'ensemble de la population en intention de traiter.....	65
Figure 29 : Temps de survie des patients traités et non traités par la doxycycline.....	67
Figure 30 : Influence du polymorphisme du codon 129 sur le temps de survie dans l'étude observationnelle.....	68
Figure 31 : Molécule de Flupirtine.....	72
Figure 32 : Différents mécanismes d'action possibles des anticorps inhibant la PrP.....	79
Figure 33 : Survie moyenne des patients atteints de MCJ sporadique traités par PRN100 et non traités.....	86
Figure 34 : Mécanisme de dégradation de l'ARNm par liaison à l'ASO.....	91
Figure 35 : Fonctionnement des ASOs dans le traitement des maladies à prions.....	92

Figure 36 : Taux d'ARNm du gène PRNP après administration des différentes substances par voie intrapéritonéale.....	96
Figure 37 : Taux de PrPc après administration des différentes substances par voie intrapéritonéale.....	96
Figure 38 : Taux d'ARNm du gène PRNP après administration des différentes substances par voie ICV.....	97
Figure 39 : Taux de PrPc après administration des différentes substances par voie ICV.....	97
Figure 40 : Taux d'ARNm du gène PRNP après administration de différentes doses des ASOs 742 et 771 par voie ICV.....	98
Figure 41 : Taux d'ARNm du gène PRNP dans différentes régions du cerveau après administration de différentes doses de l'ASO 1 et 2, relativement au groupe contrôle traité par solution saline.....	100
Figure 42 : Taux d'ARNm du gène PRNP dans le cortex ipsilatéral à 4, 12 et 16 semaines... après un bolus de 500 µg d'ASO 1 ou 2.....	100
Figure 43 : Survie des souris traitées à 300 µg d'ASO.....	101
Figure 44 : Survie des souris traitées à 500 µg d'ASO.....	101
Figure 45 : Délai d'apparition des signes cliniques caractéristiques de la maladie chez les souris traitées à 300µg d'ASO.....	102
Figure 46 : Evolution du poids des souris traitées à 500µg d'ASO.....	102
Figure 47 : Délai d'apparition des signes cliniques caractéristiques de la maladie.....	103
Figure 48 : Durée de la maladie (du début à la fin).....	103
Figure 49 : Survie des souris traitées.....	103
Figure 50 : Distributions d'ASO, PrP, spongiose (H&E) et astrogliose (GFAP) chez des souris traitées prophylactiquement (A) et à 120 DPI (B).....	104
Figure 51 : Mécanisme d'action général des ARNi (165).....	107
Figure 52 : Injection intracrânienne de LVshscr (G) et LVsh512 (H) chez des souris tga20 surexprimant PrPC . Analyse de l'expression de l'EGFP (à gauche) et de la PrPC (à droite) 3 semaines après l'injection.....	113
Figure 53 : Analyse par Western blot de l'expression de la PrPc dans le cerveau (à gauche) et le cervelet (à droite) d'animaux chimériques.....	114
Figure 54 : Temps de survie des souris chimériques LVsh512 et témoins après inoculation de la souche RML de la tremblante.....	114
Figure 55 : Expression de l'ARNm de PrP (%) selon les groupes.....	115
Figure 56 : Evolution des capacités d'enfouissage des groupes 1 (en bleu), 2 (en gris) et 3 (en rose).....	116
Figure 57 : Evolution du rapport exploratoire des groupes 1 (en bleu), 2 (en gris) et 3 (en rose).....	116
Figure 58 : Temps de survie des groupes 1 (en bleu), 2 (en gris) et 3 (en rose).....	117
Figure 59 : Comparaison de la spongiose (A-D) et de l'accumulation de PrPsc (E-F) entre les groupes 1 (A, C, E) et 3 (B, D, F) dans la région CA1-3 de l'hippocampe droit.	118
Figure 60 : Comptage des cellules CA1 (à gauche) et degré de spongiose (à droite) entre les groupes 1 (en bleu) et 3 (en rose).....	118

Liste des tableaux

Tableau 1 : Mutations et principales caractéristiques des formes génétiques de maladies à prions identifiées en France.....	30
Tableau 2 : Résumé des caractéristiques cliniques et biologiques pour chaque forme de MCJ et leurs spécificités diagnostiques.....	31
Tableau 3 : Essais in vitro conduits sur la quinacrine.....	34
Tableau 4 : Essais in vivo (chez l'animal) conduits sur la quinacrine.....	35
Tableau 5 : Essais conduits sur la quinacrine chez l'homme.....	37
Tableau 6 : Durée de survie en mois des patients traités et non traités atteints de la sMCJ en fonction des génotypes du codon 129.....	38
Tableau 7 : Comparaison des résultats de l'étude de S. Haik et al. entre les cas de MCJ sporadiques et vMCJ traités par quinacrine.....	38
Tableau 8 : Paramètres neurocognitifs, tolérance et analyse neuropathologique post-mortem des patients atteints de MCJ sporadique comparé aux patients atteints de vMCJ	39
Tableau 9 : Essai in vitro conduit sur l'amphotéricine B.....	47
Tableau 10 : Essais in vivo chez l'animal conduits sur l'amphotéricine B.....	51
Tableau 11 : Essai conduit sur l'amphotéricine B chez l'homme.....	52
Tableau 12 : Essais in vivo chez l'animal conduits sur le pentosan polysulfate.....	55
Tableau 13 : Essais conduits sur le pentosan polysulfate chez l'homme.....	56
Tableau 14 : Survie (en mois) des patients traités par PPS selon la forme de MCJ comparativement à des sujets non traités.....	57
Tableau 15 : Essais in vitro conduits sur les tétracyclines.....	62
Tableau 16 : Essais in vivo conduits chez l'animal sur les tétracyclines.....	63
Tableau 17 : Essais conduits sur la doxycycline chez l'homme.....	64
Tableau 18 : Effets indésirables enregistrés chez les patients traités par doxycycline ou placebo.....	66
Tableau 19 : Evaluation de la progression de la maladie dans le groupe traité par la doxycycline par rapport au groupe placebo.....	69
Tableau 20 : Essai conduit sur la flupirtine chez l'homme.....	73
Tableau 21 : Comparaison des résultats aux tests neurocognitifs entre les groupes recevant la flupirtine ou le placebo.....	73
Tableau 22 : Essais in vivo conduits chez l'animal sur des peptides immunogènes de la PrP.	76
Tableau 23 : Essais in vivo conduits chez l'animal sur des peptides de la PrP conjugués à des immunogènes.....	77
Tableau 24 : Essais in vivo conduits chez l'animal sur des peptides de la PrP recombinantes immunogènes.....	77
Tableau 25 : Essais in vitro conduits sur des anticorps dans le cadre d'une immunisation passive.....	81
Tableau 26 : Essais in vivo conduits chez l'animal sur des anticorps dans le cadre d'une immunisation passive.....	84
Tableau 27 : Essai conduit chez l'homme en vue d'une immunisation passive.....	85
Tableau 28 : Mutations modulatrices de l'expression du gène PRNP et leur conséquences chez des souris et des chèvres.....	90
Tableau 29 : Essai in vitro conduit sur des ASOs.....	93
Tableau 30 : Essai in vivo conduit chez l'animal sur des ASOs.....	95

Tableau 31 : Conséquences de l'ASO 742 sur l'expression d'ARNm du gène PRNP et de la PrPc selon la dose.....	96
Tableau 32 : Conséquences de l'ASO 742 et de l'ASO 771 sur l'expression d'ARNm du gène PRNP et de la PrPc.....	97
Tableau 33 : Prolongement de la survie selon le type d'ASO et la dose (300 ou 500µg)...	102
Tableau 34 : Récapitulatif des avantages et inconvénients liés à l'utilisation des oligonucléotides antisens dans les maladies à prions.....	106
Tableau 35 : Essais in vitro conduits sur les ARNi.....	110
Tableau 36 : Essais in vivo conduits chez l'animal sur les ARNi.....	112
Tableau 37 : Survie moyenne selon les groupes.....	117
Tableau 38 : Comptage neuronale et score de spongiose moyens selon les groupes.....	118

I- Introduction

L'objectif de ce travail est de réaliser un état d'avancement des essais précliniques et cliniques significatifs ayant été conduits sur la maladie de Creutzfeldt-Jakob depuis la caractérisation de l'agent causal, mais également de mettre en lumière les perspectives actuelles dans le traitement de cette maladie rare encore mal comprise.

Il s'agit également d'apporter un regard critique sur les différentes expériences réalisées et d'identifier les éléments ayant pu limiter la recherche dans le passé et aujourd'hui.

Il est important de rappeler que la maladie de Creutzfeldt-Jakob représente un défi thérapeutique depuis plus de cent ans et la découverte d'un traitement efficace pourrait avoir un véritable impact dans le monde médical, puisque les prions sont impliqués dans de nombreuses autres maladies à dégénérescence neurocognitive également en impasse thérapeutique à l'heure actuelle.

Etant donné la complexité de la maladie et afin de pouvoir aborder les essais thérapeutiques de la manière la plus objective et critique possible, il sera nécessaire qu'une partie de ce travail se concentre sur la maladie de Creutzfeldt Jakob en elle-même, ses différentes formes, sa biochimie, sa symptomatologie et son histoire.

II - Généralités et histoire de la maladie de Creutzfeldt-Jakob

A- Généralités

La maladie de Creutzfeldt-Jakob est une maladie neurodégénérative causée par l'accumulation d'une protéine déficiente appelée prion dans le cerveau des patients, ce qui engendre une destruction progressive des neurones et aboutit à un aspect spongieux du cerveau visible à l'IRM.

La maladie est connue depuis 1922 et touche environ une personne sur un million. Il s'agit donc d'une maladie rare dont l'origine peut être génétique, sporadique ou bien suite à une contamination (iatrogène ou via l'alimentation).

La grande majorité des cas de maladie de Creutzfeldt-Jakob sont dits "sporadiques", ce qui signifie qu'ils sont dus à une mutation spontanée dans le génome du patient, et surviennent en général chez des sujets âgés.

En revanche, il existe des formes héréditaires ou génétiques qui se déclarent chez des sujets bien plus jeunes.

Enfin, la maladie est transmissible via le système nerveux central, ce qui signifie qu'elle peut avoir une origine iatrogène comme lors de la fabrication de médicaments biologiques issus de prélèvements humains ou lors d'interventions chirurgicales avec du matériel contaminé.

La maladie peut également être transmise de l'animal à l'homme via la consommation de bœuf notamment. Cette forme de la maladie est appelée "variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob".

La durée d'incubation de cette maladie peut durer plusieurs dizaines d'années mais lorsque les premiers symptômes apparaissent la maladie évolue rapidement et est toujours fatale.

A l'heure actuelle, il n'existe aucun diagnostic de certitude de la maladie. Le diagnostic ne peut être prononcé qu'après examen du cerveau post-mortem.

En revanche, il existe des examens d'orientation, mais ceux-ci ne peuvent être fiables à 100% et aucun ne permet de diagnostiquer la maladie à un stade précoce, avant l'apparition des symptômes.

Les symptômes de la maladie peuvent varier selon l'origine de celle-ci (génétique, sporadique, iatrogène, variante...) mais on retrouve souvent des symptômes tels que la perte d'équilibre et de la sensibilité, la démence, la dépression puis le mutisme et l'akynetisme.

Depuis la caractérisation de cette pathologie dans les années 1920 et jusqu'à aujourd'hui, aucun traitement n'a prouvé une efficacité significative dans le traitement de la maladie de Creutzfeldt-Jakob.

B- Histoire

L'histoire de la MCJ débute il y a environ 100 ans lorsque le neuropathologiste hambourgeois Alfons Maria Jakob (Figure 1) décrit les cas de cinq patients ; deux hommes et trois femmes âgés de 34 à 51 ans qui ont progressivement développé des troubles des fonctions motrices, de la parole et des émotions, avec des changements de personnalité évidents et des pertes de mémoire ; ils ont fini par être incapables de bouger, de se tenir debout ou de parler, et sont morts de démence dans une période allant de quelques semaines à un an après l'apparition de symptômes plus graves. (1)

Un an auparavant, le neurologue de Breslau Hans Gerhard Creutzfeldt (Figure 2) décrivait "une maladie focale particulière du système nerveux central" chez une autre patiente.

Jakob écrit dans un nouvel article sur ces nouvelles maladies qu'il est arrivé à la conclusion que le cas de Creutzfeldt se réfère à une "affection nosologiquement très proche, sinon identique" à ses propres cas. La dénomination "Jakob-Creutzfeldt" a donc été adoptée. Elle a été utilisée pour la première fois en 1922.



Figure 1 : Alfons Maria Jakob (1885-1964) (2)



Figure 2 : Breslau Hans Gerhard Creutzfeldt (1884-1931) (3)

E. E. Manuelidis rapporte : *“Après la Seconde Guerre mondiale, le Dr. Creutzfeldt m'a dit que son cas ne ressemblait en rien aux cas décrits par Jakob ”. Plusieurs scientifiques pensent également que la patiente de Creutzfeldt est plutôt décédée d'une épilepsie. En toute rigueur, la maladie devrait donc être appelée "maladie de Jakob".*

Cependant, en 1968, un article parut sur la transmission de la MCJ au chimpanzé et l'ordre des noms fut interchangé pour maladie de Creutzfeldt-Jakob.

Suite à l'épidémie d'encéphalopathie spongiforme bovine, le nom de Creutzfeldt-Jakob pour désigner la maladie est resté et il semble donc difficile de supprimer le nom de Creutzfeldt de ce terme ou même d'interchanger une fois encore les noms.

L'agent causal de la maladie décrite par Jakob dans les années 20 demeura inconnu durant encore des décennies, où la communauté scientifique, à défaut d'identifier l'agent, s'accorda à dire qu'il s'agissait d'une forme de virus. (4)

Dans les années 50, une maladie proche de la MCJ fut décrite par le pédiatre américain D. Carleton Gajdusek (Figure 3) dans certaines tribus anthropophages de Papouasie Nouvelle-Guinée. Cette maladie, nommée kuru (qui signifie “trembler de peur” en kore), se caractérise par un syndrome cérébelleux. Les premiers symptômes sont généralement une démarche instable, des tremblements et des troubles de l'élocution (Figure 4). Contrairement à la plupart des autres EST, la démence est minime ou absente. Des

changements d'humeur sont souvent présents. Finalement, les individus deviennent incapables de se tenir debout ou de manger, et ils meurent dans un état comateux entre six et douze mois après l'apparition des premiers symptômes. La découverte et l'exploration du kuru permettra plus tard de mieux comprendre la MCJ.



Figure 3 : D. Carleton Gajdusek (5)



Figure 4 : Gajdusek et Zigas examinant, en 1957, un jeune enfant papou atteint du kuru (6)

En parallèle, dans les années 70, un neurologue américain du nom de Stanley B. Prusiner (Figure 5) travaillait à isoler l'agent causal de la tremblante du mouton (ou scrapie). La tremblante du mouton est une maladie connue depuis des siècles. Elle touche les moutons et les chèvres d'élevage notamment et peut se traduire par un prurit au niveau dorsal mais également par une perte de l'équilibre et de la mobilité des membres postérieurs. Il est avéré qu'il s'agit d'une maladie infectieuse puisque celle-ci est transmissible aux autres bêtes. Cependant l'agent causal n'avait encore jamais été isolé, même si l'ensemble de la communauté scientifique était persuadée qu'il ne pouvait s'agir que d'un virus.

C'est finalement en 1982 que Stanley finit par isoler l'agent de la tremblante qui s'avéra être non pas un virus mais une protéine qu'il proposa de nommer "prion" pour *proteinaceous infectious particle* (particule infectieuse protéique). Cette découverte fut révolutionnaire dans le sens où jusqu'à aujourd'hui, une maladie infectieuse ne pouvait être causée que par un agent supportant du matériel génétique nécessaire à sa reproduction à savoir : une bactérie, un virus, un champignon ou un parasite. Les découvertes véritablement révolutionnaires étant généralement mal accueillies, celle-ci ne fit pas exception et la communauté scientifique réfuta l'idée qu'une protéine puisse être infectieuse, car cela défiait tout fondement scientifique. Plus tard, au fur et à mesure de nombreux articles publiés par Stanley et son équipe de chercheurs prouvant l'absence de matériel génétique dans l'agent de la tremblante, la communauté scientifique nuança progressivement son avis sur l'existence d'un agent infectieux d'un genre nouveau.

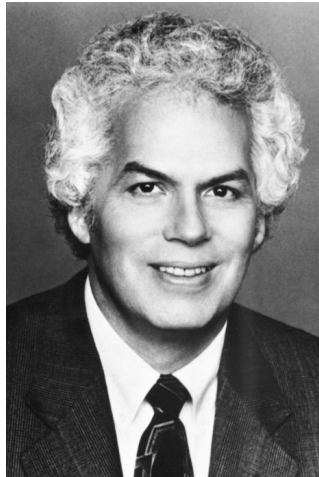


Figure 5 : Stanley B. Prusiner (7)

Des liens furent ensuite établis lorsque certains chercheurs remarquèrent une similitude entre les cerveaux des animaux atteints de la tremblante et les patients atteints de MCJ et d'autres maladies neurodégénératives comme le kuru ou encore Alzheimer. En effet, le point commun de ces maladies neurodégénératives est l'aspect spongieux que prend le cerveau des sujets atteints au fil du temps ainsi que l'apparition de plaques amyloïdes. C'est ainsi que le prion se révéla être l'agent causal non seulement de la MCJ et de la tremblante du mouton, mais également du kuru, de l'insomnie fatale familiale et du syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS).

Une dizaine d'années plus tard, dans les années 90, une épidémie touchant principalement les bovins éclata en Grande-Bretagne : l'encephalopathie spongiforme bovine ou "maladie de la vache folle". La symptomatologie se confond à celle de la tremblante du mouton, à savoir : une altération du comportement de l'animal avec des réactions extrêmes, une perte d'équilibre et de la coordination des mouvements et une paresthésie de l'arrière train. La durée d'incubation est d'environ 5 ans et après l'apparition des premiers symptômes, le décès survient en moins d'un an.

L'apparition soudaine de cette maladie chez les bovins s'explique par un changement des méthodes d'équarrissage des carcasses qui servaient ensuite à fabriquer la farine animale pour alimenter les élevages. On suppose que les farines animales fabriquées via l'équarrissage de moutons infectés par la tremblante et servant à l'alimentation des bovins, ont pu être un vecteur pour transmettre le prion. En 1996, des scientifiques suspectent un lien entre le diagnostic d'une MCJ chez 10 jeunes gens et la consommation de bœuf britannique suite à une augmentation particulière de l'incidence de la MCJ concordant avec l'épidémie d'ESB.

Il était donc devenu possible pour le prion, après être passé du mouton aux vaches, d'infecter les humains.

Cette forme de MCJ, issue de la consommation de viande bovine infectée (notamment des abats), fut appelée "variante de la MCJ", ses caractéristiques étant légèrement différentes des autres formes de MCJ (génétique et sporadique).

III - Caractéristiques de la maladie de Creutzfeldt-Jakob

A- Etiopathologie

L'agent causal de la MCJ est identifié comme étant une protéine depuis les années 80. Cette protéine appelée prion (pour Proteinaceous Infectious Only Particle) se trouve dans le système nerveux central et existe sous deux formes :

- La PrPC : qui est la forme "saine" de la protéine. Le "C" après PrP signifie "cellulaire" car on a remarqué que cette forme saine est ancrée aux membranes cellulaires via des lipides. Même si cette forme est ubiquitaire dans le corps humain, elle est surtout présente en grande quantité dans le SNC. Elle est codée par le gène PRNP situé sur le locus p12-ter du chromosome 20 chez les humains. Elle est constituée de 209 acides aminés et pèse entre 33 et 35 kDa. Elle aurait une fonction neuroprotectrice anti-oxydante (Brown & Sassoon, 2002) mais également de nombreuses autres fonctions dans la neurogénèse, la plasticité synaptique et l'homéostasie du cuivre. (8)
- La PrP^{Sc} : identifiée comme étant la forme pathologique. Le "Sc" faisant référence à "Scrapie" qui est le terme anglophone de la tremblante. Cette forme se retrouve uniquement dans le système nerveux central.

A noter que le gène PRNP est sujet à un polymorphisme sur son codon 129, mais les deux allèles les plus courants codent soit pour une méthionine, soit une valine. Ce changement d'acide aminé pourrait avoir un impact sur la susceptibilité d'un individu à déclencher la maladie. La répartition des allèles dans la population générale est variable et les études se contredisent. Cela semble dépendre des critères de sélection de l'étude et de la zone géographique.

Ce qui différencie la forme saine PrPC de la forme pathologique PrP^{Sc} est un changement de conformation spatiale. Comme illustré par la figure 6 ci-dessous : la PrPC est constituée essentiellement d'hélices alpha, la PrP^{Sc} contient elle, surtout des feuillettes Beta.

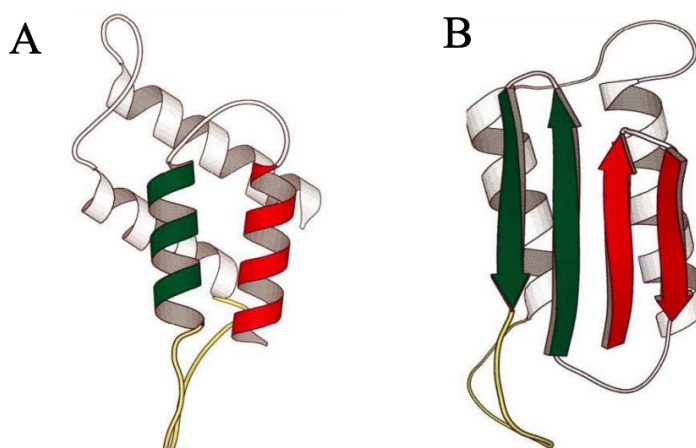


Figure 6 : (A) Schéma de la structure de la forme cellulaire de la protéine prion (PrPC).
(B) La structure de la protéine prion pathologique (anormale) (PrP^{Sc}). (9)

Ces feuillets Beta confèrent alors à la protéine la capacité de s'agglutiner entre elles en fibrilles et de former ce que l'on appelle des plaques amyloïdes, très visibles au microscope et similaires à celles retrouvées dans la maladie d'Alzheimer (Figures 7 et 8). Cette conformation particulière lui donne également la capacité de résister aux protéases contrairement à la forme saine PrPC.

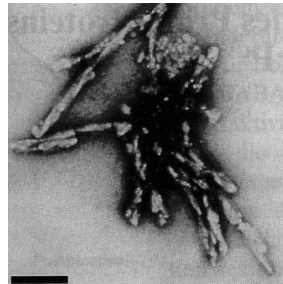


Figure 7 : Prions agglutinés en fibrilles (10)

Image obtenue à partir d'une procédure de purification comprenant des détergents et un traitement à la protéinase K

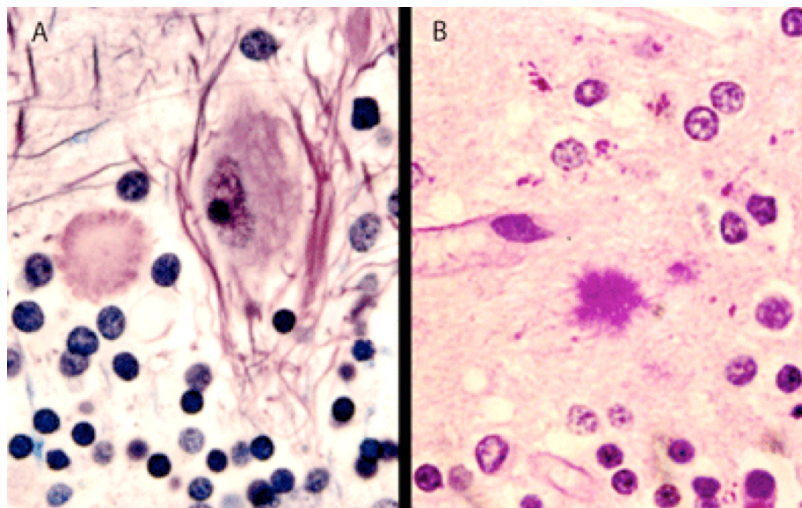


Figure 8 : Plaques de type Kuru dans la MCJ sporadique
(A : coloration au Bodian-Luxol. B : coloration au PAS) (11)

On distingue ainsi 3 types de plaques amyloïdes :

- **Les plaques de type Kuru** ; arrondies avec un cœur dense entouré de fibrilles radiales (Figure 8).
- **Les plaques multicentriques** ; comprenant plusieurs foyers denses de dépôts amyloïdes sans fibres radiales. Elles sont souvent associées à des dépôts de matériel amorphe non organisé en structure amyloïde. Des prolongements astrocytaires y sont étroitement associés.
- **Les plaques florides** : constituées d'une plaque de type Kuru entourée d'une couronne de vacuoles

Cependant, ces plaques amyloïdes ne sont pas visibles chez tous les patients atteints de MCJ.

La seconde conséquence de la formation de PrPsc dans le système nerveux central est l'apparition de vacuoles dans les neurones (soma, axones) entraînant la perturbation du cytosquelette et le gonflement des organites et aboutissant à la mort neuronale par apoptose. Ce phénomène de destruction massive de neurones est appelé "spongiose" et est visible à l'IRM (Figure 9).

Le système lysosomal est suspecté d'agir comme un stimulant pour la transformation de la PrP normale en isoforme anormale (12). En effet, lorsqu'une cellule neuronale infectée par des prions meurt, les molécules de PrPsc se retrouvent alors dans le milieu extracellulaire et des phénomènes tels que la phagocytose entrent en jeu, impliquant alors le système lysosomal. La PrPsc s'accumule alors au sein des lysosomes et finit par induire une déstabilisation puis rupture de la membrane lysosomale. Cette rupture entraîne un relâchement d'enzymes hydrolytiques de façon dérégulée, entraînant la mort neuronale, mais aussi la libération des prions développés au sein du lysosome.

La destruction des neurones touche de nombreuses zones du cerveau (cortex cérébral, hippocampe, hypothalamus, thalamus, cervelet...) mais certaines localisations dépendent de la souche de prion. (8)

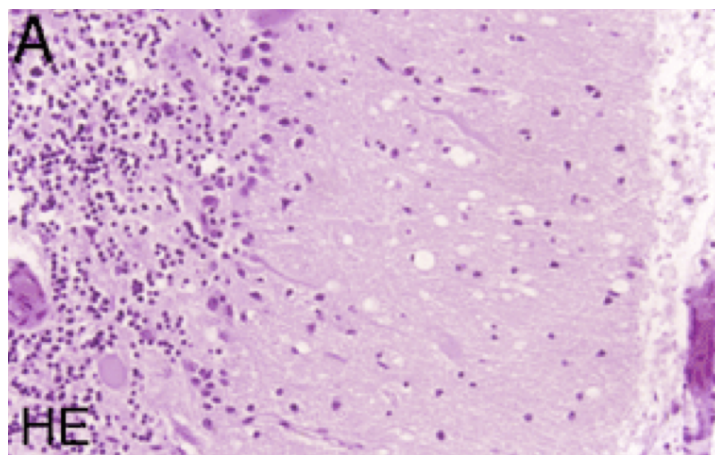


Figure 9 : Spongiose de la couche moléculaire du cortex cérébelleux
(coloration à l'hématoxyline-éosine).(11)

En conséquence de cette spongiose, on observe une activation microgliale. Les cellules microgliales possèdent un rôle de défense immunitaire et vont ainsi phagocyter les débris de neurones ainsi que la PrPsc afin de limiter l'invasion.

Cependant, cette activation microgliale, si elle est prolongée dans le temps, va induire une inflammation chronique et libérer des cytokines neurotoxiques, ce qui va avoir pour effet contradictoire d'entretenir la spongiose.

Également en réponse à la spongiose, on observe dans la MCJ une astrogliose, qui se traduit par une hyperplasie et une hypertrophie des astrocytes. Les astrocytes sont considérés comme les cellules nourricières des neurones, leur apportant les nutriments et métabolites nécessaires à leur fonctionnement.

Les neurones étant massivement détruits dans la MCJ, cela aboutit à des espaces vides qui sont alors comblés par une prolifération massive des astrocytes. Cette astrogliose peut être identifiée grâce à la surexpression de la protéine gliofibrillaire acide (GFAP) (Figure 10).

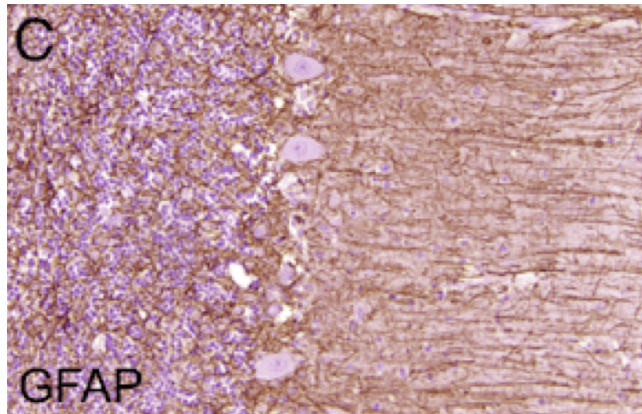


Figure 10 : Gliose astrocytaire (immunomarquage de la GFAP) (11)

L'un des mécanismes encore mal compris est la manière dont la protéine PrPsc se multiplie. On sait aujourd'hui du fait de son statut de protéine qu'elle ne porte pas de matériel génétique (que l'on pensait jusqu'alors indispensable à la reproduction de tout agent pathogène). Plusieurs hypothèses ont alors émergé mais celle qui a été validée suggère que la PrPsc est capable de changer la conformation des PrPc afin qu'elles adoptent la conformation pathologique.

Ce phénomène de changement conformationnel n'est pas encore élucidé mais des hypothèses peuvent être considérées (13) :

- La première est l'hypothèse de la nucléation polymérisation : Ce modèle suggère que la forme PrPsc est moins stable que la PrPc et que son agrégation lui permet ainsi de se stabiliser. La PrPc serait ainsi convertie en se liant au noyau de PrPsc. Ce modèle suggère que lorsque l'agrégat atteint une masse critique, il se dissocie en plusieurs fractions qui peuvent à nouveau reproduire la réaction, qui est alors amplifiée.
- La deuxième hypothèse est celle de la polymérisation assistée par une amorce : il est possible que la PrPc soit moins stable que la PrPsc d'un point de vue thermodynamique, ce qui encouragerait la conversion. Cependant, cette conversion ne pourrait avoir lieu qu'en présence d'un intermédiaire conformationnel se situant entre les deux formes PrPc et PrPsc.

B- Les différents types de MCJ et leur symptomatologie

Au fur et à mesure des recherches réalisées sur la MCJ, différents types ont été identifiés selon leur cause et leur symptomatologie.

1. MCJ sporadique (14) (15)

La forme sporadique de la maladie résulte soit d'une mutation somatique spontanée sur le gène PRNP soit d'une modification spontanée de la conformation spatiale de la PrP. Elle est généralement diagnostiquée chez des personnes d'un âge avancé (plus de 60 ans) chez qui l'accumulation des mutations est généralement plus importante. La MCJ sporadique constitue la grande majorité des diagnostics de MCJ (environ 90%) et son évolution est généralement rapide (environ 6 mois, rarement plus d'un an).

La symptomatologie est variable mais on retrouve fréquemment les symptômes suivants :

- Apparition rapide d'une dégradation cognitive, troubles de la mémoire et démence
- Aphasie
- Ataxie, apraxie, troubles de l'équilibre et de la coordination des mouvements
- Myoclonies, raideur
- Troubles visuels (hallucinations, dégradation visuelle)

Au terme de la maladie, le patient est plongé dans un état que l'on appelle "mutisme akinétique" précédant le décès.

Il existe une hypothèse selon laquelle il y aurait 2 types de PrPsc causant la MCJ sporadique. Le premier type serait relié à l'homozygotie Méthionine sur le codon 129 tandis que le type 2 correspond à tout autre polymorphisme.

Les 2 types de PrPsc diffèrent par leur taille et leur glycosylation, et induiraient des manifestations cliniques distinctes. (16)

2. MCJ héréditaire (17) (15)

La forme génétique est liée à une mutation sur le gène PRNP. A l'heure actuelle plus d'une vingtaine d'altérations de la séquence ADN ont été identifiées. Selon le type de mutation, on identifie 3 maladies différentes .

- La MCJ génétique ou héréditaire
- Le syndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker (SGSS),
- L'Insomnie Fatale Familiale (IFF).

La figure 11 ci-dessous illustre les différentes mutations répertoriées pour la MCJ héréditaire. La mutation la plus fréquemment observée semble être la E200K (18)

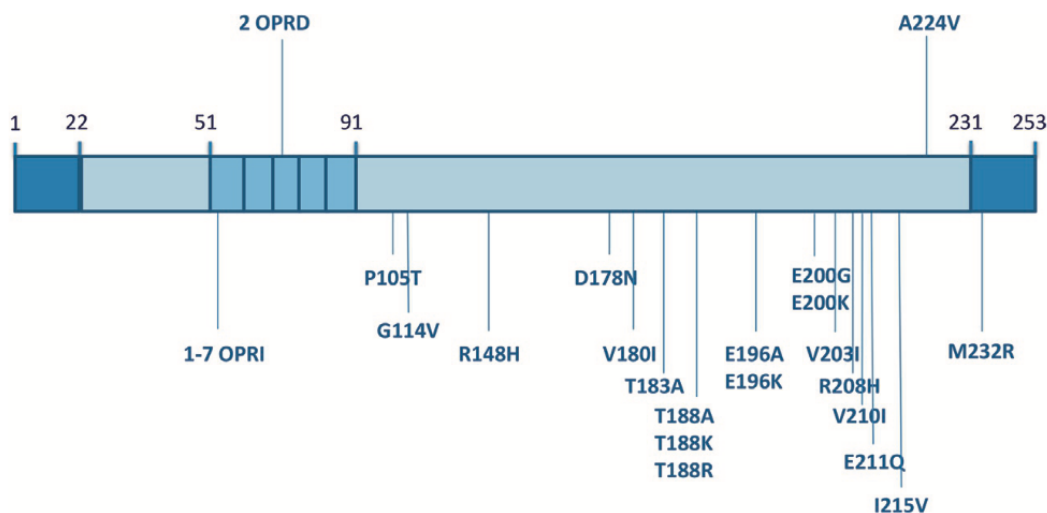


Figure 11 : Mutations de la PrP associées à la forme génétique de la MCJ. (19)

Il existe des polymorphismes pour le gène PRNP. Ces polymorphismes ne sont pas directement responsables de la maladie mais ils peuvent créer une susceptibilité. En effet, plusieurs études ont démontré que les sujets homozygotes Met/Met présentaient une plus grande susceptibilité à déclencher la maladie. (20)

Cette forme génétique est héréditaire car elle suit une transmission autosomale dominante, ce qui signifie que si l'un des deux parents possède cette mutation, l'enfant a 50% de chances d'hériter de la mutation lui aussi.

Cette forme est bien plus rare que la forme sporadique ; elle concerne environ 10 à 15% des cas de MCJ mais touche une population bien plus jeune (dû au caractère génétique héréditaire).

La symptomatologie et la durée de vie sont très variables et dépendent bien entendu de la mutation mais elles se rapprochent tout de même de la forme sporadique.

3. MCJ transmise

a. Iatrogène (interhumaine)

La MCJ étant une maladie contagieuse, elle peut donc en conséquence être acquise à travers l'environnement et les individus.

La transmission iatrogène se fait par le passage de la PrP^{Sc} dans l'organisme à l'occasion d'un acte médical comme la prise d'un traitement d'origine biologique ou un acte chirurgical avec du matériel contaminé.

La contamination par un traitement a été mise en avant lors d'une célèbre affaire liée à la commercialisation d'une hormone de croissance ayant contribué au décès de 115 personnes entre 1983 et 1985. Il s'est avéré que l'hormone de croissance en question était extraite de l'hypophyse prélevée sur des cadavres dont certains étaient contaminés par le prion.

En résulte une augmentation de la prévalence de la MCJ en France chez les jeunes enfants dans les décennies ayant suivi la prise de l'hormone. (4)

Depuis 1988 cette hormone de croissance n'est plus d'origine humaine mais provient de la génie génétique, éradiquant tout risque. (18)

Hormis l'hormone de croissance, un risque a également été identifié avec la greffe de dure-mère, qui aurait été imputée dans la survenue de 164 cas de MCJ dans le monde, justifiant son interdiction en France en 1994. (21)

Une deuxième voie de contamination est l'acte chirurgical. Lors d'une opération impliquant des actes sur le SNC (cerveau, moelle épinière) et mêmes ophtalmiques, les instruments chirurgicaux sont susceptibles d'être contaminés par le prion si le patient est infecté.

Si les instruments ne sont pas correctement stérilisés, le prion reste présent sur le matériel et pourra être transmis à un patient sain lors de leur prochaine utilisation.

Comme précisé dans la partie Etiopathologie, la PrPsc est résistante à de nombreuses méthodes de destruction, c'est pourquoi le matériel chirurgical des blocs de neurologie et d'ophtalmologie est traité selon un protocole très particulier dans le service de stérilisation de l'hôpital (stérilisation à l'autoclave à la chaleur humide à 134 degrés celsius pendant 18 minutes).

La symptomatologie est également comparable à la MCJ sporadique, hormis lorsque la contamination est périphérique où les symptômes semblent plus s'apparenter à ceux du Kuru (signes cérébelleux prédominants et démence tardive)

b. Variante de la MCJ (inter-espèce) (22) (15)

La variante de la MCJ est appelée ainsi car elle se différencie des autres formes par le fait qu'il s'agit d'une transmission inter-espèce et de la symptomatologie qui est légèrement différente.

La vMCJ est déclenchée à la suite de l'ingestion de viande animale infectée par un prion (principalement des abats d'origine bovine ou caprine). Le prion ingéré se réplique dans les organes lymphoïdes avant d'atteindre le SNC. (23)

On pense également que le déclenchement de la maladie serait tributaire d'une susceptibilité génétique liée au polymorphisme du gène PRNP sur le codon 129. En effet, tous les sujets diagnostiqués de v MCJ jusqu'à aujourd'hui étaient homozygotes Met/Met, hormis un cas hétérozygote décrit au Royaume-Uni en 2016. (24)

C'est cette forme de la MCJ qui est à l'origine du scandale de la vache folle évoqué dans la partie Histoire de la MCJ.

La vMCJ a pour particularité de toucher essentiellement les sujets jeunes (moins de 30 ans), comme pour la MCJ héréditaire.

Du point de vue de la symptomatologie, les premiers signes sont surtout psychiatriques (dépression, anxiété, fatigue...) puis au fil de l'évolution de la maladie, les troubles neurologiques finissent par apparaître (myoclonies, ataxie...) pour évoluer vers le stade du mutisme akinétique précédant le décès comme pour la MCJ sporadique.

De manière générale, les MCJ acquises ou transmises ont une évolution plus lente que la MCJ sporadique et peuvent ainsi s'étaler sur plus d'une année. Leur prévalence est exceptionnelle comparativement aux formes sporadiques ou génétiques.

C- Méthodes diagnostiques (18)

A l'heure actuelle, la seule méthode de diagnostic de certitude est une biopsie cérébrale post-mortem.

Toutes les autres méthodes décrites ci-après sont des méthodes d'orientation qui peuvent permettre de poser un diagnostic probable de MCJ.

1. Signes cliniques (25)

Aucun des signes cliniques n'est pathognomonique de la MCJ. Seule la chronologie d'apparition des symptômes et la rapidité de l'évolution peuvent être évocateurs.

Bien que la symptomatologie soit variable dans les différentes formes de MCJ, il est possible d'identifier un ensemble de symptômes couramment observés mais non systématiques :

- **Troubles neurocognitifs** : Ces troubles sont presque tous observés à un moment ou à un autre de la maladie, toutes formes confondues. Seule la chronologie d'apparition diffère. Ils sont généralement observés plus tardivement pour la vMCJ.
 - Mémoire défaillante
 - Perte de cognition sociale
 - Aphasie
 - Apraxie
 - Ataxie : ce symptôme est fréquemment observé au début de la forme iatrogène par contamination périphérique.
- **Troubles neurologiques** :
 - Myoclonies : ce symptôme est fréquemment présent dans la forme sporadique et peu observé dans la vMCJ.
 - Crises d'épilepsie
- **Troubles visuels / oculaires** :
 - Hallucinations
 - Diplopie
 - Baisse de l'acuité visuelle voire cécité
 - Nystagmus, troubles de l'oculomotricité : ce symptôme est fréquemment observé au début de la forme iatrogène par contamination périphérique.
- **Troubles psychiatriques** : dépression, anxiété, démence : ces symptômes sont particulièrement présents au début de la vMCJ.

Malgré les divergences de symptomatologie entre les différentes formes, toutes évoluent vers le stade final de mutisme akinétique précédant le décès.

2. Électroencéphalogramme (EEG)

L'EEG est un outil couramment utilisé dans le protocole diagnostique de la MCJ (Figure 14). Celui-ci permet d'observer la présence d'activités paroxystiques périodiques biphasiques (Figure 12) ou triphasiques (Figure 13) courtes généralisées associées à une dégradation ou ralentissement progressifs du rythme de base, évocateurs de la MCJ (excepté pour la vMCJ pour laquelle l'EEG n'est jamais periodique. (25)

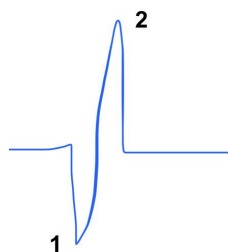


Figure 12 : Onde biphasique

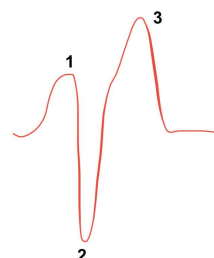


Figure 13 : Onde triphasique



Figure 14 : EEG d'une patiente atteinte de MCJ avec ondes triphasiques en rouge et ondes biphasiques en bleu

De la même façon, ces observations ne sont en aucun cas spécifiques à la MCJ et doivent être analysées en parallèle des signes cliniques et biochimiques.

Une étude menée sur 29 patients dont 15 avaient un diagnostic de MCJ et les 14 autres une démence progressive autre que la MCJ, a permis de montrer que l'analyse de l'EEG seule attestait d'une sensibilité de 67% et une spécificité de 86%. (26)

3. Imagerie par résonance magnétique

L'IRM peut être réalisée pour compléter l'EEG mais elle n'est pas systématique. En pratique, on évoquera une MCJ à l'observation d'hypersignaux provenant du noyau caudé et du putamen dans les séquences pondérées en T2, FLAIR et DWI (Figure 15). Au terme de la maladie, la spongiose devient également visible à l'IRM.

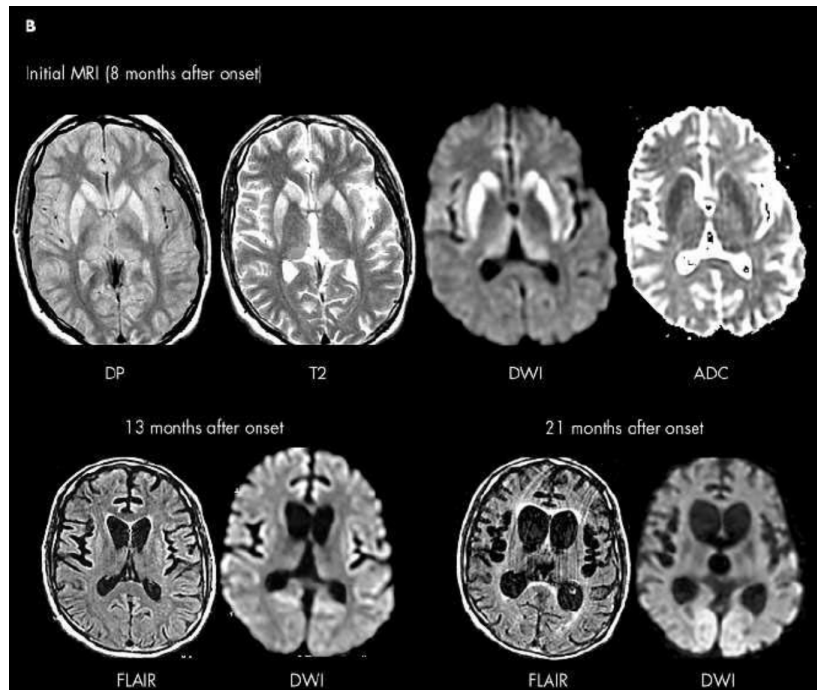


Figure 15 : Résultats de l'imagerie par résonance magnétique (IRM) dans un cas de maladie de Creutzfeldt-Jakob iatrogène. (27)

8 mois après le début de la maladie, une augmentation prononcée du signal sur les séquences pondérées en T2, FLAIR et DWI a été observée de manière bilatérale et symétrique dans le striatum et les thalami, avec une diminution des valeurs ADC.

Dans le cadre d'une vMCJ, un signe distinctif apparaît couramment, c'est le "pulvinar sign", désignant un hypersignal provenant du thalamus postérieur souvent associé à la forme d'une crosse de hockey (hockey stick sign) (Figure 16). (28)

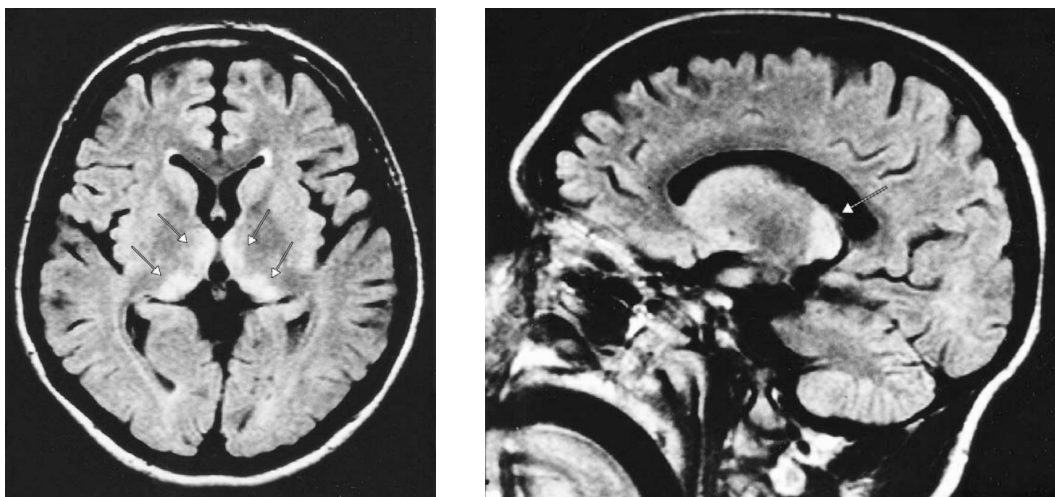


Figure 16 : Coupes IRM FLAIR in vivo d'un cas de vMCJ confirmé histologiquement (29)

A gauche : Coupe axiale montrant un signal élevé caractéristique dans le pulvinar et les noyaux dorso-médians du thalamus donnant le signe de la "crosse de hockey". A droite : Coupe sagittale montrant un bord antérieur bien défini des modifications thalamiques.

L'IRM dispose d'une bonne sensibilité et spécificité dans le diagnostic de la MCJ : respectivement 91 et 96%. (26)

4. Analyse du liquide céphalo-rachidien (LCR)

Le LCR constitue un prélèvement de choix dans le diagnostic de la MCJ car il est susceptible de contenir de nombreux marqueurs de la maladie, détaillés ci-après :

L'un de ces marqueurs est la protéine 14 : 3 : 3. Cette protéine est ubiquitaire et dispose de 7 isoformes. Elles sont présentes principalement dans les neurones où elles régulent des fonctions essentielles comme la transduction ou l'apoptose. Du fait de leur présence importante dans les neurones, elles sont utilisées en tant que marqueurs de la destruction neuronale. (30)

Cela explique également le fait qu'elles peuvent être augmentées dans plusieurs pathologies impliquant une destruction neuronale, autres que la MCJ.

Cette protéine a été mise en évidence dans les années 90 pour sa présence anormalement élevée dans le LCR des patients atteints de MCJ sporadique. (31)

Pour effectuer ce dosage, on réalise une ponction lombaire du patient suspecté de MCJ, puis on effectue un dosage immunoenzymatique ELISA ou Western Blot après centrifugation. (32)

Ce test dispose d'une bonne sensibilité et spécificité (respectivement 93% et 92% (33)) mais il est à mettre en perspective avec les données obtenues des autres tests diagnostiques précédemment cités.

Le dosage de la protéine 14 3 3 est réalisé conjointement à celui des protéines S100b et Tau qui peuvent également voir leur concentration augmenter dans le LCR dans le cas d'une MCJ. (34)

Deux autres techniques récentes sont basées sur la détection *in vitro* de la PrPsc directement dans le LCR des patients suspectés. (35)

La première technique à avoir été mise au point est la Protein Misfolding Cyclic Amplification (PMCA) dans les années 2000. Le principe est de mettre une faible quantité de PrPc en présence de PrPc puis d'alterner entre des cycles de sonication et d'incubation. Ce modèle acellulaire exploite la capacité de la PrPc à convertir la PrPc de façon exponentielle, permettant ainsi l'amplification de la PrPsc pour effectuer une analyse en western blot. Le principal facteur limitant de cette technique est la sonication qui présente des problèmes de reproductibilité (du à la variation de l'énergie vibratoire) d'un échantillon à l'autre et le temps nécessaire au Western blot.

Ainsi fut développée en 2007 la seconde technique ; la Real-Time Quaking-Induced Conversion (RT-QuIC). Cette fois-ci la PrPsc n'est pas mise en contact avec la PrPc mais de la PrP recombinante issue de la bactérie *E. Coli*.

De la thioflavine T, un marqueur fluorescent est ajouté au mélange qui est ensuite soumis à des cycles d'agitation, afin d'encourager la formation d'agrégats de fibrilles de PrPsc auxquels la thioflavine T. se fixe spécifiquement.

Ainsi, la détection de la PrPsc se basera sur l'émission de fluorescence et non sur un Western blot comme pour la PMCA.

5. Genotypage (11)

Le genotypage ne constitue pas un élément de diagnostic en soi car il n'est nullement une conséquence de la MCJ mais sa détermination peut aider à renforcer une suspicion de MCJ chez un patient présentant d'autres signes (cliniques ou biologiques).

Comme expliqué précédemment, le gène PRNP codant pour la PrP situé sur le chromosome 20 au locus p12-ter est sujet à de nombreux polymorphismes mais peut

également subir des mutations.

Le génotypage peut ainsi permettre de :

- Rechercher une mutation qui serait responsable d'une forme sporadique ou génétique de la maladie (ex : mutation au codon 200 lié au remplacement d'une lysine par glutamate).
- Identifier le polymorphisme du codon 129 afin de connaître la susceptibilité de l'individu à contracter une forme transmise ou sporadique de la maladie.

Le tableau 1 ci-dessous donne un aperçu de la fréquence de certaines mutations génétiques en lien avec l'âge et la durée de la maladie des patients porteurs de ces mutations.

Mutation	n	Âge moyen	Durée maladie (mois)
MCJ génétique			
Codon 200 - E200K	50	61,6	5,8
Codon 178 (V au 129) - D178N-129V	8	50,7	20,6
Codon 210 - V210I	6	64,3	4,7
Codon 203 - V203	3	77,0	3,3
Codon 211 - E211Q	2	68,0	18,5
Codon 208 - R208H	1	61,0	4,0
Codon 196 - E196K	1	70,0	13,0
Codon 180 - V180I	1	70,0	46,0
Insert 24 pb	2	69,0	3,0
Insert 96 pb	1	82,0	4,0
Insert 144 pb	1	48,0	86,0
Insert 192 pb	1	37,0	56,0
SGSS			
Codon 102 - P102L	3	56,7	48,7
Codon 117 - A117V	3	45,0	53,0
IFF			
Codon 178 (M au 129) - D178N-129M	6	42,8	11,8

Tableau 1 : Mutations et principales caractéristiques des formes génétiques de maladies à prions identifiées en France. (25)

6. Biopsie d'amygdale pharyngé

Ce test n'est pas effectué en routine car c'est un geste invasif pouvant être douloureux pour le patient et s'accompagnant d'un risque hémorragique.

Sa réalisation doit être justifiée par un tableau clinique très évocateur d'une vMCJ dans les symptômes ou encore la présence du "pulvinar sign" à l'IRM.

Le principe se base sur la détection de la PrPsc dans le tissu lymphoïde par immunohistochimie et western blot.

La biopsie d'amygdale n'est positive que dans la vMCJ et jamais dans les autres formes de maladies à prions.

Pour résumer et conclure cette première partie voici un tableau récapitulatif des caractéristiques cliniques et biologiques de chaque forme de MCJ et de leurs spécificités diagnostiques.

	MCJ sporadique	MCJ génétique ou héréditaire	MCJ iatrogène	vMCJ
Origine	Mutation génétique	Mutation génétique héritée	Contamination inter-humaine	Contamination inter-espèce
Fréquence	90%	10%	Exceptionnel	Exceptionnel
Age moyen	Âgé (60 ans)	Adulte (50 ans)	Variable	Jeune (30 ans)
Tableau clinique	Au début : Ataxie, démence Evolution variable	Dépend de la mutation	Au début : Ataxie, démence Evolution variable	Au début : troubles psychiatriques (dépression, anxiété)
Espérance de vie	6 mois	Plusieurs années	Entre 16 et 18 mois	
EEG	Complexes biphasiques / triphasiques périodiques courts + dégradation progressive du rythme de base			Pas de périodicité
IRM	Hypersignaux des noyaux gris centraux			Pulvinar sign (hockey stick sign)
Protéine 14:3:3	Détectée dans 90% de cas	Fréquence de positivité inconnue		Détectée dans 50% des cas
Génotypage PRNP	Présence d'une mutation	Présence d'une mutation	codon 129 : allèles Met/Met dans 53% des cas	codon 129 : allèles Met/Met dans 100% des cas
Biopsie amygdale	Négative	Négative	Négative	Positive

Tableau 2 : Résumé des caractéristiques cliniques et biologiques pour chaque forme de MCJ et leurs spécificités diagnostiques.

IV - Les axes de recherche préclinique et clinique

A l'heure actuelle, toutes les sources s'accordent à dire qu'il n'existe aucun traitement pour la MCJ et que la prise en charge a pour seul but de soulager les symptômes et s'assurer de la meilleure qualité de vie possible pour le patient.

Initialement, avant la découverte de la nature protéique de l'agent causal de la MCJ, celui-ci était qualifié de "virus non conventionnel". Par conséquent, les traitements à l'essai étaient essentiellement des antiviraux tels que l'aciclovir, l'amantadine, la vidarabine, le methisoprinol... (36). Ces traitements n'ayant prouvé aucune efficacité et ne prenant pas en compte la nature protéique du prion, ils ne seront pas détaillés dans ce travail.

A- Prévention de conversion de la PrpC en PrPSc

1. Le Rouge Congo

Le Rouge Congo est un colorant organique diazoïque rouge en solution alcaline et bleu en solution acide (Figure 17). (37) Il a été synthétisé pour la première fois en 1884 par un chimiste allemand et a été nommé ainsi en raison de l'exploration de cette région d'Afrique Centrale la même année. (38)

Ce composé est utilisé en médecine pour le diagnostic d'amylose et pour des traitements antihémolytiques et détoxifiants. Il était également utilisé pour teindre le coton, la laine et le papier mais ce n'est plus vraiment le cas aujourd'hui à cause de sa toxicité. (39)

En effet, le Rouge Congo comprend une structure benzidine, connue pour être cancérogène de catégorie 1 pour l'homme depuis 2005. (40)

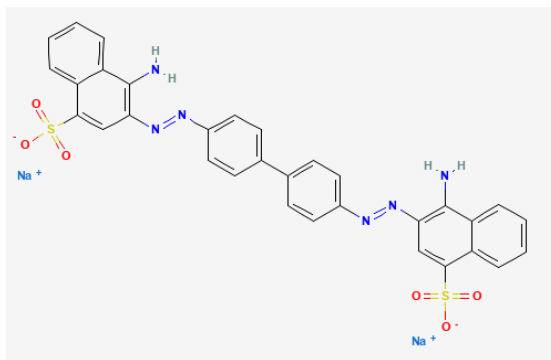


Figure 17 : Molécule de Rouge Congo (41)

En 1983, Stanley B. Prusiner (prix nobel suite à sa découverte des prions) découvre que le Rouge Congo se lie à la PrPSc. (42)

Successivement à cette découverte, Caughey et al. décident en 1992 d'explorer les effets du Rouge Congo à travers sa liaison avec la PrPSc.

Ils observent alors que le Rouge Congo inhibe fortement l'accumulation de PrPSc, sans affecter le métabolisme de l'isoforme normale dans les cellules de neuroblastomes infectées par la tremblante (Figure 18). (43)

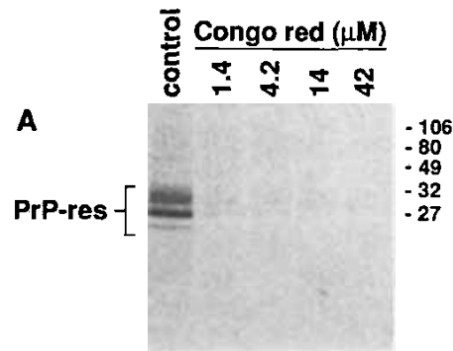


Figure 18 : Effet du rouge Congo sur le marquage métabolique de la PrP-res (43)

Le mécanisme par lequel le Rouge Congo empêche l'accumulation de PrPsc dans les cellules infectées est encore mal connu aujourd'hui mais une étude suggère qu'il inhibe la nucléation des fibrilles. L'inhibition de la nucléation peut se produire en empêchant le mauvais repliement par la liaison et la stabilisation de la PrP monomérique ou en perturbant les semences de fibrilles. (44)

Cependant, malgré ces résultats très encourageants, le Rouge Congo ne peut passer la BHE et sa toxicité a conduit à l'abandon de cette piste thérapeutique au profit d'analogues moins toxiques. (45)

2. La Quinacrine

L'une des molécules les plus populaires dans l'histoire de la recherche d'un traitement pour la MCJ est la quinacrine (Figure 19).

Cette molécule a été découverte en 1932 par des chercheurs du laboratoire Bayer qui l'ont commercialisée sous le nom Atabrine (appelé Mepacrine à partir de 1941) contre le paludisme. La quinacrine est un médicament dérivé de l'acridine utilisé initialement en tant qu'antipaludéen mais rapidement remplacé par des molécules plus efficaces et moins toxiques comme la chloroquine.

Par la suite, il a été utilisé en tant que :

- antihelminthique (en particulier contre les Cestodes),
- antiprotozoaire (en particulier contre les giardoses et leishmannoses cutanées)
- agent antineoplasique (contre certains types de tumeurs malignes)
- antirhumatique

Même si l'on suppose que cet antiparasitaire cible la membrane cellulaire des protozoaires, son mécanisme exact demeure inconnu à l'heure actuelle.

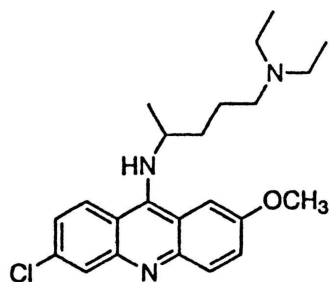


Figure 19 : Molécule de quinacrine (46)

La quinacrine est un agent lysosomotrope, ce qui signifie qu'elle dispose d'une propriété intéressante à pénétrer les lysosomes. Or, comme expliqué un peu plus tôt, le système lysosomal agit comme un bioréacteur pour la transformation de la PrP normale en isoforme anormale. (12) De plus, la quinacrine est capable de traverser la BHE, facilitant son administration lors des essais précliniques et cliniques.

C'est cette propriété de lysosomotropie qui a incité la communauté scientifique à s'intéresser à cette molécule à travers des essais *in vitro* (Tableau 3).

	K. Doh-Ura et al (47) 2000	C. Korth et al. (46) 2001	A. Barret et al. (48) 2003
Lignées	ScN2a*	ScN2a	ScN2a, N2a58/22L**, ScGT1***
Méthode	Les cellules ont été traitées avec différentes concentrations pendant 4 jours et le dosage de PrPsc est ensuite réalisé par immunoblotting	Les cellules ont été traitées avec différentes concentrations pendant 7 jours et le dosage de PrPsc est ensuite réalisé par western blot.	Les cellules ont été traitées 1 fois / jour pendant 3 jours avec de la quinacrine à différentes concentrations
Résultats	La quinacrine a montré la meilleure IC50 (0,4 µM)	Inhibition de la conversion de PrPc en PrPsc 10 fois > à la chlorpromazine. Démonstration de l'importance de la chaîne aliphatique latérale liée à l'atome d'azote en position 9 dans l'activité anti-prion de la quinacrine. La quinacrine a montré la meilleure IC50 à 250 nM	Confirme le rôle inhibiteur de la quinacrine dans la conversion de PrPC en PrPsc. La quinacrine inhibe l'accumulation de PrPsc de manière significative à partir de 0,4 µM. La quinacrine est moins efficace pour inhiber l'accumulation de PrPsc dans les cellules ScGT1 même à 4 µM (2 µg/ml), correspondant au seuil de cytotoxicité.

Tableau 3 : Essais *in vitro* conduits sur la quinacrine

* **ScN2a** = cellules de neuroblastome infectées par des prions de la souche RML de souris

** **N2a58/22L** = cellules dérivées de la lignée cellulaire de neuroblastome de souris N2a transfectées avec l'ADNc de PRNP de souris de type sauvage (clone 58) infectées par la souche 22L de la tremblante adaptée à la souris.

*** **ScGT1** = lignée cellulaire immortalisée à partir de neurones d'hypothalamus murin

En résumé, les études sur modèles cellulaires ont mis en avant l'activité anti prion de la quinacrine, justifiant la réalisation d'études sur le modèle animal.

Cependant, lorsque les études se sont poursuivies chez le rongeur, les résultats sont allés à l'encontre des précédentes conclusions (Tableau 4).

	S. J. Collins et al. (49) 2002	A. Barret et al. (48) 2003	K. Doh-Ura et al. (50) 2004
Modèle animal	Souris Balb/c	Souris C57BL6	Souris Tg7
Paramètre étudié	Survie des animaux	Accumulation de PrPsc dans la rate	Prolongation de la durée d'incubation
Effectif	8 souris / groupe	5 souris / groupe	5 à 10 souris / groupe
Groupes	<u>Groupe 1</u> = Groupe témoin <u>Groupe 2</u> = Traité par quinacrine 5 jours PI <u>Groupe 3</u> = Traité par quinacrine 65 jours PI	<u>Groupe 1</u> = Groupe témoin <u>Groupe 2</u> = Traité par quinacrine (10 mg/kg) <u>Groupe 3</u> = Traité par Chlorpromazine (5 mg/kg) <u>Groupe 4</u> = Traité par quinacrine + Chlorpromazine	<u>Groupe 1</u> = Groupe témoin <u>Groupe 2</u> = Traité par quinacrine 10 jours PI <u>Groupe 3</u> = Traité par quinacrine 35 jours PI
Méthode	Inoculation des 3 groupes par voie ICV avec des homogénats dilués de cerveaux de souris décédées d'une encéphalopathie spongiforme. La quinacrine a été administrée aux groupes 2 et 3 par gavage 5 jours / semaine avec une dose de charge de 20 mg/kg/j au 1 ^{er} jour puis 10 mg/kg/j.	Inoculation des 4 groupes avec la tremblante (souche 6PB1) par voie IP. La quinacrine a été injectée par voie IP au lendemain de l'inoculation pour une durée de 3 semaines, au terme desquelles les animaux ont été sacrifiés. La rate a été prélevée pour rechercher l'accumulation de la PrPsc par densitométrie optique.	Inoculation des 3 groupes avec la tremblante (souche 263K) par voie ICV. Injection ICV de la quinacrine via une pompe osmotique dans la partie frontale gauche pour une durée de 4 semaines et à différentes concentrations.
Résultats	Aucune différence significative dans la survie des animaux entre les 3 groupes.	Aucun effet bénéfique sur l'accumulation de PrPsc chez les souris traitées par rapport au groupe témoin.	Aucune prolongation de la durée d'incubation par rapport au groupe témoin.

Tableau 4 : Essais *in vivo* (chez l'animal) conduits sur la quinacrine

En parallèle de ces études sur les modèles cellulaires et murins, des médecins de l'Université de Californie à San Francisco commencent des essais cliniques sur des patients atteints de MCJ avec la quinacrine et la chlorpromazine, en se basant sur les résultats encourageants des modèles cellulaires.

Les médias ont révélé que parmi les patients ayant commencé le traitement, l'un d'entre eux, Rachel Forber, une Britannique de 20 ans atteinte d'une vMCJ probable, a montré une amélioration clinique substantielle. La patiente aurait commencé le traitement en juillet 2001 et aurait retrouvé la capacité de parler et de se nourrir. Rachel Forber est malgré tout décédée en novembre de la même année. (51)

Cet évènement a malgré tout incité la recherche à poursuivre les essais cliniques avec la quinacrine et a motivé l'AFSSAPS (aujourd'hui l'ANSM) à autoriser l'administration de quinacrine chez les patients atteints de MCJ à titre compassionnel dans le cadre d'une ATU en août 2001. Ainsi, 3 études majeures ont été réalisées chez l'homme (Tableau 5).

	S. Haik et al. (52) 2004	J. Collinge et al. (53) 2009	M. D. Geschwind et al. (54) 2013
Effectif	Total : n=32 - MCJ sporadique (sMCJ) : n=30 - vMCJ : n=2	Total : n=107 - sMCJ : n=45 - vMCJ : n=18 - MCJ génétique (gMCJ) : n=42 - MCJ iatrogène (iMCJ) : n= 2	n= 51 (MCJ sporadiques uniquement)
Type d'étude	Cas-témoin	Essai ouvert, avec prise en compte des préférences des patients	Double aveugle, contrôlé par placebo, avec randomisation stratifiée
Critère d'évaluation primaire	Survie	Survie	Survie
Critères d'évaluation secondaires	Rankin scale Lésions cérébrales Accumulation de PrPsc dans le cerveau Suivi des effets indésirables	Evolution clinique (amélioration clinique ou absence de détérioration) Événements indésirables graves	Evolution des capacités neurocognitives Suivi des effets indésirables
Répartition des groupes	<u>Groupe 1</u> = Témoin sans traitement (données provenant du Réseau national de surveillance de la maladie de Creutzfeldt-Jakob en France) <u>Groupe 2</u> = Traité par quinacrine (n=32)	<u>Groupe 1</u> = Traité par quinacrine (n=40) <u>Groupe 2</u> = Aucun traitement (n=66) <u>Groupe 3</u> = Randomisation (n=2)	Pour les 2 premiers mois : - <u>Groupe 1</u> = Traité par quinacrine (n=23) - <u>Groupe 2</u> = Placebo (n=28) Après les 2 premiers mois : - <u>Groupe 1</u> = Continué avec quinacrine (n=10) - <u>Groupe 2</u> = Continué avec placebo (n=5) - <u>Groupe 3</u> = Initialement traité par quinacrine et ayant arrêté (n=3) - <u>Groupe 4</u> = Initialement placebo et ayant souhaité avoir la quinacrine (n=14)
Administration de la quinacrine	Dose de charge de 200 mg par voie orale toutes les 6h puis 100 mg 3 fois par jour.	Dose de charge de 200 mg par voie orale toutes les 6h puis 100 mg 3 fois par jour.	Dose de charge de 200 mg par voie orale toutes les 6h puis 100 mg 3 fois par jour. <i>Les sujets ont été supplémentés avec du bicarbonate de sodium afin de prévenir les troubles gastro-intestinaux.</i>

Méthodes d'évaluation	<p>Rankin scale tous les 30 jours (de R1 = pas de handicap à R6 = alité)</p> <p>Numération globulaire + taux de transaminase contrôlés après 15 et 30 jours, puis tous les mois.</p> <p>Etude post-mortem du cerveau : génotypage des patients SMCJ, scorage des lésions et comparaison avec des cerveaux de patients MCJ non traités en fonction du génotype.</p>	<p>A t0 puis tous les 1, 2, 4 et 6 mois puis tous les 3 mois :</p> <ul style="list-style-type: none"> - NFS, biochimie - Examen clinique et neurologique - Evaluation cognitive (incluant : MMSE, ADAS-cog, GCS, CDR, CIBIC-P-plus, BPRS, Rankin scale et Barthel activities of daily living index) 	<p>Suivi par appels téléphoniques toutes les 2 semaines les 2 premiers mois afin de recueillir :</p> <ul style="list-style-type: none"> - MMSE - CDR-SB - Modified Barthel index - Rankin scale - Tests neuropsychologiques - EI potentiels <p>Au 2^{ème} mois, les patients du groupe 2 ont eu la possibilité de recevoir la quinacrine s'ils le souhaitaient (100 mg 3 fois / jour sans dose de charge) et les patients du groupe 1 pouvaient arrêter le traitement s'ils le souhaitaient.</p> <p>Après les 2 premiers mois, les tests de référence ont été effectués à 6 et 12 mois puis tous les 3 mois.</p>
------------------------------	--	--	--

Tableau 5 : Essais conduits sur la quinacrine chez l'homme

MMSE : mini mental state examination, range 0–30;11

ADAS-cog : cognitive component of the Alzheimer's disease assessment scale, range 0–75

GCS : Glasgow coma score, range 3–15

CDR : clinical dementia rating, range 0–18

CIBIC-P-plus : clinician-interview-based impression of change plus carer input, range 1–7

BPRS version 4 : brief psychiatric rating scale, range 24–168

Barthel activities of daily living index, range 0–20

Résultats de l'étude de S. Haik et al :

- Survie :

S. Haik et son équipe ont réalisé une comparaison du temps de survie moyen entre leurs patients atteints de MCJ sporadique traités par quinacrine et des patients atteints de MCJ sporadique non traités en fonction du polymorphisme sur le codon 129 du gène PRNP. Les cas de sMCJ non traités étaient des patients atteints de sMCJ probable ou certaine notifiés au Réseau national de surveillance de la maladie de Creutzfeldt-Jakob en France au cours de la période considérée (d'août 2001 à fin 2002).

Patients	Survival, mo			
	Met/Met	Met/Val	Val/Val	All
Treated sCJD patients, Aug. 2001 to Dec. 2002	7.3 ± 1.4 (n = 12) (44%)	12.9 ± 2.0 (n = 8) (30%)	7.9 ± 1.6 (n = 7) (26%)	8.8 ± 0.9 (n = 30)
Untreated sCJD patients, Aug. 2001 to Dec. 2002	5.5 ± 0.6 (n = 56) (59%)	14.0 ± 2.1 (n = 20) (21%)	6.0 ± 0.7 (n = 19) (20%)	7.0 ± 0.6 (n = 125)

Tableau 6 : Durée de survie en mois des patients traités et non traités atteints de la sMCJ en fonction des génotypes du codon 129

D'après le tableau 6, on peut voir une légère amélioration de la survie des patients traités pour les génotypes homozygotes Met/Met et Val/Val. Cependant, cette amélioration n'est pas suffisante pour être qualifiée de significative par les auteurs. La durée de survie est plus longue de manière générale pour le génotype hétérozygote Met/Val, qui était déjà soupçonné d'être lié à une plus grande longévité dans la MCJ. D'après ces résultats, les auteurs en ont conclu qu'il n'y avait pas de différence significative de survie entre les patients traités et non traités ($p > 0.1$).

Le tableau 7 ci-dessous compare différents paramètres évalués entre les cas de sMCJ et vMCJ traités par quinacrine :

	sMCJ	vMCJ
Délai moyen entre le diagnostic et l'initiation du traitement en mois (étendue)	6,4 (1-17)	11,5 (9-14)
Durée moyenne du traitement en jours (étendue)	36 (1-265)	64 (51-77)
Intervalle moyen entre l'arrêt du traitement et la mort en jours (étendue)	40,1 (0-176)	58,5 (15-102)
Survie moyenne en mois (étendue)	8,8 (2-22)	15,5 (12-19)

Tableau 7 : Comparaison des résultats de l'étude de S. Haik et al. entre les cas de MCJ sporadiques et vMCJ traités par quinacrine

Aucune p-value ni interprétation n'est fournie par les auteurs quant aux différences observées ici. Cependant, la survie moyenne semble plus longue chez les patients vMCJ, potentiellement en lien avec une durée moyenne de traitement plus longue également.

- Paramètres neurocognitifs, tolérance et analyse neuropathologique post-mortem :

	MCJ sporadique	vMCJ
Evolution du Rankin scale	<p>Resté stable pour 9 patients (3 dans un état de coma, 5 en R6, 1 en R5)</p> <p>Aggravation pour 5 patients (2 de R5 à R6, 2 de R3 à R6 et un de R3 à R5).</p> <p>Absence de valeur pour 14 patients chez qui le traitement a été interrompu avant la 1^{ère} évaluation en raison : - du décès (n=5) - d'effets secondaires (n=5) - d'un état clinique grave (n=4)</p>	<p>1 est resté stable (coma)</p> <p>L'autre a vu son état s'aggraver de R5 à R6.</p>
Effets secondaires	<p>Elévation des transaminases (n=6) Éruption cutanée (n=2) Intolérance digestive (n=1) Leucopénie (n=1)</p>	
Comparaison des lésions cérébrales	<p>La répartition des lésions était comparable chez les patients traités et non traités. Chez les patients traités par quinacrine et de génotype Met/Met, l'intensité des lésions était significativement augmentée dans différentes régions du cerveau (p<0.05).</p>	
Comparaison de l'accumulation de PrPsc dans le cerveau	<p>Dans les cas traités de sCJD et de vMCJ, le dépôt de la PrPsc n'a pas pu être distingué de celui des cas non traités qui correspondaient au même polymorphisme du codon 129. Les cas de vMCJ traités présentaient des dépôts de PrPsc intenses avec d'abondantes plaques florides.</p>	

Tableau 8 : Paramètres neurocognitifs, tolérance et analyse neuropathologique post-mortem des patients atteints de MCJ sporadique comparé aux patients atteints de vMCJ

Résultats de l'étude de J. Collinge et al. :

- Survie :

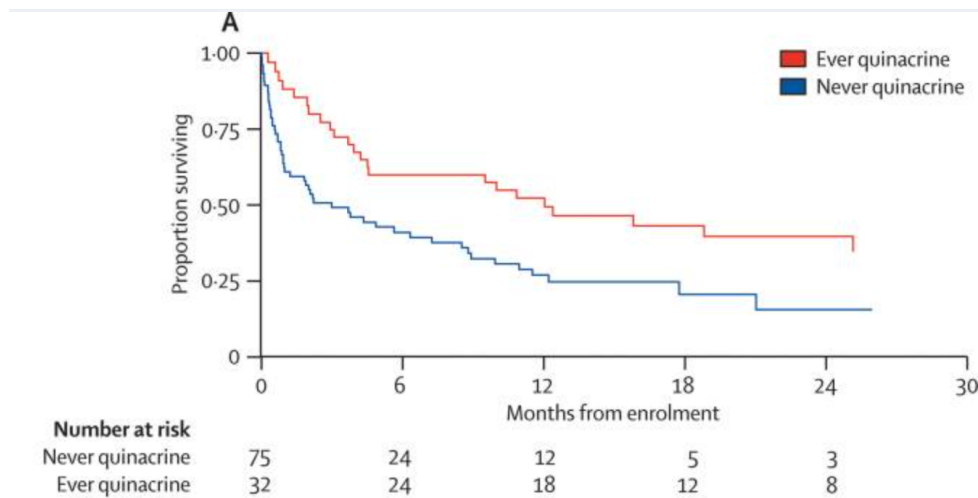


Figure 20 : Taux de survivants entre les groupes traités par quinacrine ou non traités au cours du temps (non ajusté)

Au premier abord, les données présentées dans la figure 20 semblent montrer que le groupe traité par quinacrine a pu bénéficier d'une meilleure longévité, cependant, cette observation est possiblement biaisée par une corrélation entre les caractéristiques neurocognitives des patients à t0 et leur choix de recevoir la quinacrine ou non.

En effet, les chercheurs ont pu observer un lien montrant que plus les capacités neurocognitives des patients étaient élevées à t0, plus ceux-ci étaient enclins à choisir la quinacrine. Par ailleurs, les patients avec les capacités les plus élevées au début de l'étude étaient souvent atteints de la forme héréditaire / génétique de la maladie, forme liée à la plus grande longévité parmi les 3.

Les chercheurs ont donc ajusté leur modèle en prenant en compte cette différence de longévité et leur conclusion a donc été qu'il n'y avait pas de différence significative de survie entre le groupe traité et celui non traité (p-value = 0,62).

- Paramètres neurocognitifs :

Pour être prise en compte dans les résultats de l'étude, une amélioration du score doit être observée sur deux échelles d'évaluation neurologique ou plus sans détérioration sur aucune autre échelle mesurée au même moment.

Dans le groupe traité par quinacrine, 4 patients ont eu une réponse transitoire à 1 ou 2 visites après le début du traitement (tous les 4 ont présenté une toxicité liée à la quinacrine). Ces données étaient encore en cours d'analyse au moment de la publication de l'article (Figure 21).

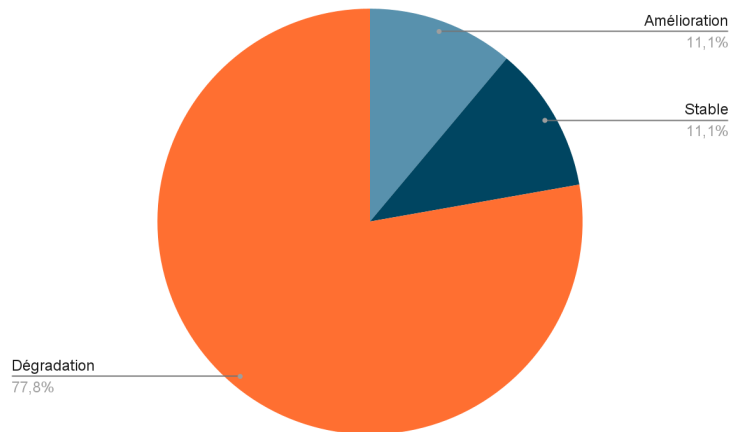


Figure 21 : Réponse globale basée sur des échelles d'évaluation neurologiques

- Tolérance :

Concernant les effets indésirables graves rapportés, ils sont au nombre de 9 (dont 5 ont mené à une hospitalisation) :

- Crise tonico-clonique (n=2)
- Hématémèse et/ou hématurie (n=2)
- Vomissements et dysphagie (n=1)
- Vomissements et pneumocystose d'aspiration (n=1)
- Infection des voies respiratoires basses (n=1)

Le taux d'effets indésirables graves dans le groupe traité par quinacrine était significativement plus élevé que dans le groupe non traité par quinacrine ($p=0-006$).

Le taux d'effets indésirables de grade 3 et 4 dans le groupe traité par quinacrine était très significativement plus élevé que dans le groupe non traité par quinacrine ($p<0-0001$).

Résultats de l'étude de M. D. Geschwind et al. :

- Survie :

La Figure 22 ci-dessous présente les résultats obtenus par M. D. Geschwind et son équipe pour le critère d'évaluation primaire qui était la survie d'abord aux terme des 2 premiers mois (figure A) et dans les 10 mois suivants (figure B) :

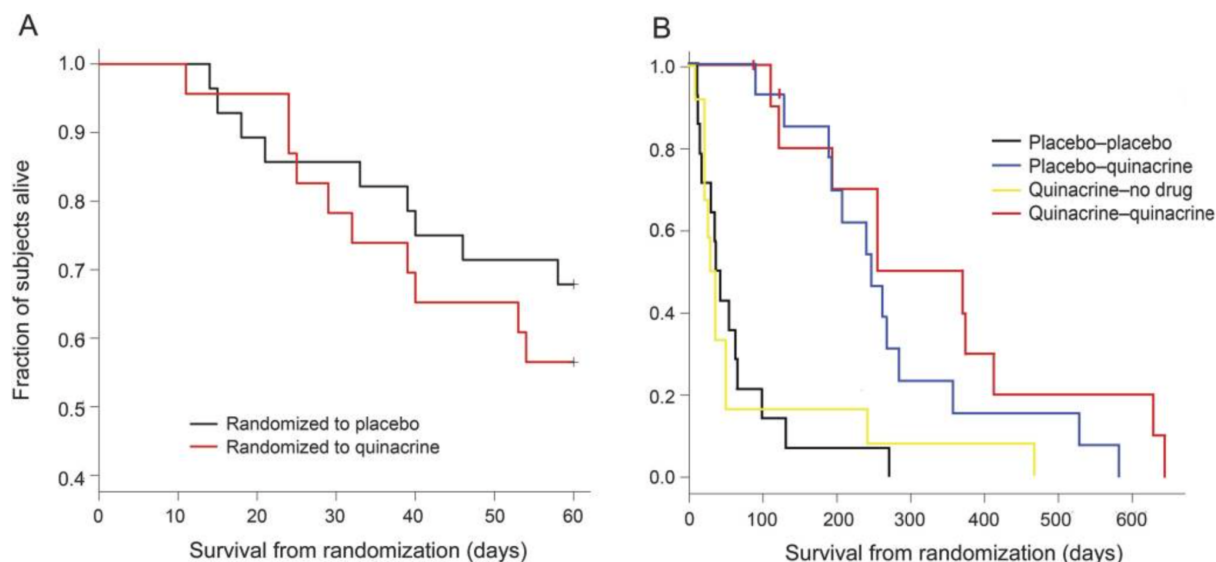


Figure 22 : Analyse de survie Kaplan-Meier de la ligne de base au 2^{ème} mois (A) et au décès ou fin de l'étude (B)

Concernant la survie aux 2 premiers mois, le groupe ayant reçu la quinacrine a enregistré un taux de survie de 57% contre 68% pour le groupe placebo. La différence entre les 2 groupes n'est pas considérée comme étant significative ($p = 0,43$).

Etant donné qu'il a été offert aux patients le choix de changer de groupe au terme des deux premiers mois, les groupes à analyser sont désormais les suivants :

- Ceux qui ont continué de prendre la quinacrine
- Ceux qui ont décidé de continuer à prendre le placebo
- Ceux qui ont initialement reçu la quinacrine et qui ont décidé de l'arrêter
- Ceux qui ont initialement reçu le placebo et qui ont décidé de recevoir la quinacrine

Les différences de survie que l'on peut voir sur la figure B ne sont pas significatives car l'étude n'étant plus randomisée, les capacités neurocognitives peuvent avoir un impact sur le choix du patient d'avoir la quinacrine ou non. Il est donc nécessaire d'ajuster le modèle en tenant compte de ces informations. Après ajustement, il a été déterminé qu'il n'y avait aucune différence significative de survie entre les patients ayant choisi de prendre la quinacrine après les 2 premiers mois et ceux qui ne l'avaient pas choisie ($p = 0,67$).

- Paramètres neurocognitifs :

Concernant le critère secondaire qui était l'évolution des capacités neurocognitives les chercheurs ont obtenu les résultats suivants (Figure 23) :

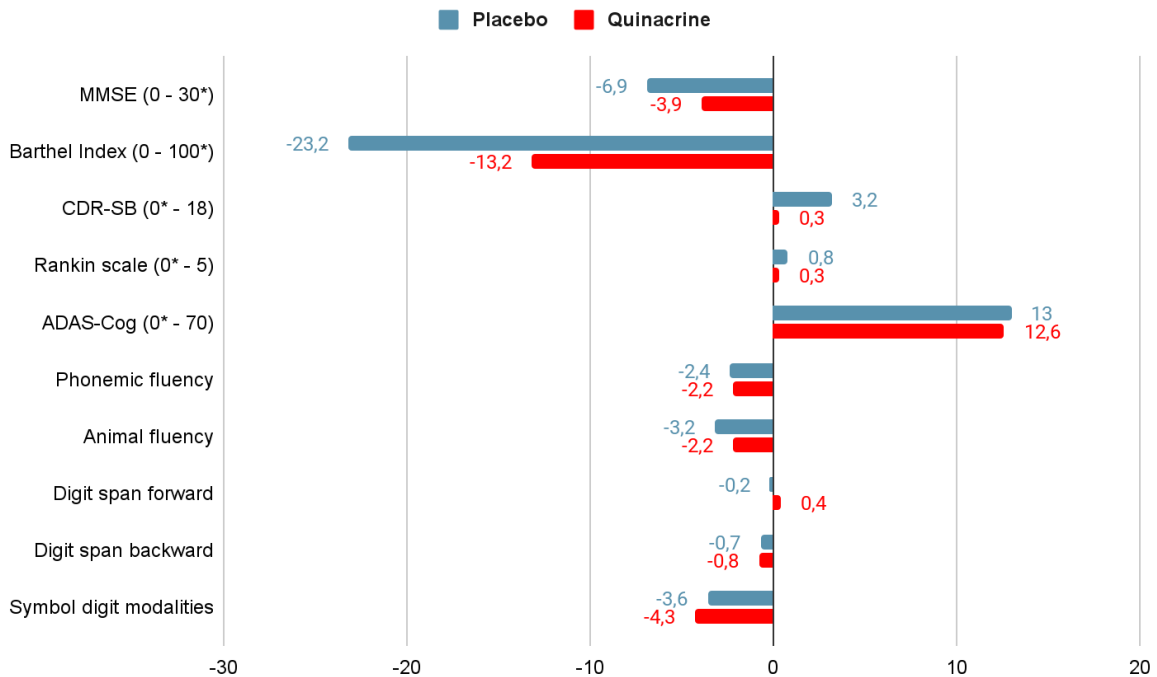


Figure 23 : Evolution des scores cognitifs et fonctionnels moyens après 2 mois chez les survivants

L'astérisque * donne une indication du meilleur score possible pour chaque test, correspondant à la plus faible (ou absence totale) de défaillance / handicap / incapacité

Le diagramme ci-dessus a pour but de représenter les moyennes des évolutions neurocognitives des patients de chaque groupe 2 mois après le début de l'étude, selon les valeurs références établies au début de l'étude.

Une différence légèrement significative a été constatée uniquement pour les tests Rankin scale ($p = 0.03$) et CDR-SB ($p = 0.01$).

Pour les autres tests, aucune différence significative n'est observable entre les 2 groupes (toutes les p-values sont > 0.05 pour chacun des tests).

- Tolérance :

Effets indésirables durant les 2 premiers mois :

Les chercheurs n'ont pas trouvé de différence significative dans leur nombre entre les 2 bras mais certaines différences ont été relevées dans leur nature :

- Les troubles hépatiques n'étaient observés que dans le bras quinacrine.
- Un seul effet indésirable grave (EIG) a été attribué à la quinacrine : une détresse gastro-intestinale sévère.

Ces effets ont conduit 22% des patients du bras quinacrine et 18% des patients du bras placebo à réduire la dose avant la fin du 2^{ème} mois.

Effets indésirables après les 2 premiers mois :

Les chercheurs ont observé beaucoup plus d'EI dans les 30 jours suivant la prise de quinacrine :

- Troubles hépatiques (12/27)
- Troubles gastro-intestinaux (5/27)
- 6 EIG ont été observés, parmi lesquels 5 sont survenus dans les 30 jours suivant la prise de quinacrine. Cependant, un seul (changement comportemental) a été déterminé comme étant possiblement ou probablement dû à la quinacrine.

Dans l'ensemble, les chercheurs ont conclu à une bonne tolérance de la quinacrine par les patients.

Pour conclure sur l'utilisation de la quinacrine dans le cadre de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, on peut affirmer rétrospectivement que les effets observés *in vitro* n'ont malheureusement pas pu être reproduits *in vivo* chez l'animal et chez l'homme.

Cependant, il est possible que la dose administrée *in vivo* ne soit pas suffisante pour atteindre des concentrations suffisamment efficaces sur le site d'action, dans le SNC.

En effet, la dose efficace permettant d'inhiber 50% de l'accumulation de PrPsc dans les modèles cellulaires serait de 120 ng/mL (0,3µM). Or, avec une dose orale de 300mg, on atteindrait entre 30-75 ng/L de quinacrine dans le LCR, ce qui n'est pas suffisant.

Il n'est pas non plus raisonnable d'augmenter la dose orale de quinacrine qui engendrerait des effets indésirables plus nombreux et plus graves.

Une possibilité aurait été de réaliser un essai avec une administration par voie ICV afin d'optimiser la concentration de quinacrine sur le site d'action sans engendrer les effets indésirables liés à l'administration systémique.

K. Doh-Ura et son équipe avaient déjà tenté cette voie d'administration chez des souris en 2004 sans observer d'effet significatif sur la durée d'incubation, mais il aurait été intéressant de réitérer cette expérience en prenant en compte les paramètres neurocognitifs, et pas seulement la survie.

La prise en compte des préférences des patients dans le choix du traitement (quinacrine ou placebo) rend l'interprétation des résultats plus délicate d'une part et la coloration jaunâtre de la peau liée à la prise de quinacrine est susceptible de lever l'aveugle d'autre part. Ces facteurs mettent en péril deux caractéristiques importantes pour la crédibilité des résultats d'une étude : la randomisation et l'aveugle.

De plus, certaines études ne prenaient pas en compte l'historique des traitements des patients souhaitant participer à l'étude, rendant possible le croisement avec d'autres molécules en essai clinique comme la flupirtine ou le pentosan polysulfate.

Tout ceci aboutit à un délaissement de la quinacrine par la communauté scientifique dans la recherche d'un traitement contre la MCJ au profit d'autres molécules ayant une activité anti-prion récemment découverte.

3. L'Amphotéricine B

L'amphotéricine B appartient à la famille des antifongiques polyènes (Figure 24). Elle est initialement découverte en tant que produit de fermentation naturel d'un actinomycète appelé *Streptomyces Nodosus* en 1953 puis Steinberg et al. mettent en lumière son pouvoir antifongique en 1956. (55)

Aujourd'hui, elle est utilisée comme traitement des infections fongiques invasives impliquant *Candida spp.*, *Cryptococcus spp.* et *Aspergillus spp.* principalement.

L'amphotéricine B est un traitement à marge thérapeutique étroite. La dose quotidienne recommandée varie de 0,7 à 1 mg/kg par jour pendant 2 à 4 heures selon la tolérance et l'administration se fait par voie intraveineuse mais aussi orale (uniquement dans le cas des candidoses oropharyngées). (56) (57)

L'amphotéricine B agit en se liant à l'ergostérol dans la membrane cellulaire de la plupart des champignons et provoque la formation de canaux ioniques entraînant une fuite de protons et de cations aboutissant à une dépolarisation et une destruction cellulaire dépendante de la concentration. De plus, l'amphotéricine B a un effet stimulant sur les cellules phagocytaires, ce qui contribue à l'élimination des infections fongiques.

L'amphotéricine B, qui est plus couramment administrée sous forme liposomale, présente une tolérance accrue et un profil de toxicité réduit.

Enfin, l'amphotéricine B produit également des dommages oxydatifs aux cellules avec formation de radicaux libres et augmentation ultérieure de la perméabilité membranaire.

La demi-vie de l'amphotéricine B est de 24 heures à 15 jours. (56)

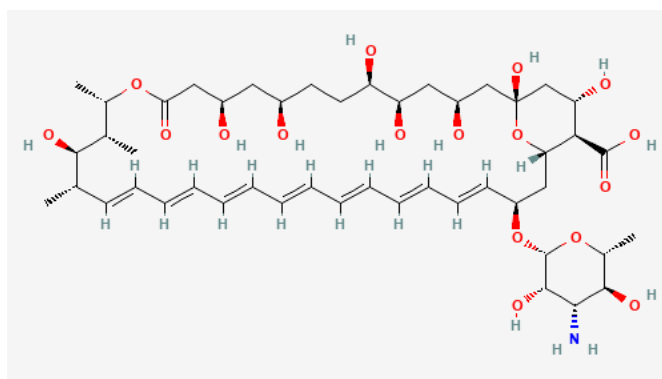


Figure 24 : Molécule d'amphotéricine B (58)

Le postulat initial ayant motivé la recherche à se pencher sur l'amphotéricine B dans le traitement des maladies à prions, était en lien avec l'un de ses effets indésirables : sa liaison avec le cholestérol des membranes plasmiques.

Cette liaison pourrait permettre de limiter la présentation de la PrPc à la membrane des cellules, et donc d'éviter sa conversion en PrPsc. (59) Ainsi, une étude *in vitro* a été menée afin de vérifier ces hypothèses (Tableau 9).

A. Mangé et al. (60) 2000	
Modèles	Partie I, II) et IV) : Cellules N2a et GT1-7 infectées par un prion (souche Chandler) Partie III) : Cellules S12 infectées par la tremblante
Partie I	Méthode : Ajout de 4,5 µg/ml d'AmB au milieu de culture à chaque passage cellulaire (tous les 3 à 5 jours) Les taux de PrPSc ont été analysés par Western blot après 5, 11 et 15 jours. Le rouge Congo a été utilisé comme contrôle positif, à 1 µg/ml, car il est connu pour inhiber la génération de PrPSc dans les cultures infectées
	Résultats : Après plusieurs jours de traitement, l'AmB a inhibé la synthèse de PrPSc, mais n'était pas aussi efficace que le Rouge Congo, car même après 27 jours de traitement avec le médicament, un faible niveau de PrPSc restait toujours détectable.
Partie II	Méthode : L'AmB et le Rouge Congo ont été arrêtés après 15 jours de traitement et les cellules ont été cultivées dans un milieu normal pendant 27 jours.
	Résultats : Après l'arrêt du traitement par AmB, le signal de la PrPSc est revenu à son niveau d'origine, contrairement au Rouge Congo qui avait définitivement stoppé la synthèse de PrPsc. Ainsi, à la concentration testée, AmB n'a pas été en mesure d'induire une guérison complète de l'infection.
Partie III	Méthode : Différentes concentrations ont été testées sur des cellules S12 infectées.
	Résultats : Une diminution du signal PrPSc a été observée à partir de 0,45 µg/ml. La plage de concentrations d'AmB testée ici n'a eu aucun effet évident sur la morphologie ou le taux de croissance des cellules, et un effet toxique significatif n'a été observé qu'à partir de 45 µg/ml.
Partie IV	Méthode : Pour analyser l'impact de l'AmB sur les microdomaines résistants aux détergents, des expériences de flottation ont été réalisées avec des cellules GT1-7 dans un système de gradient par paliers de saccharose.
	Résultats : Après traitement à l'AmB, les molécules de PrPC et de PrPSc se sont déplacées vers des fractions plus denses, traduisant une modification des propriétés des microdomaines résistants aux détergents

Tableau 9 : Essai *in vitro* conduit sur l'amphotéricine B

Les premières expériences menées sur l'animal furent réalisées par H. Amyx et al. dans un article intitulé « Essais chimiothérapeutiques dans les maladies virales lentes expérimentales » publié dans la revue *Neurology* en 1984.

Cet article semble être trop ancien pour être trouvé en ligne, mais d'après différentes sources, ils auraient observé un allongement de la période d'incubation chez les rongeurs (rats et hamsters) infectés par la tremblante par voie périphérique.

Par la suite, un certain nombre d'études sur les animaux ont été réalisées, montrant des retards assez importants dans l'apparition de la maladie, et une réduction de l'accumulation de PrPsc même chez les animaux infectés par voie intracérébrale (Tableau 10).

Etude	Méthodes	Résultats
M. Pocchiari <i>et al.</i> , 1987 (61)	<p>Injection d'AmB par voie IP à des hamsters syriens soit :</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Précoce</u> : en même temps que l'inoculation par voie ICV de la tremblante (263K) - <u>Tardive</u> : dès l'apparition de signes cliniques de la maladie <p>L'AmB a été injectée pendant différentes durées (50 à 100 jours) à la dose de 1 mg/kg/j. Le comportement des hamsters a été évalué de 1 à 5 (1 = pas de trouble / 5 = stade avancé de la maladie)</p>	<p><u>Injection précoce</u> : Les animaux traités par AmB ont présenté un délai d'incubation plus long par rapport au contrôle traité par NaCl ($p < 0,0001$)</p> <p><u>Injection tardive</u> : Aucune différence dans le délai d'incubation n'a été relevée par rapport au groupe contrôle. Toutefois, lorsque l'inoculation du prion était périphérique et non centrale, une différence importante était observée.</p>
M. Pocchiari <i>et al.</i> , 1989 (59)	<p>1) Injection d'AmB à différentes doses (de 0,1 à 63 mg/kg/j) 6 jours par semaine par voie IP à des hamsters syriens soit :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 2 semaines avant l'inoculation par voie ICV de la tremblante (263K) - en même temps que l'inoculation - 2 heures à 4 semaines après l'inoculation <p>2) Injection d'AmB par voie IP (1 mg/kg/j) à des hamsters syriens 40, 50 ou 60 jours après inoculation par la tremblante par voie IP. Le comportement des hamsters a été évalué de 1 à 5 (1 = pas de trouble / 5 = stade avancé de la maladie).</p> <p>3) Injection d'AmB par voie IP (1 mg/kg/j) à des hamsters syriens en même temps que l'inoculation par la tremblante par voie ICV. Sacrifice des animaux et analyse des cerveaux et des rates 10, 20, 30, 40, 50 jours PI.</p>	<p>1) L'AmB en IP a pu prolonger la période d'incubation des hamsters infectés par voie ICV par rapport au groupe témoin traité par NaCl, peu importe le moment de l'injection d'AmB par rapport à l'inoculation ($p < 0,001$).</p> <p>La dose de 10 mg/kg était mortelle pour la moitié des animaux.</p> <p>2) Seuls les animaux recevant l'AmB à partir du 40^{ème} jour PI ont présenté une augmentation significative ($p < 0,05$) du temps d'incubation par rapport aux témoins.</p> <p>3) L'AmB retarde la réplication de la tremblante dans le cerveau du hamster au cours des 50 premières journées PI. Cet article rapporte une relation linéaire entre les doses d'AmB et la durée des périodes d'incubation des animaux traités par rapport aux témoins</p>
Y.G. Xi <i>et al.</i> , 1992 (62)	L'infectivité de la tremblante a été mesurée dans les cerveaux de hamsters syriens traités à l'AmB (1 mg/kg/j) par voie IP et non traités à différents intervalles PI par la tremblante par voie ICV (souche 263K ou 139H)	Le traitement par AmB retarde d'environ 30 jours l'accumulation dans le cerveau de la partie de la PrpSc résistante à la PK, sans affecter la réplication de la tremblante. La conséquence est un allongement du temps

		d'incubation chez les hamsters traités par rapport aux témoins infectés par la souche 263K uniquement ($p < 0.001$). Ce résultat n'est pas observé pour la souche 139H, suggérant une spécificité de l'effet de l'AmB pour la souche de prion.
R. Demaimay <i>et al.</i> , 1994 (63)	1) Des hamsters ont été inoculés avec la tremblante par voie ICV et traités par 2,5 mg/kg/j d'AmB ou MS-8209 (dérivé d'AmB moins toxique) par voie IP durant la 1 ^{ère} semaine PI. Les hamsters ont ensuite été sacrifiés à 72 jours PI pour analyse des cerveaux.	Les hamsters traités par AmB ou MS-8209 présentaient un temps d'incubation plus long que les groupes témoins ($p < 0.03$) et une diminution de l'accumulation de PrPSc.
	2) Des souris C57BL/6 ont été inoculées avec la tremblante par voie IP et été traitées par voie IP du jour -7 au jour 40 PI à différentes doses de MS-8209 (0,25, 2,5 ou 25 mg/kg/j).	Une réponse dose-dépendante a été observée chez les souris traitées peu après l'infection expérimentale. À la dose de 2,5 mg/kg, le MS-8209 a prolongé de manière significative la période d'incubation de 11,9 % ($p < 0.05$).
	3) Des souris C57BL/6 ont été inoculées avec la tremblante par voie ICV et été traitées par voie IP à partir du même jour par du MS-8209 ou de l'AmB à la dose de 2,5 mg/kg/j.	Le MS-8209 et l'AmB ont prolongé la survie des animaux par rapport aux groupes contrôle ($p < 0,025$) et ont nettement réduit les taux de PrPSc au stade préclinique de la maladie. Bien que la dose de 25 mg/kg d'AmB soit toxique pour les animaux, cela n'a pas été le cas pour le MS-8209.
D. Mckenzie <i>et al.</i> , 1994 (64)	Des hamsters ont été inoculés avec la tremblante (263K) par voie ICV et traités par AmB par voie IP (1 mg/kg/j) quotidiennement au lendemain de l'inoculation. Les animaux étaient régulièrement surveillés pour détecter l'apparition de symptômes cliniques. Des animaux ont été sacrifiés à 4, 5, 6, 8 et 10 jours PI pour analyse des cerveaux.	L'accumulation de la PrPsc était significativement moins importante chez les animaux traités à l'AmB (4 semaines PI) par rapport aux groupes témoins. Cependant, cette différence s'est progressivement réduite et n'est plus significative à partir de 6 semaines PI. Bien que les taux de PrPsc soient similaires entre les groupes traités et non traités, à 8 semaines PI, seuls les animaux non traités présentaient des symptômes cliniques. Cela suggère que, bien que l'accumulation de PrPsc et la réplication de l'agent soient liées, elles ne sont pas les seuls facteurs nécessaires à l'apparition d'une maladie clinique.

K. T. Adjou <i>et al.</i> , 1995 (65)	<p>1) Des hamsters syriens ont été inoculés avec la tremblante (263K) par voie ICV et traités soit par AmB (2,5 mg/kg/j) soit par MS-8209 à différentes doses (2,5 ou 10 ou 25 mg/kg/j) par voie IP quotidiennement au moment de l'inoculation. Les animaux étaient régulièrement surveillés pour détecter l'apparition de symptômes cliniques.</p>	<p>1) L'AmB et le MS-8209 ont tous deux augmenté de manière significative le temps d'incubation de la maladie par rapport aux groupes témoins, quelle que soit la dose ($p < 0.005$). Le traitement continu avec MS-8209 a doublé la durée de la période d'incubation par rapport à celle observée chez les animaux infectés non traités.</p>
	<p>2) Des hamsters syriens ont été inoculés avec la tremblante (263K) par voie ICV et traités soit par AmB (1 ou 2,5 mg/kg/j) soit par MS-8209 à différentes doses (2,5 ou 10 ou 25 mg/kg/j) par voie IP quotidiennement soit avant, soit après, soit au moment de l'inoculation. Les animaux étaient régulièrement surveillés pour détecter l'apparition de symptômes cliniques. Des animaux ont été sacrifiés à 72 jours PI afin d'analyser leurs cerveaux.</p>	<p>2) L'AmB et le MS-8209 ont tous deux retardé significativement l'accumulation de la PrPsc et de la GFAP dans le cerveau par rapport aux groupes témoins non traités, peu importe le protocole d'administration (avant, après ou au moment de l'inoculation). Cependant, au stade terminal de la maladie, tous les cerveaux de tous les groupes contenaient des niveaux similaires de PrPsc et de GFAP.</p>
R. Demaimay <i>et al.</i> , 1997 (66)	<p>1) Des souris C57BL/6 ont été inoculées avec la tremblante (C506M3) par voie ICV et traitées par du MS-8209 (à 2.5 ou 25 mg/kg/j) ou de l'AmB (à 2.5 mg/kg/j) par voie IP pendant la période 90 à 120 jours PI. Les animaux étaient régulièrement surveillés pour détecter l'apparition de symptômes cliniques. Des animaux ont été sacrifiés à 150 jours PI (30 jours après l'arrêt du traitement) pour analyse des cerveaux.</p>	<p>1) Allongement significatif du temps d'incubation pour les animaux traités avec le MS-8209 par rapport aux groupes témoins ($p < 0.01$). Dans les groupes traités avec 2,5 mg/kg d'AmB et 25 mg/kg de MS-8209, l'accumulation de PrPsc était significativement inférieure à celle des groupes contrôles ou traités à 2,5 mg/kg de MS-8209. Ainsi, l'effet du médicament sur PrPsc pourrait persister au moins 30 jours après la fin du traitement médicamenteux.</p>
	<p>2) Des souris C57BL/6 ont été inoculées avec la tremblante (C506M3) par voie ICV et traitées par du MS-8209 (à 1 ou 2.5 ou 25 mg/kg/j) ou de l'AmB (à 1 ou 2.5 mg/kg/j) par voie IP à partir de 80, 110 ou 140 jours PI. Les animaux étaient régulièrement surveillés pour détecter l'apparition de symptômes cliniques. Des animaux ont été sacrifiés 30 jours après le début du traitement pour analyse des cerveaux.</p>	<p>2) Tous les groupes traités avaient une durée d'incubation prolongée lorsque le traitement commençait à 80 ou 110 jours PI par rapport aux groupes contrôles. Pour le traitement commençant à 140 jours PI, seul le groupe traité avec 25 mg/kg de MS-8209 présentait une durée de survie significativement augmentée.</p>
K. T. Adjou <i>et al.</i> , 1999 (67)	<p>Des hamsters syriens ont été inoculés avec la tremblante (263K) par voie ICV et traités soit par AmB (1 ou 2,5 mg/kg/j) soit par MS-8209 à différentes doses (2,5 ou 10 ou 25 mg/kg/j) par voie IP quotidiennement à partir du moment de l'inoculation et jusqu'au décès.</p>	<p>L'AmB et le MS-8209 ont tous les deux augmenté significativement la période d'incubation de la maladie. A 72 jours PI, les niveaux de PrPsc et de GFAP étaient nettement inférieurs dans les groupes traités que dans les</p>

	<p>Les animaux étaient régulièrement surveillés pour détecter l'apparition de symptômes cliniques.</p> <p>Des animaux ont été sacrifiés à 40 et 72 jours PI pour analyse des cerveaux</p>	<p>groupes témoins.</p> <p>A 40 jours PI, le degré d'infectivité était significativement moins important chez les animaux traités par AmB ou MS-8209 par rapport aux témoins ($p < 0.05$), et ce, quelle que soit la dose (hormis pour l'AmB à 1 mg/kg).</p> <p>Au même moment, les taux de PrPsc dans le cerveau des animaux traités étaient 10 à 1 000 fois plus faibles que chez les hamsters témoins non traités.</p>
<p>K. T. Adjou <i>et al.</i>, 2000 (68)</p>	<p>Des hamsters syriens ont été inoculés avec la tremblante (263K) par voie ICV et traités soit par AmB (2,5 mg/kg/j) soit par MS-8209 à différentes doses (10 ou 25 mg/kg/j) par voie IP quotidiennement à partir de 30 jours PI jusqu'au décès.</p> <p>Les animaux étaient régulièrement surveillés pour détecter l'apparition de symptômes cliniques.</p> <p>Des animaux ont été sacrifiés à 70 jours PI pour analyse des cerveaux</p>	<p>L'AmB et le MS-8209 ont tous les deux augmenté significativement la période d'incubation de la maladie par rapport aux groupes contrôles ($p < 0.01$), et ce, quelle que soit la dose.</p> <p>A 70 jours PI les taux de PrPsc étaient significativement plus faibles dans les groupes traités par AmB ou MS-8209 par rapport aux groupes contrôles</p> <p>Les animaux traités par MS-8209 ont également présenté moins d'anomalies cérébrales que les groupes témoins (spongieuse, vacuolisation, astrogliose) et une accumulation de GFAP plus faibles.</p>

Tableau 10 : Essais *in vivo* chez l'animal conduits sur l'amphotéricine B

Seulement une étude a été réalisée chez l'homme en 1992 sur deux patientes atteintes de MCJ (69) (Tableau 11) :

	Patiente 1	Patiente 2
Caractéristiques	Femme âgée de 71 ans	Femme âgée de 50 ans
Diagnostic	MCJ probable (forme non spécifiée)	MCJ (forme non spécifiée)
Protocole	Administration d'AmB 3 mois après le début des signes cliniques par voie IV avec des doses augmentant de 0,25 à 1 mg/kg/j	Administration d'AmB 5 mois après le début des signes cliniques par voie IV avec des doses augmentant de 0,25 à 1 mg/kg /j
Décès	Décès par insuffisance cardiaque 4 mois après le début clinique de la maladie (soit après 20 jours de traitement)	Décès 8 mois après le début clinique de la maladie

Tableau 11 : Essai conduit sur l'amphotéricine B chez l'homme

- Survie et examen neuropathologique :

L'analyse post-mortem des cerveaux des deux patientes a confirmé le diagnostic de MCJ (modifications spongiformes, vacuolisation et astrogliose particulièrement dans le cervelet et le cortex cérébral). Cependant, aucune plaque amyloïde n'a pu être observée. Les chercheurs ont également noté la présence de protéine PrP²⁷⁻³⁰ spécifique des encéphalopathies amyloïdes spongiformes, dans le cerveau des deux patientes.

Cette étude montre que le traitement par AmB n'a pas amélioré les déficits neurologiques chez ces deux patientes atteintes de MCJ ni prolongé la durée de la maladie de manière significative par rapport à des cas non traités rapportés dans d'autres études cliniques.

En conclusion des recherches effectuées sur l'Amphotéricine B dans le cadre de la MCJ, de nombreuses études ont été réalisées chez le rongeur et ont permis de mettre en lumière l'activité anti-prion la plus puissante observée jusqu'alors.

L'AmB prolonge le temps d'incubation chez les rongeurs non seulement lors d'une administration précoce mais également lors d'une administration retardée chez l'animal. En revanche, une seule expérience a testé une administration lors de l'apparition des symptômes cliniques chez le rongeur et n'a pas relevé de prolongement significatif de la survie.

L'administration d'AmB a également engendré une réduction de l'accumulation de PrPsc ainsi qu'une diminution des taux de GFAP dans le cerveau des animaux infectés par rapport aux animaux non traités, quel que soit le moment de l'administration et à différentes doses.

Concernant l'administration d'AmB, il s'est avéré que la dose de 1 mg/kg n'était pas suffisante pour observer des effets significatifs sur la durée d'incubation ni sur les taux de PrPsc, tandis que la dose de 10 mg/kg s'est avérée létale pour la moitié des rongeurs.

Cette toxicité a encouragé la recherche à évaluer un dérivé de l'AmB, le MS-8209, tout aussi efficace mais présentant une toxicité cinq fois moindre, permettant ainsi d'évaluer l'administration de doses plus importantes chez l'animal.

Le seul autre polyène jamais testé chez des animaux infectés par des prions est la mepartricine, mais jugée inefficace dans l'étude de Pocchiari 1989 .

Il est assez troublant qu'une seule étude ait été menée chez l'homme, compte tenu des résultats plutôt positifs et reproductibles obtenus au cours des nombreuses études chez les rongeurs. D'autant plus que cette étude ne comprend que deux patientes, chez qui l'AmB n'a pas montré d'effet bénéfique.

Suite aux dernières études à la fin des années 90, l'amphotéricine B a progressivement été délaissée par la communauté scientifique avec pour principal motif sa toxicité.

Cependant, il serait intéressant de ranimer les discussions sur les effets de l'amphotéricine B chez les sujets atteints de MCJ, et plus particulièrement à travers la mise en œuvre d'études cliniques de plus grande envergure avec son dérivé MS-8209, moins toxique.

4. Le Pentosan polysulfate

Le Pentosan Polysulfate (PPS) est un polyanion polysaccharide sulfaté semi-synthétique de faible poids moléculaire et de structure semblable à l'héparine (Figure 25). Contrairement à la quinacrine, le PPS ne pénètre pas la BHE lorsqu'il est administré par voie périphérique, du fait de ses charges. (70)

En pratique, le PPS est connu sous le nom d'Elmiron®, qui est un médicament indiqué en seconde intention dans la cystite interstitielle (ou syndrome de la vessie douloureuse). Il a des effets anticoagulants et fibrinolytiques mais son mécanisme d'action précis dans la cystite interstitielle n'est pas connu. Ce médicament peut provoquer des thrombocytopénies et des anomalies de la coagulation. (71) Elmiron® se présente sous la forme de capsules de gélatine contenant 100 mg de PPS. (70)

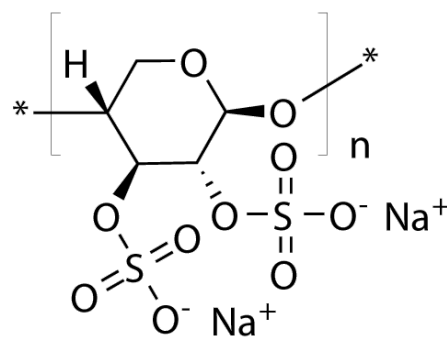


Figure 25 : Molécule de pentosan polysulfate (72)

Dans l'histoire de la recherche d'un traitement pour la MCJ, l'émergence des polyanions est associée à l'idée qu'ils possèdent des propriétés antivirales. En effet, les discussions autour des polyanions ont commencé à une époque où l'étiquette de "virus non conventionnel" n'avait pas encore été totalement remplacée par celle du prion. (73)

Après la découverte de la nature protéique de l'agent de la tremblante, l'efficacité des polyanions est plutôt alors associée à une similitude avec le rouge congo : la présence de deux anions sulfate. Certaines études suggèrent également que le PPS interfère de manière compétitive dans la liaison de la PrPC avec la PrPSc avec les glycosaminoglycanes endogènes, qui sont essentiels à la formation ou à la stabilisation de la PrPSc. (74) (75)

Ainsi, la première molécule de ce type à être testée est le sulfate de Dextran 500 sur des souris infectées par la tremblante. Les résultats de ces études montrent une prolongation du temps d'incubation essentiellement. (76) (77)

Cependant, le profil de toxicité du sulfate de dextran a conduit les chercheurs à s'orienter plutôt vers le PPS, moins toxique. Ainsi, plusieurs expériences sur les rongeurs ont été réalisées (Tableau 12).

	Diringer & Ehlers (78) 1991	K. Doh-Ura et al. (50) 2004
Modèle animal	Souris NMRI	Souris Tg7
Paramètre étudié	Prolongation de la durée d'incubation	Prolongation de la durée d'incubation, destruction neuronale, réaction gliale

Effectif	6 à 10 souris / groupe	5 à 10 souris / groupe
Groupes	<u>Groupe 1</u> : Témoin <u>Groupe 2</u> : Expérience 1 (Exp. 1) <u>Groupe 3</u> : Expérience 2 (Exp. 2)	<u>Groupe 1</u> = Témoin <u>Groupe 2</u> = Traité par le PPS 10 jours PI <u>Groupe 3</u> = Traité par le PPS 35 jours PI
Méthode	Injection de 10 mg de PPS dissous dans 1 ml de PBS aux jours : - 84, 77 et 71 (Exp. 1) - 70, 60 et 50 (Exp. 2) avant l'infection par la tremblante (souche 139A) par voie IP. Les souris ont été observées pour détecter des signes de maladie 2x/ semaine jusqu'à apparition de symptômes cliniques et quotidiennement ensuite.	Inoculation ICV des 3 groupes avec la tremblante (souche 263K). Perfusion ICV continue de PPS pendant 4 semaines allant de 110 à 460 µg/kg/jour 10 ou 35 jours PI dans un seul hémisphère. Evaluation du temps avant l'apparition des premiers signes cliniques de la maladie Analyse anatomopathologique des cerveaux post-mortem ainsi que de la répartition de PrPsc
Résultats	Les groupes recevant le traitement ont montré une augmentation significative du temps de survie d'environ 80 (Exp. 1) et 50 jours (Exp. 2) par rapport au groupe témoin.	Prolongation de la période d'incubation de 71 % (groupe 3) à 141% (groupe 2) pour la dose de 460 µg/kg/jour par rapport au groupe témoin (p<0,01). Pour un stade plus tardif de la maladie (42j) la dose la plus efficace était de 230 µg/kg/jour. Changements pathologiques et dépôts de PrPsc très faibles observés dans l'hémisphère ayant reçu la perfusion de PPS par rapport à l'hémisphère non perfusé qui présentait une spongiose avancée et une quantité plus importante de dépôts de PrPsc. Également, une réaction gliale plus importante était observée dans l'hémisphère perfusé de PPS.

Tableau 12 : Essais *in vivo* chez l'animal conduits sur le pentosan polysulfate

Par ailleurs, en 1993, Caughey et al. ont montré que le PPS inhibe la formation de résidus de PrP *in vitro* dans une culture cellulaire. Le PPS se lie de manière compétitive à la PrP, l'empêchant ainsi de se lier aux glycosaminoglycanes endogènes, essentiels à son accumulation dans un état potentiellement amyloïdogène résistant à la protéase. (75)
Ainsi plusieurs essais ont été réalisés chez l'homme (Tableau 13).

	I. Bone et al. (79) 2008	Y. Tsuboi et al. (80) 2009
Type d'étude	Observationnelle prospective	Observationnelle
Effectif	Total = 7 5 patients MCJ (3 vMCJ et 2 iatrogéniques) 2 patients GSS	Total = 11 3 MCJ génétiques 2 MCJ iatrogènes 6 MCJ sporadiques
CE primaire	Prolongement du temps de survie	Prolongement du temps de survie

CE secondaires	Progression de la maladie	Survie à 6 mois, état neurologique Activités de la vie quotidienne (AVQ) évaluées 6, 12 et 18 mois après le début du traitement.
Répartition des groupes	<u>Groupe 1</u> : Témoins non traités par PPS (données provenant de l'étude de Pocchiari et al., 2004) <u>Groupe 2</u> : patients traités par PPS	Pas de groupes
Administration PPS	11–110 µg/kg/jour via perfusion ICV (uni ou biventriculaire)	120 µg/kg/jour via perfusion ICV dans l'hémisphère droit.
Méthodes d'évaluation	Des examens cliniques ont été réalisés par un neurologue après 6, 12 et 18 mois où l'on évaluait 11 activités de base (langage, vue, mobilité, audition, alimentation...), mais aussi : <ul style="list-style-type: none"> - Modified Rankin scale - GCS - Barthel index for activities of daily living - Disability rating scale, - Level of cognitive function scale, - MMSE, - ADAS, - CDR, - Global Impression of change - BPRS Des analyses de sang ont également été effectuées	Visites chaque semaine le 1er mois puis 1 fois / mois pour évaluer : <ul style="list-style-type: none"> - État physique et neurologique - EEG - CT-scan - Bilan biologique Si nécessaire, une IRM était réalisée toutes les 8 semaines Une évaluation de l'ADL et un Rankin scale modifié étaient réalisés tous les 6 mois

Tableau 13 : Essais conduits sur le pentosan polysulfate chez l'homme

Résultats de l'étude de I. Bone et al. :

- Survie :

La survie des 7 patients était supérieure à la survie médiane des patients non traités décrits dans l'étude contrôle de M. Pocchiari (les auteurs ne donnent aucune indication quant à la significativité de cette différence), mais se situait dans les fourchettes rapportées pour les cas iatrogènes et héréditaires (Tableau 14).

Concernant les 4 patients atteints de vMCJ, 3 parmi eux ont survécu plus longtemps que la médiane et la fourchette rapportées par l'étude contrôle de M. Pocchiari.

	Survie (mois) chez les patients traités par PPS	Survie (mois) chez les patients non traités par PPS Pocchiari <i>et al.</i> , 2004
MCJ Iatrogénique	29, 32	Entre 4 et 45 Médiane = 13
vMCJ	16, >50, >57, >75	Entre 6 et 39 Médiane = 13
GSS	52, 64	Entre 3 et 133 Médiane = 39

Tableau 14 : Survie (en mois) des patients traités par PPS selon la forme de MCJ comparativement à des sujets non traités.

- Tolérance :

Deux patients sont décédés des suites d'une pneumonie (malgré un traitement agressif aux antibiotiques). Un autre patient a présenté des convulsions tonico-cloniques, associées à des marqueurs inflammatoires élevés et à un sepsis, qui ne se sont pas reproduits à la reprise de la perfusion. Aucune toxicité spécifique n'a été observée.

Des complications avec la procédure de cathétérisme sont survenues chez 4 patients sur 7.

Résultats de l'étude de Y. Tsuboi et al. :

- Survie :

Entre le début de l'étude en novembre 2004 et la fin de l'étude en juillet 2009, 7 patients sur les 11 recrutés sont décédés soit d'un sepsis soit d'une pneumonie. Les 4 autres patients étaient encore en vie à la fin de l'étude. Le temps de survie moyen calculé est de 24.2 mois (étendue : 4-49). Données présentées dans la figure 26 ci-dessous :

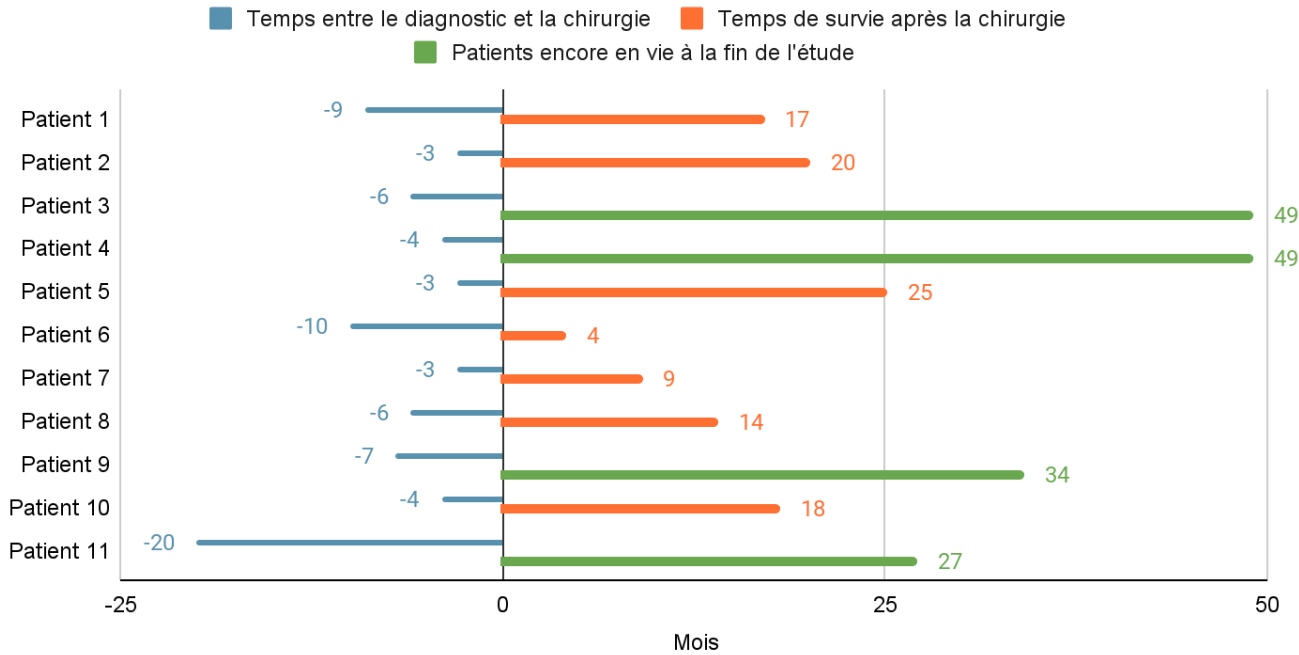


Figure 26 : Temps de survie (en mois) des patients après la chirurgie (0 sur l'axe horizontal) relativement au temps entre le diagnostic et la chirurgie

- Tolérance :

Une collection de liquide sous-dural a été observée au scanner dans la plupart des cas. Des secousses épileptiques stoppées par la phénytoïne ont été observées dans un cas. À l'exception de ceux-ci, aucun autre effet indésirable n'a été observé pendant le traitement. Aucune anomalie dans la numération des cellules sanguines, la chimie sérique et les tests de coagulation n'a été détectée.

En conclusion de ces études sur le PPS, des données très prometteuses montrant un prolongement de la survie ont été obtenues chez l'animal, en plus de preuves *in vitro* de l'effet du PPS sur la conversion de PrPc en PrPsc, motivant la mise en place d'études chez l'homme. Malheureusement, les études conduites chez l'homme comprennent un nombre très faible de volontaires, ne sont pas contrôlées par placebo en double aveugle et ne statuent pas sur la significativité des résultats obtenus en termes de survie. On ne sait donc pas à l'heure actuelle si le PPS permet réellement de prolonger la survie des patients atteints de MCJ. Malgré cela, ces études ont permis d'observer une bonne tolérance du PPS par voie ICV.

Des crises convulsives ont été observées dans les deux études sans que celles-ci ne soient directement attribuées au traitement à l'étude.

Cependant, la perfusion de PPS par voie ICV, qui est certes obligatoire dû au fait que cette molécule ne traverse pas la BHE, est susceptible d'entraîner des complications liées à la chirurgie, pouvant donner lieu à des infections potentiellement fatales aux patients. Il est donc nécessaire d'évaluer la balance bénéfique/risque plus que d'ordinaire pour ce traitement en particulier.

Enfin, il est important de rappeler que les résultats encourageants obtenus chez le rongeur sont issus d'administrations précoces dans l'histoire de la maladie. L'une d'elle administrant même le PPS avant l'inoculation. Or en pratique, il est impossible de savoir quand va survenir une infection ou de diagnostiquer la maladie avant l'apparition des symptômes.

Même les premiers symptômes ne sont pas spécifiques de la maladie et conduisent à un "lead-time" décrit par I. Bone correspondant au délai entre l'apparition des premiers symptômes et le diagnostic de la maladie.

Il aurait donc été plus pertinent d'évaluer directement l'effet du PPS à des stades cliniques de la maladie chez l'animal.

B- Sensibilisation aux protéases

1. Les Tétracyclines

Une autre catégorie de molécules ayant marqué la recherche d'un traitement de la MCJ sont les tétracyclines.

Les tétracyclines sont des antibiotiques bactériostatiques inhibant la synthèse protéique des bactéries (Figure 27). (81) Elles ont un large spectre d'activité contre des bactéries à gram positif et à gram négatif, mais également les chlamydiae, les mycoplasmes, les rickettsies, ainsi que de parasites protozoaires. (82)

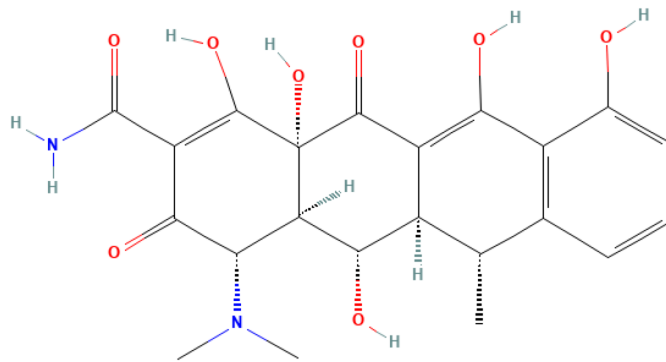


Figure 27 : Structure de la molécule de doxycycline (83)

L'hypothèse initiale ayant motivé les chercheurs à explorer les effets des tétracyclines dans la recherche thérapeutique des maladies à prions est sa similarité structurale avec le rouge congo, ayant déjà confirmé son activité anti-prion. De plus, les tétracyclines sont une classe de molécules bien connues chez l'homme, avec un profil pharmacocinétique et pharmacodynamique déjà bien étudié ainsi qu'une faible toxicité.

Dans un premier temps, des études *in vitro* ont été réalisées (Tableau 15) :

	F. Tagliavini et al. (84) 2000	G. Forloni et al. (85) 2009
Modèles	<p>1), 2), 3) Fibrilles amyloïdes synthétiques similaires aux résidus 82-146 et 106 126 de la PrP humaine</p> <p>4) PrPsc extraite du cortex de patients atteints de MCJ sporadique</p> <p>5) Neurones et astrocytes hippocampiques ou corticaux de rat</p>	<p>1) Fibrilles amyloïdes synthétiques similaires aux résidus 82-146 et 106 126 de la PrP humaine</p> <p>2), 3) PrPsc extraite du cortex de patients atteints de MCJ sporadique</p>
Méthodes	<p><u>1) Exploration de la liaison tétracycline-PrP:</u> Incubation des fibrilles amyloïdes avec soit de la thioflavine S soit avec la tétracycline et recherche de la liaison par 2D-NMR</p> <p><u>2) Evaluation du pouvoir anti-agrégant de la tétracycline</u> Dissolution des fibrilles dans de l'eau déminéralisée avec ou sans tétracycline, et incubées à 37C pendant 1, 4 et 96 heures. Un tampon phosphate a ensuite été ajouté aux échantillons pour déclencher l'agrégation des peptides. Analyse des agrégats par HPLC.</p> <p><u>3) Evaluation du pouvoir désagrégant de la tetracycline</u> Incubation des fibrilles avec et sans tetracycline et observation de l'évolution des agrégats au microscope électronique après 1, 24 et 72h d'incubation.</p> <p><u>4) Impact de la tetracycline sur la résistance à la protéase K</u> La PrPsc issue de MCJ sporadique, a été incubée pendant 48h avec de la tétracycline entre 20 uM et 2 mM, puis traitée avec de la protéinase K et analysée par Western blot.</p> <p><u>5) Exploration des effets sur la mort neuronale et gliose astrocytaire</u> Pour vérifier la spécificité de l'effet, les cellules ont été incubées avec de l'acide kainique (analogue du glutamate neurodégénératif) au lieu de la PrPsc et les résultats ont été observés en présence et en l'absence de co-traitement par la tétracycline</p>	<p><u>1) Exploration de la liaison tetracycline-PrP :</u> Analyse de la fluorescence en présence de la PrP 82-146 par spectroscopie RMN</p> <p><u>2) Exploration de la liaison tetracycline-PrP issue de patients :</u> De la PrP issue de patients atteints de MCJ sporadique a été partiellement purifiée, incubée pendant 48h avec du chlorhydrate de tétracycline ou de l'hyclate de doxycycline à des concentrations de 10 µM à 1 µM, puis traitées avec PK et analysées par Western blot.</p> <p><u>3) Comparaison de différents types de tetracyclines pour leur capacité à réduire la résistance de la PrPsc à la PK</u> Des solutions de peptide (200 M) issus de cerveaux de patients atteints de MCJ ont été co-incubées avec les composés à une concentration molaire de 1: 2 pendant 18h, puis soumis à une digestion avec de la PK. Après centrifugation, le culot a été dissous dans 10 % d'acide formique contenant 0,1 % d'acide trifluoracétique et analysé par HPLC. La protéolyse était calculée comme le pourcentage de peptide dans le culot. Chaque valeur est la moyenne d'au moins 5 expériences.</p>

<p>Résultats</p>	<p>1) Les fibrilles amyloïdes incubées à la tétracycline ont montré une fluorescence, prouvant ainsi leur liaison aux fibrilles.</p> <p>2) La tétracycline a largement empêché la formation de macroagrégats, puisque plus de 80 % de la PrP se trouvait dans la fraction surnageante après 96h.</p> <p>3) Les fibrilles incubées avec la tétracycline ont montré des signes de fragilisation après 1h et une désagrégation après 24 et 72h</p> <p>4) Après incubation avec 20 mM, 200 mM et 2 mM de tétracycline, la quantité de PrPSc de type 2 restante après digestion à la PK a été réduite de 100% (échantillons non traités) à respectivement 80,8%, 41,8% et 19,5%. La PrPSc de type 1 n'a montré une réduction qu'à la concentration maximale de 2 mM de tétracycline, qui ont réduit la quantité de PrPSc à 45%</p> <p>5) La neurotoxicité de la PrPSc a été abolie par le co-traitement des cultures avec la tétracycline. L'acide kainique a réduit la viabilité des cellules nerveuses de 60 % indépendamment de la présence ou non de tétracycline, suggérant une action spécifique de celle-ci. La tétracycline a également aboli la gliose astrocytaire. Alors que la viabilité des cultures astrogliales primaires a augmenté de 35 % à la suite d'un traitement à long terme avec la PrP 106-126, aucune différence significative par rapport aux témoins lorsque de la tétracycline était ajoutée au milieu de culture avec le peptide.</p>	<p>1) Les spectres d'émission de la tétracycline ont confirmé la liaison de la tétracycline aux agrégats de la PrP mais aussi aux formes oligomériques-monomériques des peptides. Les données RMN ont prouvé l'existence d'interactions dans l'espace entre le composé et les peptides hydrophobes. Cette propriété de liaison a été associée à la capacité du médicament à empêcher l'agrégation et l'acquisition d'une résistance aux protéases des peptides de la PrP. Les dérivés de la tétracycline ont déstabilisé la structure des fibrilles de PrP 106-126 préformées, réduisant ainsi leur résistance à la PK.</p> <p>2) Observation d'une diminution de la résistance à la protéase. Cet effet dépendait de la dose, atteignant presque 80 % à la concentration la plus élevée du médicament. Aucun changement n'a été observé lorsque des tétracyclines étaient ajoutées aux échantillons immédiatement avant la digestion PK</p> <p>3) La roli- et l'oxy-tétracycline étaient les plus actives en réduisant la résistance PK de PrPSc.</p>
<p>Conclusion</p>	<p>Cette étude met en valeur l'importance de certains éléments clés dans la relation structure-activité de la tétracycline :</p> <p>1) Un noyau hydrophobe étendu formé par des groupements aromatiques qui permet des interactions avec les résidus lipophiles de la PrPSc</p> <p>2) La présence d'une variété de substituants polaires pouvant former des liaisons hydrogènes avec des résidus spécifiques de la PrPSc.</p> <p>Enfin, la tétracycline a permis d'abolir la neurotoxicité et l'astroglie induites par la PrPSc.</p>	<p>Cette étude confirme la liaison entre les tétracyclines et des segments particuliers de la PrP même issue de cerveaux de patients. De plus, les tétracyclines semblent empêcher l'acquisition d'une résistance à la PK par la PrP. Les tétracyclines les plus efficaces pour empêcher cette résistance sont la roli- et l'oxy-tétracycline</p>

Tableau 15 : Essais *in vitro* conduits sur les tétracyclines

Les résultats prometteurs issus de ces études *in vitro* encouragent la recherche à poursuivre les explorations chez l'animal (Tableau 16) :

	G. Forloni et al. (86) 2002	A. De Luigi et al. (87) 2008
Modèle animal	Hamster syriens	Hamster syriens
Paramètre étudié	Diminution du pouvoir infectieux des prions	Comparaison de la survie selon 3 différentes molécules (tétracycline, doxycycline, minocycline) et selon 3 méthodes différentes
Groupes	<u>Groupe 1</u> : Non traité (contrôle) <u>Groupe 2</u> : Traité avec la tétracycline <u>Groupe 3</u> : Traité avec la doxycycline	<u>Groupe 1</u> : 1 seule injection IM ou IP de tétracycline 1h PI (10 mg/kg) <u>Groupe 2</u> : Injection IM ou IP de tétracycline tous les 2 jours pendant 40 jours (10 mg/kg) <u>Groupe 3</u> : 1 seule perfusion ICV de tétracycline 60 jours PI (25 µg/20 µl)
Méthode	Injection par voie ICV de la tremblante (souche 263K) co-incubé avec 1 mM de chlorhydrate de tétracycline ou 1 mM d'hyclate de doxycycline ou une solution véhicule avant l'inoculation	Injection par voie IM ou SC avec une souche de tremblante 263K à une dilution de 10 ⁻⁴ .
Résultats	Retard significatif dans l'apparition des signes cliniques de la maladie et durée de survie prolongée chez les animaux traités par rapport au groupe contrôle (p < 0,01). Retard dans l'apparition d'anomalies de l'IRM dans le thalamus, de changements neuropathologiques et d'une accumulation de PrPSc.	<u>Groupe 1</u> : Allongement de la durée de survie de 64% (p = 0,031) <u>Groupe 2</u> : Allongement significatif de la durée de survie de 25 % (doxycycline), 32 % (tétracycline) ; et 81 % (minocycline) <u>Groupe 3</u> : Allongement significatif de la durée de survie de 8,1 % (doxycycline), 10 % (minocycline)

Tableau 16 : Essais *in vivo* conduits chez l'animal sur les tétracyclines

Les tétracyclines ont ensuite été mises à la disposition des patients atteints de MCJ à titre compassionnel en Italie et en Allemagne avec la doxycycline comme molécule d'intérêt à une dose orale de 100 mg par jour.

Le choix de cette tétracycline s'est basé sur le constat de sa cinétique favorable, de sa bonne capacité à traverser la BHE, de faibles effets toxiques et une bonne tolérance même pour une administration de longue durée.

En conséquence des résultats positifs issus des essais sur les hamsters et des mise à dispositions à titre compassionnel en Italie et en Allemagne, deux études sur l'homme ont été réalisées (Tableau 17):

	S. Haik et al. (88) 2014	D. Varges et al. (89) 2017	
Type d'étude	Randomisé, double aveugle, contrôlé par placebo multicentrique (France et Italie)	Randomisé, double aveugle, contrôlé par placebo, monocentrique	Observationnelle
Effectif	Total = 121 (MCJ sporadiques et génétiques)	12 MCJ sporadiques	88 MCJ sporadiques
CE primaire	Temps de survie	Temps de survie	
CE secondaires	Taux de progression de la maladie	Scores aux tests cognitifs et fonctionnels et qualité de vie	
Répartition des groupes	<u>Groupe 1</u> : Placebo (n=59) <u>Groupe 2</u> : Traités par doxycycline (n=62)	<u>Groupe 1</u> : Placebo (n=5) <u>Groupe 2</u> : Traités par doxycycline (n=7)	<u>Groupe 1</u> : Patients non traités (n=33) <u>Groupe 2</u> : Traités par doxycycline (n=55)
Administration Doxycycline	1 comprimé de 100 mg de doxycycline par jour par VO	1 comprimé de 100 mg de doxycycline par jour par VO	
Méthodes d'évaluation	Évaluations à T0 puis tous les 2 à 3 mois jusqu'au décès pour évaluer : <ul style="list-style-type: none"> - MMSE - Brève échelle d'évaluation psychiatrique - Score de Rankin modifié, - IRM cérébrale volumétrique, - EEG sur 24 heures, - Enregistrement d'actigraphie - Concentration de protéine tau dans le LCR - Bilan sanguin et rénal - Recueil des EI et EIG <p>Examen neuropathologique des cerveaux post-mortem et mesure de la concentration en PrPsc et doxycycline</p>	Evaluation à T0 puis tous les 2 mois pendant 6 mois puis tous les 3 mois ensuite : <ul style="list-style-type: none"> - Indice de Barthel - MMSE - Examen neurologique - Biomarqueurs du LCR (protéine 14-3-3, NSE, protéine τ) - EEG - IRM cérébrale <p>Questionnaire standardisé à remplir par les soignants toutes les 2 semaines pour évaluer la progression de la maladie.</p>	

Tableau 17 : Essais conduits sur la doxycycline chez l'homme

Résultats de l'étude de S. Haik et al. :

- Survie :

Entre le début de l'étude en avril 2007 et la fin en août 2010, 86 % des 121 patients étaient décédés, pour la plupart à domicile ou dans des hôpitaux de soins de longue durée. Tous les décès ont été considérés comme étant sans rapport avec le médicament expérimental. Aucune différence significative n'a été relevée dans la survie des patients entre les groupes Doxycycline et placebo de manière générale ou en comparant les populations française et italienne (Figure 28).

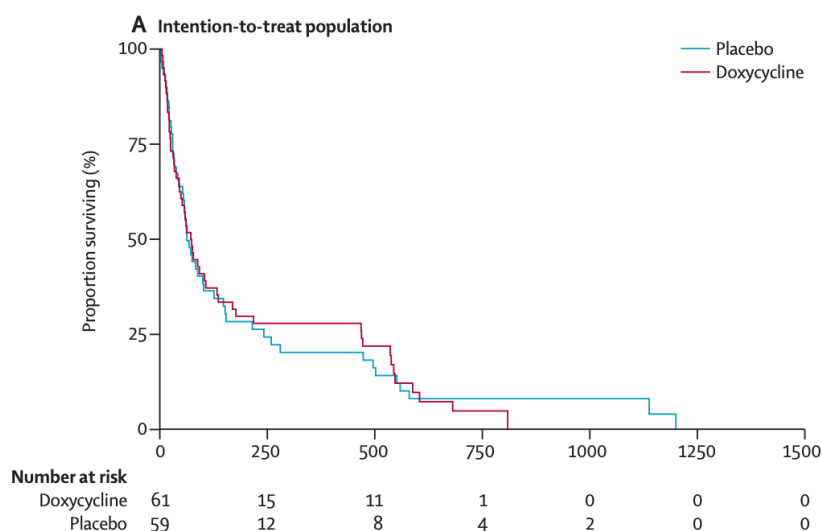


Figure 28 : Temps de survie à partir de la date de randomisation de l'ensemble de la population en intention de traiter

- Taux de progression de la maladie :

Aucune différence significative n'a été relevée entre les groupes Doxycycline et placebo en ce qui concerne :

- la perte d'alimentation autonome
- la perte de contrôle du sphincter
- le nombre atteignant le stade clinique de mutisme akinétique

- Examen neuropathologique post-mortem :

39 patients ont donné leur consentement pour la réalisation de cet examen ce qui a permis de confirmer le diagnostic de MCJ pour chacun d'entre eux.

Aucune différence n'a été notée dans l'étendue, les modèles de dépôt et de distribution topographique de la PrPSc ou dans la sévérité de dégénérescence spongiforme et gliose entre groupes doxycycline et placebo, ni entre les sous-groupes identifiés par le type PrPSc et le génotype PRNP du codon 129.

Les concentrations cérébrales de doxycycline ont été mesurées chez 11 patients. L'analyse a montré que la concentration du composé était corrélée au délai entre le dernier traitement et le décès avec des niveaux compris entre 646 ng/g et 3051 ng/g de tissu cérébral. Inversement, les concentrations de doxycycline ne correspondaient pas à la durée du traitement.

- Tolérance :

La doxycycline a entraîné très peu d'EI au cours de l'étude, principalement des diarrhées (Tableau 18).

	Groupe Doxycycline	Groupe placebo
France	Relation possible : 3 Relation probable : 2 (diarrhées)	Relation possible : 3 Relation probable : 2 (diarrhées, urticaire aigu généralisé)
Italie	4 (jugé sans rapport avec le médicament)	7

Tableau 18 : Effets indésirables enregistrés chez les patients traités par doxycycline ou placebo

Résultats de l'étude de D. Varges et al. :

- Survie :

Les résultats des deux études ont été combinés au moyen d'une méta-analyse à effets aléatoires. Une légère augmentation de la durée de survie dans le groupe de traitement par doxycycline a été observée ($p = 0,049$) (Figure 29).

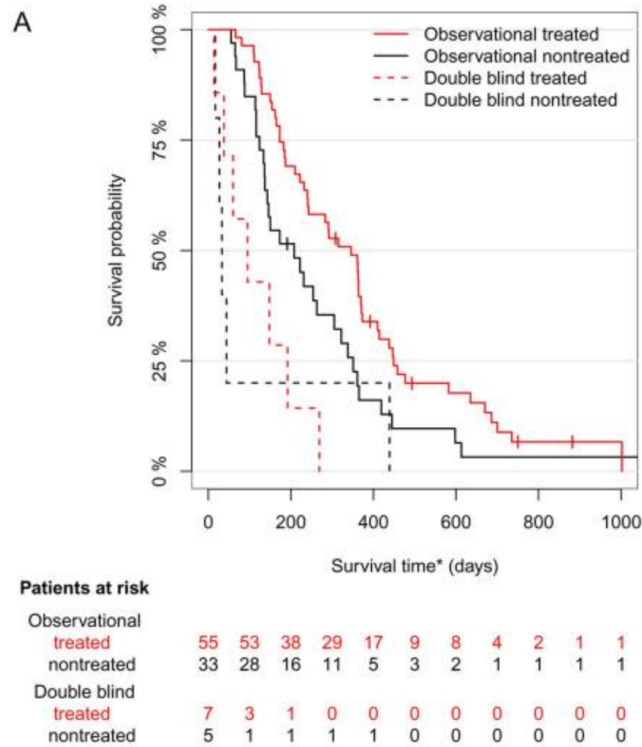


Figure 29 : Temps de survie des patients traités et non traités par la doxycycline

Plus spécifiquement, dans l'étude en double aveugle, aucune prolongation statistiquement significative de la durée de survie chez les patients traités par doxycycline n'a été observée. La durée médiane de survie après le début du traitement par la doxycycline était de 95 jours, contre 33 jours pour le groupe témoin.

Dans l'étude observationnelle, les chercheurs ont constaté une prolongation significative de la durée de survie chez les patients traités par doxycycline par rapport aux témoins non traités, avec un HR estimé à 0,607 (IC à 95 % (0,372 à 0,989)). La durée médiane de survie (non ajustée) chez les patients traités par la doxycycline était de 346 jours, contre 208 jours pour le groupe témoin.

Par ailleurs, il semblerait que le génotype du codon 129 ait influencé la durée de survie dans le groupe traité à la doxycycline dans l'étude observationnelle (Figure 30) :

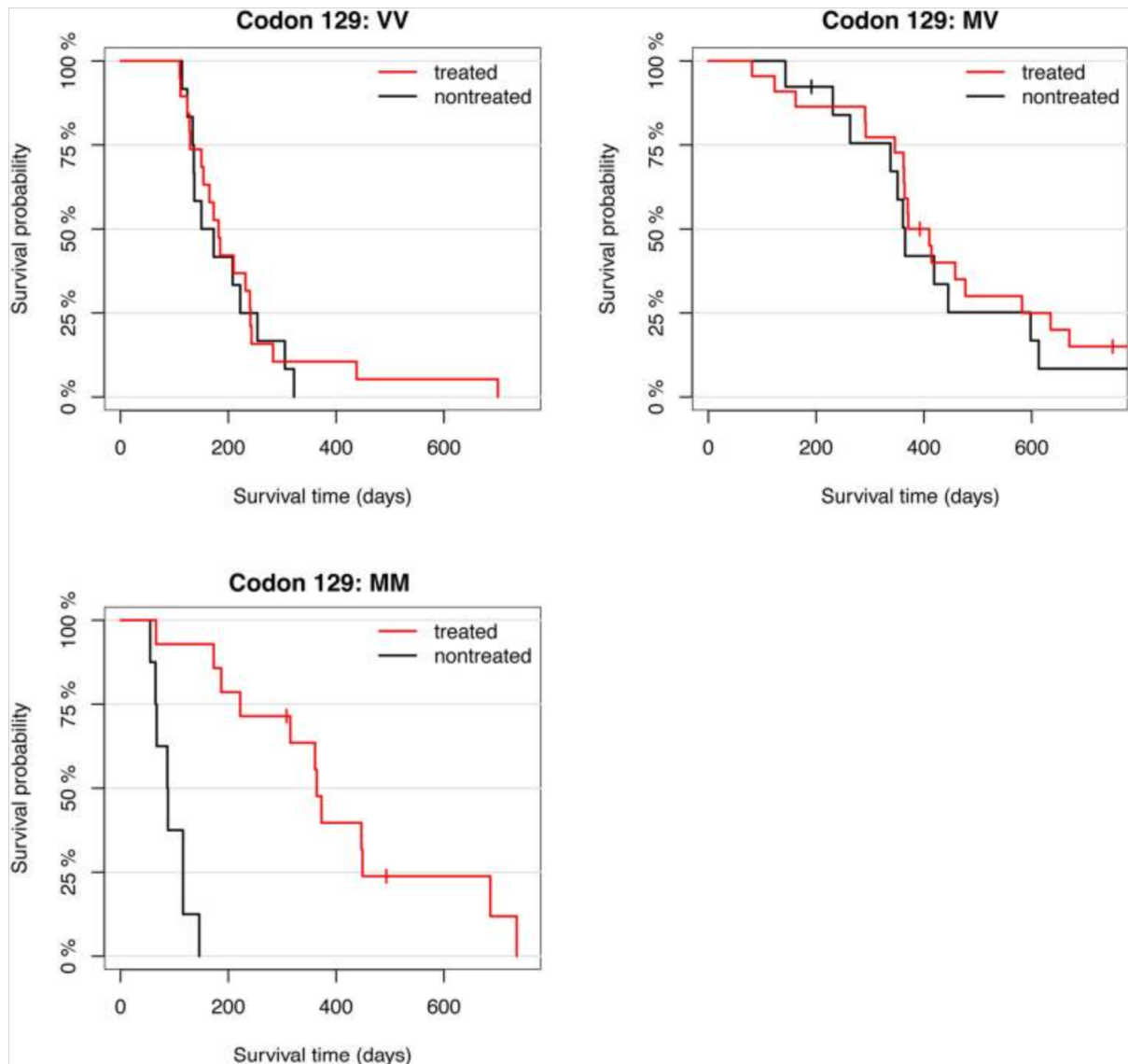


Figure 30 : Influence du polymorphisme du codon 129 sur le temps de survie dans l'étude observationnelle

La durée médiane de survie dans le génotype VV sans traitement est de 162 jours contre 182 jours pour le groupe traité (HR 0,85). Pour le génotype hétérozygote MV, la durée de survie est plus longue, avec 365 jours chez les patients non traités versus 391 jours chez les patients traités (HR 0,83). La durée de survie la plus courte, soit 88 jours, a été observée chez un patient homozygote MM non traité et la durée de survie chez un patient traité à la doxycycline avec ce même génotype était plus longue (364 jours avec un HR significatif de 0,034).

- Scores aux tests cognitifs et fonctionnels et qualité de vie :

Le délai entre l'apparition de la maladie et l'apparition d'un déficit du contrôle du sphincter, de l'alimentation autonome, ou encore du mutisme akinétique était légèrement plus long chez les patients recevant de la doxycycline (Tableau 19).

CE secondaires	Groupe Doxycycline				Groupe Placebo			
	BL	1IT	2IT	8S	BL	1IT	2IT	8S
Probabilité de déficits de la fonction sphinctérienne	43%	62%	81%	81%	40%	80%	80%	80%
Probabilité d'avoir besoin d'aide en matière d'alimentation / nutrition	71%	86%	86%	100%	80%	80%	80%	100%
Probabilité de mutisme akinétique	0%	0%	33%	33%	0%	20%	20%	-

Tableau 19 : Evaluation de la progression de la maladie dans le groupe traité par la doxycycline par rapport au groupe placebo.

BL = Baseline ; 1IT = 1^{ère} interview téléphonique ; 2IT 2^{ème} interview téléphonique ; 8S = 8 semaines

- Tolérance :

Le taux d'EI était de 70 % dans le groupe doxycycline et de 60 % dans le groupe placebo. Le taux d'événements indésirables graves (EIG) était de 40 % dans les deux groupes.

Les EI/EIG enregistrés étaient principalement des dysphagies, des insuffisances respiratoires, des infections des voies respiratoires supérieures et inférieures, des troubles gastro-intestinaux, des thromboses et des infections des voies urinaires.

Au terme de la revue de ces deux études, on remarque déjà qu'elles présentent des conclusions mitigées.

D'une part, S. Haik ne prouve aucune amélioration dans la survie des patients traités par doxycycline ni aucun ralentissement dans la progression de la maladie, observations confirmées par l'étude contrôlée par placebo en double aveugle de D. Varges.

Cependant, l'étude observationnelle D. Varges montre une légère prolongation de la survie des patients et une diminution des signes d'aggravation de la maladie.

Les résultats de S. Haik contredisent non seulement les conclusions des études in vitro et des études réalisées sur le rongeur effectuées auparavant, mais également les résultats des études observationnelles issues de la mise à disposition à titre compassionnel en Italie et en Allemagne, qui avaient décrit une amélioration de la survie chez les patients traités par 100 mg de doxycycline par jour.

Cette contradiction peut s'expliquer premièrement par le fait que chez l'animal, le traitement par tétracycline était en général administré très précocement dans la maladie (avant le début des premiers symptômes) ou alors directement par injection ICV.

Aussi, il est utile de rappeler que d'autres tétracyclines ont produit des résultats plus intéressants que la doxycycline chez le hamster mais cette dernière molécule a été choisie au vu de son profil de sécurité bien connu chez l'homme.

Dans l'étude observationnelle de D. Varges, les chercheurs concluent ici à un effet bénéfique de la doxycycline sur le prolongement de la durée de vie des patients atteints de MCJ dans l'étude observationnelle, confirmant les résultats des précédentes études.

On remarque également une apparition significativement plus tardive des déficits (alimentation, mobilité, parole et contrôle du sphincter) dans le groupe doxycycline. Les chercheurs supposent donc un effet bénéfique de ce traitement sur la progression de la maladie, contrairement à ce qu'avait conclu S. Haik.

La divergence de ces résultats avec ceux de S. Haik peut s'expliquer dans un premier temps par une différence majeure dans les critères d'inclusion de l'étude. Alors que S. Haik inclut des patients peu importe le stade avancé ou précoce de la maladie, D. Varges n'inclut que les patients dont les scores à divers tests neurocognitifs sont supérieurs à un certain seuil. Les patients étaient donc inclus dans l'étude à un stade probablement plus précoce que dans l'étude de S. Haik.

Par ailleurs, les chercheurs ont ici pris en compte le génotype du codon 129 dans l'évaluation de la survie, ce qui n'avait pas été fait dans la précédente étude. Cela a permis de mettre en valeur l'effet plus important de la doxycycline sur un génotype en particulier ; le génotype Met/Met.

En revanche, les résultats issus d'études observationnelles peuvent être sujets à des biais dûs à la liberté des patients de prendre ou non le traitement.

Enfin, concernant les EI, ils semblent plus nombreux et variés dans l'étude de D. Varges par rapport à la précédente étude, alors que le traitement est administré selon les mêmes critères.

En conclusion de ces différentes études sur la doxycycline, il est probable qu'elle ait un réel effet sur la PrPsc pour limiter son agrégation et sa résistance à la PK et il est certain que ses avantages résident dans sa capacité à traverser la BHE et à disposer d'un profil de sécurité et de tolérance bien connu chez l'être humain.

En revanche, sa capacité à prolonger la survie des patients atteints de MCJ reste mitigée. Il est fort probable que son efficacité s'accroît si elle est administrée à des stades très précoces de la maladie et il est également possible qu'elle soit plus bénéfique au génotype Met/Met plus particulièrement mais cela reste à confirmer par de nouvelles études.

Cependant, il est peut être nécessaire de revoir la dose de doxycycline administrée aux patients si l'on souhaite observer des effets plus marqués, étant donné le faible nombre d'effets indésirables et la faible gravité de ceux-ci.

Autrement, il serait peut être intéressant de réaliser des études avec perfusion intracérébrale de doxycycline afin de s'affranchir de la toxicité périphérique que provoquerait une dose orale élevée.

C- Protection des neurones contre l'apoptose

1. La Flupirtine

La Flupirtine est une triaminopyridine utilisée en tant qu'analgésique non opioïde à action centrale (Figure 31). Elle est un "ouvreurs sélectif de canaux potassiques neuronaux" qui agit en réduisant l'activité électrique excessive à l'origine de nombreux états douloureux. (90) La Flupirtine a été synthétisée pour la première fois dans les années 1980 en Allemagne et commercialisée par Degussa Pharma. (91)

La flupirtine est autorisée dans l'Union européenne depuis 1984 comme analgésique alternatif aux opioïdes et aux anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) pour le traitement des douleurs aiguës et chroniques sous la marque Katadolon. (90)

La flupirtine est associée à des troubles hépato-biliaires essentiellement (élévation des transaminases, insuffisance hépatique, lésions hépatiques) allant parfois jusqu'à une greffe de foie, ce qui a conduit la commission européenne à limiter la prise de médicaments à base de Flupirtine à 2 semaines maximum, uniquement dans le cas de douleurs aiguës, et avec une surveillance étroite de la fonction hépatique. (92)

D'après l'OMS, la dose journalière maximale pour la voie orale est de 400 mg. (90)

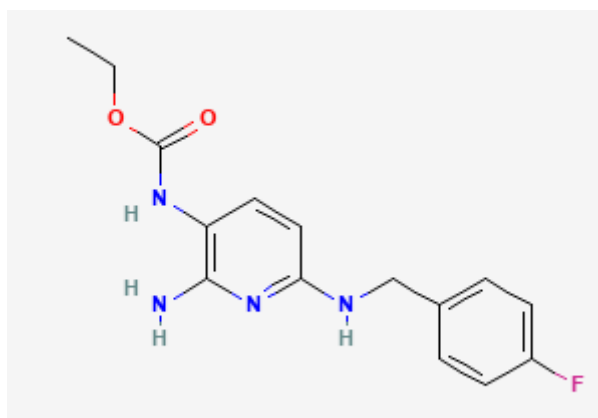


Figure 31 : Molécule de Flupirtine (93)

Hormis l'atténuation de la douleur, la Flupirtine a montré une efficacité dans la protection de cellules neuronales de l'apoptose induite par différents types d'agression grâce à sa fonction d'antagoniste au récepteur N-méthyl-D-aspartate (NMDA). (94) (95) (96)

Dans l'étude de S. Perovic en 1997, des cellules corticales de rat ont été mises en culture en présence du peptide PrP106-126 de la protéine prion, connu pour être neurotoxique. Les cellules ont été cultivées en présence ou en l'absence de Flupirtine, ce qui leur a permis d'observer que la neurotoxicité était diminuée chez les neurones traités par flupirtine. Cette propriété de la Flupirtine à protéger les neurones de l'apoptose en présence de la protéine prion a donc été exploitée dans la recherche d'un traitement contre la MCJ. Un essai a été réalisé chez des patients atteints de MCJ sporadique en 2004 (Tableau 20).

M. Otto et al. (97) 2004	
Type d'étude	Randomisé, double aveugle, contrôlé par placebo, monocentrique
Effectif	28 MCJ sporadique
CE primaire	Evolution du score ADAS-cog (différence entre la baseline et le meilleur score obtenu sous traitement)
CE secondaires	Temps de survie, MMSE, GoeCJDDT
Répartition des groupes	<u>Groupe 1</u> : Placebo (n=15) <u>Groupe 2</u> : Traité par Flupirtine (n=13)
Administration Flupirtine	300 - 400 mg/j par voie orale
Méthodes d'évaluation	Examen avant l'administration de la Flupirtine (baseline) puis à 2, 4, 8, 12, 16 et 20 semaines après le début du traitement pour évaluer : - ADAS-Cog - MMSE

Tableau 20 : Essai conduit sur la flupirtine chez l'homme

Résultats de l'étude de M. Otto et al. :

Les patients traités par Flupirtine ont montré une détérioration significativement moindre sur les tests de démence que les patients traités par placebo ($p = 0,02$, test t unilatéral). L'évolution moyenne de l'ADAS-Cog (différence entre le score initial et le meilleur score obtenu sous traitement) était de +8,4 (+/-15,3) dans le groupe traité et de +20,6 (+/-15,1) dans le groupe placebo (Tableau 21).

	Flupirtine		Placebo	
	Δ Moyennes Baseline (+/- écart-type)	Moyennes baseline (écart-type)	Δ Moyennes Baseline (+/- écart-type)	Moyennes baseline (écart-type)
ADAS-Cog	+8.4 (+/-15.3)	28.2 (9.4)	+20.6 (+/-15.1)	25.1 (10.1)
MMSE	-3.3 (+/- 7.7)	19.2 (3.5)	-8.0 (+/-7.6)	20.5 (4.7)
Temps de survie	107 jours (médiane) 141 jours (Moyenne)		106 (médiane) 97 (moyenne)	

Tableau 21 : Comparaison des résultats aux tests neurocognitifs entre les groupes recevant la flupirtine ou le placebo

Pour rappel, concernant l'interprétation des scores :

- ADAS-Cog : 0 est le meilleur score, 70 est le pire
- MMSE : 0 est le pire score, 30 est le meilleur

Concernant le critère d'évaluation principal, on remarque que même si le score ADAS-cog a empiré dans les 2 groupes, la détérioration est significativement plus importante dans le groupe placebo, attestant d'une dégradation neurocognitive plus avancée.

Pour le score MMSE, à première vue, la détérioration est plus importante dans le groupe placebo (+8) par rapport au groupe traité (+3.3). Malheureusement, cette différence n'est pas suffisante pour atteindre un niveau de significativité acceptable ($p=0.07$).

De la même manière, le temps de survie ne présente aucune différence significative entre les deux groupes.

Les chercheurs reconnaissent ici que l'échantillon comprenait essentiellement des patients avec un génotype M/V ou V/V au codon 129, alors que dans la population générale les patients atteints de MCJ sporadique sont plutôt du génotype M/M. Selon eux, cela aurait pu affecter les résultats obtenus.

Pour conclure sur la flupirtine, des études *in vitro* ont permis de mettre en valeur sa capacité à protéger les neurones de la toxicité induite par la PrPsc. Il est étonnant de voir que ces résultats ont directement débouché sur une étude chez l'être humain, sans passer par des études chez l'animal. Malgré cela, la flupirtine a montré un effet significatif de ralentissement de la détérioration neurocognitive, sans pour autant entraîner d'allongement significatif de la survie.

Il serait intéressant d'explorer à nouveau l'effet de la flupirtine par voie orale mais avec des doses éventuellement plus élevées (l'agence européenne des médicaments indique une dose maximale de 600 mg par jour par voie orale (98)) ou bien par perfusion intracérébrale chez le rongeur, dès l'apparition des premiers symptômes cliniques de la maladie.

V - Les pistes de la recherche actuelle

A- L'immunothérapie

L'immunothérapie est apparue il y a plus de deux siècles lorsque Jenner inventa le tout premier vaccin contre la variole. Depuis, l'immunothérapie est appliquée non seulement à travers les vaccins mais s'est également étendue à d'autres domaines comme le traitement de certains cancers et maladies auto-immunes. (99)

L'idée d'utiliser l'immunothérapie dans le traitement des maladies neurodégénératives est apparue dans le courant des années 2000 grâce au Dr. Schenk qui a proposé d'utiliser des anticorps dirigés contre la protéine Tau dans la maladie d'Alzheimer. Cette immunisation passive a permis de faire régresser les dépôts amyloïdes chez le rongeur. (100)

La difficulté réside dans le fait que le prion peut varier de quelques acides aminés entre les individus et cela peut compromettre la reconnaissance par l'anticorps.

L'objectif est donc de trouver une partie non variable de la PrP^{Sc} qu'un anticorps pourrait reconnaître de façon spécifique et susceptible de déclencher une réaction immunitaire.

Par ailleurs, dans les formes sporadiques ou génétiques de la MCJ, la PrP^{Sc} se trouve dès le départ dans le SNC et les anticorps ne pouvant pas traverser la BHE, ceux-ci seraient plutôt utiles pour prévenir les formes iatrogènes ou la variante de la MCJ à travers une vaccination, afin de réduire les quantités de PrP^{Sc} dans les tissus périphériques avant que celles-ci n'atteignent le SNC.

Ainsi, des pistes d'immunisation actives et passives sont explorées :

1. Immunisation active

L'immunisation active se traduit par la stimulation par un organisme de sa propre réponse immunitaire sous l'influence d'un vaccin ou à la suite d'une infection. (101)

A ce jour, il n'existe pas d'essai clinique portant sur l'immunisation active chez l'homme, mais beaucoup d'études précliniques chez l'animal ont été réalisées, avec différentes stratégies.

L'une de ces stratégies consiste à identifier les peptides de la PrP qui seraient capables de stimuler la réponse immunitaire :

En 2001, L. Souan *et al.* observent que les peptides PrP 31-50 et PrP 211-230 contiennent des motifs de liaison au CMH-II. Dix ans plus tard, V. Bachy *et al.* découvrent que les peptides PrP 98-127 ou PrP 158-187 chargés sur des cellules dendritiques dérivées de la moelle osseuse permettent d'abolir le phénomène de tolérance immunitaire qui consiste en l'absence de réponse immune naturelle envers la forme pathologique de la PrP (Tableau 22).

	L. Souan <i>et al.</i> 2001 (102)	V. Bachy <i>et al.</i> 2010 (103)
Molécule(s)	PrP 31-50, PrP 131-150 et PrP 211-230	PrP 98-127 et PrP 158-187
Modèle animal	Souris NOD, C57BL/6 et A/J	Souris C57BL/6
Prion	Inoculation de cellules ScN2a par voie SC au lendemain de la dernière injection de vaccin.	139A par voie IP 1 semaine après la 2 ^{ème} injection du vaccin.
Protocole de vaccination	50 µg injectés dans les coussinets postérieurs suivi d'un rappel 1 semaine plus tard par voie SC	1x10 ⁶ unités injectées par voie IP à intervalle de 2 semaines pour les 3 premières injections et à 1 mois d'intervalle pour les 4 dernières (7 injections au total).
Résultats	<p>Les peptides PrP spécifiques provoquaient de fortes réponses immunitaires (lymphocytes T et B) chez toutes les souches de souris.</p> <p>La teneur en PrPsc était nettement réduite chez les souris immunisées avec p31-50 (réduction d'environ 60 %) ou p211-230 (réduction de 70 à 80 %), par rapport aux groupes témoins.</p>	<p>L'immunisation avec les peptides provoque une réponse immunitaire significativement plus importante par rapport aux groupes témoins (p<0.05).</p> <p>L'immunisation avec PrP 158-187 provoque une réponse à la fois d'IFN-c et d'IL-4, tandis qu'avec PrP 98-127 induit principalement la sécrétion d'IL-4.</p> <p>2 des 10 souris vaccinées avec le PrP 98-127 sont restées totalement indemnes de maladie après plus d'un an. Les 8 autres souris ont montré une période d'incubation médiane significativement plus longue que les groupes témoins (p<0,0005).</p> <p>Au stade terminal, les souris vaccinées et témoins contiennent des quantités similaires de PrPsc.</p>

Tableau 22 : Essais *in vivo* conduits chez l'animal sur des peptides immunogènes de la PrP

Une deuxième stratégie consiste à conjuguer la PrP ou les peptides de la PrP à des molécules qui stimulent la réponse immunitaire.

M. F. Koller *et al.* ont eu l'idée de conjuguer la PrP23-230 à l'homologue bactérien de la Hsp70, le DnaK d'une part tandis que A. Schwarz *et al.* ont conjugué le peptide PrP 105-125 à l'hémocyanine de la patelle (KLH) d'autre part (Tableau 23).

	M. F. Koller <i>et al.</i> 2002 (104)	A. Schwarz <i>et al.</i> 2003 (105)
Molécule(s)	PrP-DnaK	PrP-KLH
Modèle animal	Souris BALB/c non infectées	Souris NMRI
Prion	Pas d'inoculation de prion	139A par VO

Protocole de vaccination	100 µl par voie IP puis rappel 2 et 3 semaines plus tard. Des échantillons de sang ont été prélevés 10 jours après le 2 ^{ème} rappel et la réponse immunitaire humorale a été mesurée par ELISA	50 µg par voie IP pour un total de 6 injections à intervalle de 3 - 4 semaines. 6 ^{ème} injection 2 semaines avec inoculation.
Résultats	Toutes les souris vaccinées ont présenté des Ac anti-PrP (dont la moitié mesurables de manière fiable) par rapport aux groupes témoins qui n'ont montré aucune trace d'Ac. La spécificité des Ac pour la PrP a été confirmée par Western blot.	Moyenne de survie significativement plus longue pour les groupes vaccinés par rapport aux groupes contrôle (p<0.01).

Tableau 23 : Essais *in vivo* conduits chez l'animal sur des peptides de la PrP conjugués à des immunogènes

Une troisième approche pour briser la tolérance consiste à utiliser des PrP recombinantes hétérologues comme immunogènes : Ishibashi et al. testent tout d'abord des PrP recombinantes bovines et ovines sur des modèles murins infectés par la tremblante, puis dans une seconde étude, observent que la succinylarginine dihydrolase (SADH) bactérienne contient une séquence d'acides aminés similaire à l'épitope reconnu par l'Ac anti-PrP 6H4 (Tableau 24).

	Ishibashi et al. 2007 (106)	Ishibashi et al. 2011 (107)
Molécule(s)	PrP 25-242 bovine ou PrP 23-231 murine ou PrP 25-234 ovine	Protéine recombinante SADH
Modèle animal	Souris BALB/c	Souris BALB/c
Prion	Fukuoka-1 par voie IP	Fukuoka-1 par voie IP
Protocole de vaccination	100 µg par voie IP toutes les 2 semaines pendant 11 semaines avant inoculation (5 injections)	100 µg par voie IP toutes les 2 semaines pendant 11 semaines avant inoculation (5 injections)
Résultats	Les souris immunisées avec la PrP bovine ont montré un temps d'incubation significativement plus long que les groupes contrôles (p = 0,0008). La PrP bovine et ovine stimule les réponses Ac mais pas la PrP murine.	Les souris vaccinées ont montré un taux significativement plus élevé d'Ac anti-PrPc que les groupes contrôles (p<0.05) Moyenne de survie significativement plus longue pour les groupes vaccinés par rapport au groupe contrôle (P<0.04). Aucune différence significative à l'examen histopathologique entre les groupes vaccinés et non vaccinés.

Tableau 24 : Essais *in vivo* conduits chez l'animal sur des peptides de la PrP recombinantes immunogènes

L'immunisation active a donné des résultats plutôt encourageants dans l'ensemble, permettant généralement d'allonger le temps d'incubation des animaux vaccinés par rapport aux témoins, voire même en empêchant la maladie de se déclarer chez de rares individus. Cependant, même si la survie était en moyenne améliorée dûe au temps d'incubation plus long, les études s'accordent sur un point : tous les animaux en phase terminale de la maladie présentaient les mêmes caractéristiques histopathologiques, indépendamment de leur statut vaccinal.

Il semblerait également que les animaux ayant bénéficié de plus d'injections ont présenté une meilleure réponse immunitaire et ont bénéficié de la survie la plus longue. L'efficacité de la protection vaccinale contre l'infection au prion semble donc être corrélée avec le niveau d'immunisation (IgG et IgA) des sujets.

Du point de vue de la tolérance, il ne semble pas y avoir eu d'effets indésirables majeurs liés à la vaccination, mais il est important de garder à l'esprit qu'il existe une toxicité potentielle liée à l'utilisation de la séquence native de la PrP comme immunogène.

Les stratégies d'immunisation active sont généralement dirigées contre la protéine prion normale codée par l'hôte, la PrP^c, empêchant ainsi la conversion de la PrP^c en PrP^{Sc}. Cependant, dans l'idéal, la cible serait la PrP^{Sc}.

La PrP^{Sc} étant structurellement distincte de la PrP^c, il est possible que le système immunitaire reconnaisse la PrP^{Sc} comme un envahisseur étranger et déclenche une réponse immunitaire.

L'hypothèse de différenciation des PrP^{Sc} et PrP^c par les anticorps se base sur un potentiel découverture de certains épitopes lorsque la PrP^c change de conformation.

Il a été rapporté que certains anticorps sont parfois retrouvés vers le stade final de la MCJ, (108) (109) suggérant qu'il existe une réponse immunitaire spécifique contre la PrP^{Sc}.

Bien qu'attrayante, l'idée d'identifier ces épitopes est rendue compliquée par la tendance de la PrP mal repliée à former des agrégats insolubles, incompatibles à la caractérisation biophysique. Malgré tout, quelques épitopes appelés "épitopes spécifiques de la maladie" (DSE) ont été identifiés :

- tyrosine-tyrosine-arginine (YYR) du brin β 2 (110) (111)
- tyrosine-méthionine-leucine (YML) du brin opposé à β 2 (112)
- boucle rigide entre le brin β 2 et l'hélice α 2 (113) (114) (115)

Cependant, même s'ils induisent bien des réponses immunitaires, leur immunogénicité reste limitée, même lorsqu'ils sont associés à de puissantes molécules porteuses ou adjuvants. De plus, l'effet du vaccin YYR (fusionné avec une protéine porteuse, la leucotoxine de *Mannheimia haemolytica*) a été testé sur des wapitis. La vaccination a en effet engendré des Ac spécifiques YYR chez les animaux mais elle n'a eu soit aucun effet soit a accéléré l'apparition de la maladie. La raison de cette accélération n'est pas connue.(116).

L'efficacité des vaccins YML et RL n'a à ce jour pas été évaluée dans des essais sur des animaux, mais il a été démontré que les anticorps qui leur sont associés neutralisent les prions in vitro. (117)

a. Immunisation passive

L'immunisation passive consiste en l'utilisation d'un anticorps ou de lymphocytes sensibilisés provenant d'une source immunisée, pour établir chez le receveur un état d'immunité à court terme contre une substance antigénique. (118)

De nombreux anticorps anti-PrP ont été générés, mais jusqu'à présent, aucun d'entre eux n'a démontré de spécificité pour la PrP^{Sc}. Partant de l'idée que la liaison des anticorps à la PrP^C peut empêcher sa conversion en PrP^{Sc}, le potentiel de ces anticorps contre la réplication des prions et les maladies à prions a été largement étudié.

Dans un premier temps, des études *in vitro* ont été menées, mettant en avant différents mécanismes potentiels par lesquels les anticorps inhibent la PrP.

Certains de ces mécanismes sont illustrés sur la figure 32 ci-dessous :

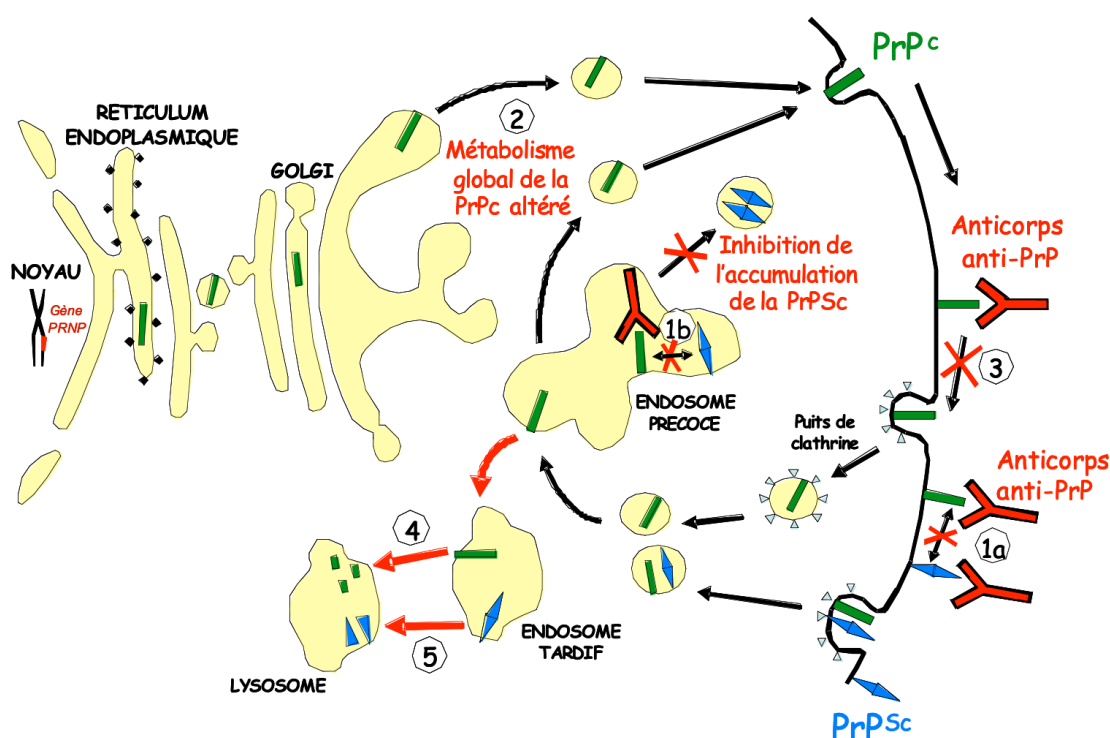


Figure 32 : Différents mécanismes d'action possibles des anticorps inhibant la PrP (119)

Les anticorps peuvent agir en :

- empêchant la liaison entre la PrP^C et la PrP^{Sc} soit au niveau de la membrane plasmique (1a), soit au sein des endosomes (1b).
- perturbant le métabolisme de la PrP^C (2 et 3)
- accélérant la dégradation de la PrP^C (4) ou de la PrP^{Sc} (5)

Mécanisme	Source	Anticorps	Modèle cellulaire	Résultats
Inhibition de l'interaction de la PrPc avec la PrPsc	M. Enari <i>et al.</i> , 2001 (120)	6H4 (dirigé contre les résidus 144-152)	ScN2a	6H4 empêche la formation de PrPSc soit par séquestration de la PrPC ou PrPSc ou les deux, empêchant ainsi la conversion.
	J. Pankiewicz <i>et al.</i> , 2006 (121)	6D11 (résidus 93-109), 7H6 (résidus 130-140) 7A12 (résidus 143-155)	N2a infectées par le prion 22L	6D11, 7H6 et 7A12 ont complètement éliminé la présence de PrPsc dans les cellules traitées par rapport aux cellules non traitées (P < 0,001). L'effet thérapeutique était dose-dépendant et persistant, car lorsque les Ac étaient retirés du milieu et que les cellules étaient cultivées pendant 14 jours supplémentaires aucune PrP Sc n'était détectée. 6D11 se lie à la PrPsc et est internalisée dans les cellules avec elle. Par conséquent, il peut empêcher l'interaction PrPSc – PrPC à la fois sur la membrane cellulaire mais également dans le cytoplasme.
	D. Peretz <i>et al.</i> , 2001 (122)	Fab D13 et D18	ScN2a	Les Ac lient la PrPC à la surface des cellules et inhibent la formation de PrPSc de manière dose-dépendante. L'effet inhibiteur s'explique par la liaison des Ac spécifiquement aux molécules de PrPC à la surface cellulaire et empêchant ainsi l'ancrage de la PrPSc.
	V. Perrier <i>et al.</i> , 2004 (123)	SAF34	N2a infectées par le prion 22L	Le niveau de PrPsc dans les cellules traitées par SAF34 par rapport à celui des cellules non traitées, a été réduit de manière significative (p < 0.001) et dose-dépendante. Cette inhibition est probablement due à la prévention de la formation de complexes moléculaires entre la PrPC et la PrPSc d'après les chercheurs.
Réduction de la demi-vie métabolique de la PrPc	V. Perrier <i>et al.</i> , 2004 (123)	SAF61	N2a infectées par le prion 22L	Les Ac SAF61 ont significativement diminué le T1/2 de la PrPC de 5 à 3 heures par rapport aux cellules non traitées ou traitées avec SAF34.

Inhibition de la liaison de la PrP à son récepteur de la membrane cellulaire	Leucht <i>et al.</i> , 2003 (124)	Ac W3 (spécifiques du LRP/LR)	ScMNB et ScN2a	L'Ac W3 a permis une réduction de la PrPsc de manière dose-dépendante à des niveaux indétectables. À une concentration plus élevée (64 µg ml ⁻¹), la PrPsc était complètement supprimée après 3 jours d'incubation.
Séquestration de la PrPc à la surface cellulaire / libération de la PrPc de la membrane plasmique vers le milieu	Féraudet <i>et al.</i> , 2005 (125)	Sha31 (126-164) SAF83 (126-164) BAR236 BAR214 SAF34 SAF61	N2a infectées par le prion 22L	Aucun de ces Ac ne se lie à la PrPsc, mais ils se lient bien à la PrPc. Identification de 4 épitopes linéaires de la PrPc médiateurs d'un effet curatif : <ul style="list-style-type: none"> - séquence très N-terminale - séquence octa-répétition 59-89 - séquence 97-102 - région centrale 126-164 2 Ac dirigés contre la région centrale ont montré une IC50 très faible Sha31 (0,7nM) et SAF83 (1,7nM) 2 Ac dirigés contre un épitope conformationnel de la PrP ont également montré une faible IC50 : BAR236 (0,7nM) et BAR 214 (1,7nM). Ces Ac empêchent l'internalisation de la PrPc ou facilitent son décrochage de la membrane cellulaire, empêchant ainsi la conversion en PrPsc. Effet synergique sur la diminution des taux de PrPsc lors de l'administration de 2 Ac reconnaissant le même épitope : SAF34 et SAF61. Effet persistant car les cellules traitées avec Sha31, BAR236, SAF83 et SAF34 ne montrent aucune réapparition de PrPsc pendant 17 jours après le traitement de 11 jours par Ac.

Tableau 25 : Essais *in vitro* conduits sur des anticorps dans le cadre d'une immunisation passive

Les nombreux essais *in vitro* mettent en avant un très large panel d'anticorps exerçant un effet sur le prion via des mécanismes différents. Dans les faits, la caractérisation du ou des mécanisme(s) d'action de ces anticorps relève souvent d'hypothèses de la part des chercheurs. En effet, le mécanisme d'action exact est souvent difficile à identifier.

Malgré tout, ces anticorps parviennent tous plus ou moins à réduire voire supprimer la PrPsc dans les cellules infectées, certains d'entre eux comme 6D11, 7H6, 7A12 parviennent même à éliminer durablement la PrPsc, en empêchant la synthèse de novo. La majorité de ces études observent également un effet dose-dépendant dans l'inhibition de la PrP, et même un effet synergique lorsque deux anticorps reconnaissant le même épitope de la PrP sont combinés. Les études conduites *in vivo* chez l'animal ne sont pas moins nombreuses et reprennent certains des anticorps étudiés *in vitro*, en apportant de nouvelles découvertes (Tableau 26).

Source	Anticorps	Modèle animal	Souche de prion	Administration Ac	Résultats
White A.R. <i>et al.</i> 2003 (126)	ICSM35 (<i>Ac monoclonal IgG2b dirigé contre les résidus 91-110 de la PrP murine</i>) ICSM18 (<i>Ac monoclonal IgG1 dirigé contre les résidus 146-159 de la PrP murine</i>)	Souris FVB/N	RML par voie IP	Injection IP de 2 mg d'Ac 7 ou 30 jours PI puis 2 fois / semaine	Le traitement par ICSM 18 ou ICSM35 à 7 ou 30 jours PI a prolongé la survie des souris traitées d'au moins 153% en moyenne par rapport aux groupes témoins (P<0,001). Les souris traitées sont restées en bonne santé pendant plus de 300 jours après que les groupes contrôles aient succombé. Les souris traitées à partir de 7 jours PI avec ICSM 18 ou ICSM35 montraient systématiquement une suppression quasi-complète de PrPsc dans la rate. Les souris traitées à partir de 30 jours PI montraient une réduction moins importante du taux de PrPsc pour ICSM35.
Sigurdsson E.M. <i>et al.</i> 2003 (127)	8B4 (<i>Ac monoclonal reconnaissant les résidus 34-52 de la PrP</i>) 8H4 (<i>Ac monoclonal reconnaissant les résidus 175-185 de la PrP</i>) 8F9 (<i>Ac monoclonal reconnaissant les résidus 205-233 de la PrP</i>)	Souris CD- 1	139A par voie IP	Injection IP de 50 µg d'Ac immédiatement après inoculation du prion puis chaque semaine.	La vaccination retarde significativement l'apparition des signes cliniques de la maladie à prions. Les durées d'incubation pour les souris traitées étaient significativement prolongées d'environ 10% par rapport aux groupes témoins pour les groupes 8B4 (p<0.05) et 8H4 (p<0.05). 10% des animaux traités au 8B4 n'ont pas contracté la maladie. L'Ac 8F9 est moins efficace que les anticorps 8B4 ou 8H4, ce qui est probablement lié à la plus faible affinité de cet Ac pour la PrPC ou la PrPSc.
Song C. H. <i>et al.</i>	106 (<i>Ac monoclonal IgG2b reconnaissant</i>)	Souris ICR	Obihiro ou Chandler par voie ICV	Injection ICV via une pompe osmotique à 60,	Le traitement par l'anticorps 31C6 a prolongé la durée de survie d'environ 8 %, même lorsque le traitement a commencé à un stade très avancé de la maladie à prions

2008 (128)	<i>les résidus 88-90 de la PrP murine</i> 110 (résidus 83-89) 31C6 (résidus 143-149) 44B1 (résidus 155-231)			90 ou 120 jours PI pendant 4 semaines	(P<0.05). Une perfusion de 4 semaines d'Ac initiée 120 jours PI, soit juste après le début clinique, a réduit les taux de PrPSc à 70 à 80 % par rapport aux groupes contrôles.
Wuertzer C.A. et al. 2008 (129)	scFv-D18 via des AAV2 scFv3:3 via des AAV2	Souris C57Bl/6	RML par voie IP	2 injections simultanées (9 x 10 ⁹ p.p. par injection) par voie ICV par semaine débutant 30 jours avant inoculation du prion.	Le traitement avec scFvD18 ou scFv3:3 a prolongé le temps d'incubation moyen de 25,63 % (p<0,007) ou 11,56 % (P < 0,019). Les souris traitées avec scFvD18 ont montré une diminution significative des niveaux de PrPSc résistante à la PK par rapport aux groupes contrôles (p<0,004)
Zuber et al., 2008a (130)	scFv-S18	Souris C57BL/6	RML par voie IP	Une injection IP de 1 mg d'Ac / semaine débutant 1 jour avant inoculation et pendant 8 semaines.	Le scFv-S18 a réduit le dépôt de PrPSc dans la rate des souris infectées d'environ 40 %. Cependant, l'Ac n'a pas prolongé de manière significative les temps d'incubation et la survie probablement en raison de la courte ½ vie des scFv dans le sang (environ 12h ou moins) et de quantités administrées insuffisantes.
Zuber et al., 2008b (131)	scFv-S18 via des AAV2 (dirigé contre le récepteur LRP/LR)	Souris C57BL/6	RML par voie ICV	1 unique injection ICV de 5 x 10 ⁹ p.p. 2 semaines avant inoculation du prion	90 jours après l'infection, l'expression des scFv-S18 a entraîné une réduction de la propagation périphérique de la PrPSc d'environ 60% (p=0.04), sans prolongation significative des temps d'incubation et de la survie.
Sadowski M.J. et al. 2009 (132)	6D11 (Ac monoclonal reconnaissant les résidus 97-100 de la PrP murine)	Souris CD-1	22L par voie IP	Injection IV de 1 mg d'Ac immédiatement après l'infection à prion puis 0,5 mg injectés par voie IP 2 fois / semaine pendant 4 ou 8 semaines.	Le traitement par 6D11 a prolongé la période d'incubation de 36,9 % (p<0,0001) et amélioré la pathologie du SNC. Les souris traitées avec 6D11 avaient 79% moins de PrPSc dans le SNC par rapport aux souris témoins tuées au même stade clinique de la maladie (p<0,0001).

Féraudet-Tarisse et al., 2010 (133)	BAR236, BAR223, SAF611, BAR226, Sha31, β S23, BAR214, 11C6, BAR221	Souris C57BL/6 et tga20	Me7 par voie IP	1 mg tous les 10 jours débutant 10 jours PI et pendant 50 jours.	Chez les souris traitées, une réduction significative de l'accumulation splénique de PrPSc a été observée avec certains Ac (BAR223***, BAR236***, SAF61**, BAR226***, Sha31***, β S23***, BAR214**, 11C6*** et BAR221**). Au moins la moitié des souris traitées avec BAR233 et BAR236 présentaient des taux de PrPSc inférieurs au seuil de détection. **p<0.01 ***p<0.001
Petsch B. et al. 2011 (134)	W226 (<i>L'Ac monoclonal reconnaît les résidus 146-159 de la PrP murine</i>) scFvW226	Souris C57BL/6	RML par voie IP ou IC	Injection IP de 2 mg d'Ac 2 fois / semaine débutant à 28 jours PI et pendant 70 ou 320 jours	Les souris traitées infectées par voie IC n'ont montré aucune prolongation de la période d'incubation. Les souris traitées infectées par voie IP ont démontré une prolongation minimale mais significative de la période d'incubation. Les différences en termes de période d'incubation entre les souris traitées pendant 70 ou 320 jours ou traitées par scW226 ou W226 n'étaient pas significatives.
Moda F. et al. 2012 (135)	scFvD18 via des AAV9 (<i>Ac monoclonal reconnaissant les résidus 132-156 de la PrP murine</i>)	Souris CD-1	RML par voie IP 1 mois après la dernière dose d'AAV9-scFv D18	Injection ICV bilatérale de l'Ac ($1,4 \times 10^{12}$ copies de génome/ml)	Les animaux traités présentaient les signes cliniques de la maladie avec un retard d'environ 20 jours par rapport au groupe non traité. Le temps d'incubation moyen des animaux traités était significativement retardé d'environ 20 jours par rapport au groupe non traité (p = 0,0186). La durée de survie des souris traitées était légèrement plus longue que celle des animaux non traités mais non significative (p = 0,085). L'examen histologique (à 166 jours PI) des souris traitées a révélé des changements neuropathologiques et des taux de PrP moins importants chez les souris traitées par rapport à leurs homologues non traitées (p = 0,0005, test t). L'examen neuropathologique chez les souris au stade terminal a révélé des changements similaires chez les animaux traités et non traités. Les IRM pondérées en T2 ont confirmé que ni l'inoculation du vecteur ni les particules virales ne produisaient d'effets inflammatoires ou neurotoxiques.

Tableau 26 : Essais *in vivo* conduits chez l'animal sur des anticorps dans le cadre d'une immunisation passive

Parmi ces études chez l'animal, l'effet thérapeutique le plus impressionnant a été obtenu avec l'ICSM 18 et l'ICSM 35 qui ont permis aux souris infectées de survivre plus de 500 jours sans aucun signe de maladie. De la même manière, la majorité de ces études décrivent un allongement de la période d'incubation ou de la survie. Cependant, dans la plupart des cas, ces résultats sont décrits dans le cadre d'une administration précoce (avant l'apparition des premiers symptômes de la maladie) ou lors d'une inoculation par voie périphérique du prion, ce qui encourage le postulat initial que l'immunothérapie par voie périphérique ne peut être utilisée que lorsque la PrPsc a pénétré l'organisme par voie périphérique et qu'elle n'a pas encore atteint le SNC (ce qui exclut d'office les patients atteints de MCJ sporadique ou héréditaire).

En revanche, l'étude de Song et al. procède à une inoculation du prion directement dans le SNC suivie d'un traitement tardif (60, 90 ou 120 jours après l'inoculation) via une perfusion de 4 semaines par voie ICV. Ils rapportent une légère mais significative prolongation de la durée de vie des animaux.

Entre 2018 et 2019, une étude clinique a été menée sur un anticorps appelé PRN100, qui est la version humanisée de l'anticorps de souris ICSM-18 (Tableau 27). Il se lie à l'hélice alpha 1 de la PrP, au niveau des codons 146-153 environ. Il est conçu pour se lier et stabiliser la PrPc au niveau de la membrane plasmique, l'empêchant ainsi la liaison PrPc-PrPsc et donc la conversion.

S. Mead et al. (136) 2022	
Effectif	6 MCJ (5 sporadiques et 1 iatrogène)
Répartition des groupes	<p><u>Groupe 1</u> : Non traité (n=72) (<i>données issues de patients MCJ non traités de l'étude NPMC recrutés entre 2008 et 2018, appariés pour le score de base de l'échelle d'évaluation de la maladie à prions MRC (± 1 point) et le génotype du codon 129 et le sous-type de la maladie</i>)</p> <p><u>Groupe 2</u> : Patients traités (n=6)</p>
Administration	<p>Injection de PRN100 par voie IV à la dose de 80-120 mg/kg toutes les 2 semaines jusqu'au décès ou à l'arrêt du traitement.</p> <p>La concentration cible du PRN100 dans le LCR étant de 50 nM, si elle n'était pas atteinte par voie IV, une perfusion ICV pouvait être réalisée.</p>
Méthodes d'évaluation	<p>Les concentrations de PRN100 ont été mesurées par ELISA dans le sérum avant et 24 h après l'administration et dans le LCR 24 h après l'administration.</p> <p>Évaluation de référence à T0 puis au moins toutes les 2 semaines de sur l'échelle d'évaluation des maladies à prions MRC*</p> <p>IRM cérébrale et/ou évaluation neuropsychologique toutes les 6 semaines</p> <p>Autopsie post-mortem chez les patients consentants</p>

Tableau 27 : Essai conduit chez l'homme en vue d'une immunisation passive

* Echelle composite fonctionnellement orientée de la gravité de la maladie ; 0 équivaut à un état comateux et 20 équivaut à une indépendance pour les activités de la vie quotidienne

Résultats de l'étude :

- Survie :

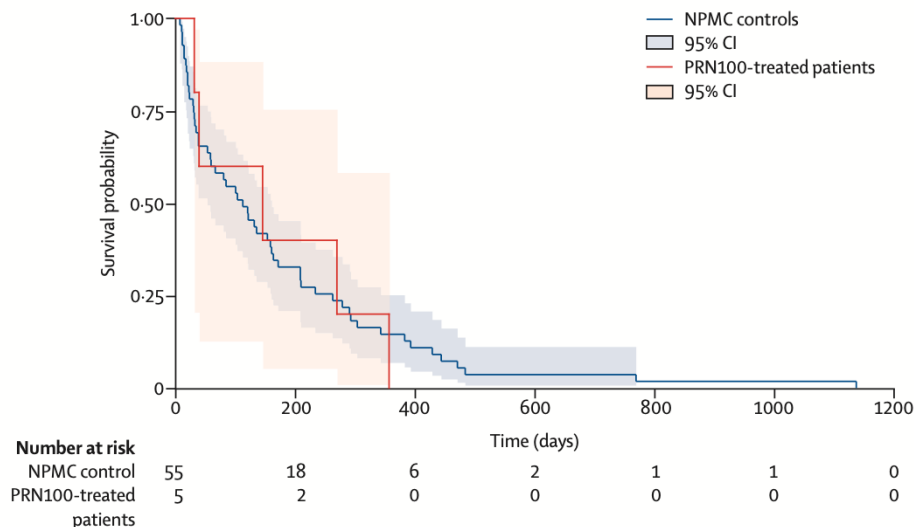


Figure 33 : Survie moyenne des patients atteints de MCJ sporadique traités par PRN100 et non traités.

Le patient atteints de MCJ iatrogénique et les sujets témoins non traités correspondants ont été exclus de cette analyse

Comme le montre la figure 33 ci-dessus, le traitement par PRN100 n'a malheureusement procuré aucun avantage aux patients traités par rapport aux patients non traités.

- Examen du LCR :

Le PRN100 était détectable dans tous les échantillons prélevés 24h après administration, avec une augmentation à peu près proportionnelle à la dose de l'exposition systémique au PRN100 libre.

- Paramètres neurocognitifs et IRM :

La comparaison de la baisse du score sur l'échelle MRC d'évaluation de la maladie à prions entre les patients traités et les témoins appariés par modélisation mixte linéaire n'a pas montré de différence statistiquement significative.

L'IRM cérébrale de suivi a montré des changements stables du signal lié à la MCJ chez trois patients et une perte de volume cérébral chez trois autres patients.

- Tolérance :

Sur les 6 patients traités, 3 ont eu des effets indésirables :

- Infections urinaires en partie liées au cathétérisme ;
- Infection des voies respiratoires ;
- Infections de la ligne à trois reprises qui ont aboutit rapidement au retrait de la ligne et aux antibiotiques intraveineux.

Aucun patient n'a présenté d'effet indésirable grave.

- Examen neuropathologique :

L'autopsie n'a pu être réalisée que sur deux patients traités (MCJ iatrogénique et MCJ sporadique).

Le traitement par PRN100 n'entraîne pas de neurotoxicité et suggère que le PRN100 pourrait aider à éliminer du cerveau la PrP liée à la maladie.

Malgré une apparente absence d'amélioration significative dans la survie ou dans les symptômes des patients traités par rapport aux patients non traités, les concentrations en anticorps dans le LCR 24 heures après administration prouvent que certains anticorps sont capables de traverser la BHE pour cibler la PrP directement dans le SNC.

Cette découverte est très encourageante, d'autant plus que le traitement semble bien toléré par les patients et ne semble pas induire de neurotoxicité ni de réaction immunitaire.

Enfin, il faut considérer le faible échantillon de patients traités qui ne permet pas de conclure définitivement à une absence totale d'effet sur la survie ou les symptômes des patients. D'autant plus que la durée du traitement est très variable au sein de l'échantillon (entre 7 et 260 jours)

Au terme de cette étude des stratégies d'immunothérapie, il est évident que le sujet est toujours d'actualité puisqu'une seule étude chez l'homme a été réalisée à ce jour. Afin de pouvoir progresser, la recherche doit encore parvenir à relever plusieurs défis :

1) Produire des anticorps qui soient suffisamment sensibles et spécifiques pour se lier à la PrP^{Sc}

Afin de minimiser les effets indésirables, un anticorps spécifique de la PrP^{Sc} serait un meilleur choix pour développer une immunothérapie efficace. Cependant, malgré des efforts considérables, il n'existe toujours pas d'Ac confirmés qui ciblent uniquement la PrP^{Sc} et non la PrP^C.

Dans cette optique, les nanocorps pourraient constituer une approche alternative. Ils possèdent un CDR3 plus sélectif des épitopes conformationnels. La différence entre la PrP^C et la PrP^{Sc} étant d'ordre conformationnel, les nanocorps sont des candidats idéaux.

Le fait que les nanocorps soient petits et codés par un seul gène leur permet également d'être facilement modifiés et conditionnés dans des vecteurs viraux pour la thérapie génique. Plusieurs nanocorps se liant à la PrP^C ont été identifiés et certains d'entre eux sont capables d'inhiber la réplication du prion *in vitro* ou dans des lignées cellulaires infectées par le prion et de traverser la BHE. (137)

2) Contourner la BHE pour traiter des stades symptomatiques de la maladie.

Le contournement de la BHE est une étape nécessaire pour traiter des cas symptomatiques de la maladie à prions, dans la mesure où la PrP^{Sc} a déjà infecté le SNC. Il est donc primordial pour les anticorps d'être disponibles sur le site d'action afin d'exercer un effet dans cette situation. Cependant, la difficulté des anticorps à passer la BHE vient la plupart du temps de leur taille importante.

Une solution évidente semble être l'administration d'anticorps directement dans le SNC par voie intracérébrale mais cette voie n'est pas sans risque pour le patient et représente une contrainte non négligeable affectant sa qualité de vie.

Certaines études ont proposé une administration par vecteur AAV2 de fragments à chaîne unique d'Ac, beaucoup plus petits qu'un anticorps entier (scFvD18).

Il semblerait cependant que certains anticorps soient capables de traverser la BHE comme le prouve l'étude sur PRN100, ce qui est encourageant.

Par ailleurs, il semblerait que la BHE devienne de plus en plus perméable au cours de maladies neurodégénératives telles que Alzheimer (138) mais ce phénomène n'est pas encore quantifié dans la MCJ chez l'homme pour le moment.

3) La sécurité du traitement

La présence d'anticorps dans le SNC est susceptible d'entraîner une neurotoxicité. (139) R. R. Reimann *et al.* rapportent que les anticorps D13 et ICSM18 induisent une neurotoxicité rapide, dépendante de la dose et ciblée. Lefebvre-Roque M *et al.* ont observé une perte de cellules neuronales, astrogliose et activation des microglies suite à l'administration intracérébrale de l'anticorps 4H11 à des souris. (140)

Cependant, même si les études se contredisent à ce sujet (141), il est important de rester vigilant sur cet effet indésirable des anticorps.

En ce qui concerne l'immunisation active, celle-ci est susceptible d'entraîner une production d'anticorps pouvant cibler des épitopes neurotoxiques de la PrPc. Pour éviter cela, il est nécessaire de générer des immunogènes capables d'engendrer une réponse immunitaire la plus spécifique possible de la PrPsc.

Par ailleurs, le choix de l'adjuvant est un paramètre à ne pas négliger puisqu'il a été rapporté que certains adjuvants (tels que le CpG) induisent des lésions dans les tissus lymphoïdes périphériques. (142)

Les anticorps représentent une stratégie actuelle majeure dans le traitement non seulement de la MCJ, mais également des autres maladies à prions voire de maladies telles que Alzheimer.

Cependant, les problématiques évoquées ci-dessus telles que la spécificité pour la PrPsc, le passage de la BHE ou la neurotoxicité restent encore à résoudre afin de produire des traitements et vaccins efficaces, spécifiques et sûrs, qui ne soient pas seulement réservés à des infections périphériques.

B- La thérapie génique

Une autre approche récente se porte sur la thérapie génique, qui se définit comme étant *“l’introduction délibérée de matériel génétique dans les cellules somatiques humaines dans le but de corriger un défaut génétique ou de pallier le manque d’une protéine en apportant le gène responsable de sa synthèse”*. (143)

La thérapie génique pourrait ainsi permettre de “corriger” les gènes porteurs d’une mutation associée à une plus forte probabilité de déclencher la maladie (comme la mutation E200K).

On sait aujourd’hui que c’est le gène PRNP qui code pour la PrP, et ce gène a été bien étudié. En revanche, il est important de préciser que toute modification apportée à ce gène impactera non seulement la PrP^{sc} mais surtout la PrP^c, qui est la forme saine de la protéine. Le tableau 28 ci-dessous constitue un résumé des expériences sur l’inactivation du gène PRNP chez différents animaux (souris, chèvres) et leurs conséquences :

Mutation	Effet
PRNP (-/-)	Prévient l’infection par les prions (144) (145)
PRNP (+/-)	retarde le développement de la maladie (146)
Surexpression PRNP	Accélère l’évolution de la maladie (147)

Tableau 28 : Mutations modulatrices de l’expression du gène PRNP et leur conséquences chez des souris et des chèvres

L’inactivation de l’expression de la PrP^c chez les souris, les chèvres et les bovins n’a pas engendré de troubles du SNC. En revanche, cela a eu un impact sur le maintien de la gaine de myéline dans le SNC conduisant à l’apparition d’une neuropathie périphérique de type démyélinisant chez les souris homozygotes pour lesquelles les 2 allèles de PRNP ont été désactivés. (148) Ce phénomène n’a cependant pas été observé chez les animaux hétérozygotes pour lesquels un seul allèle sur les 2 était désactivé. (149) (150)

Aucune inactivation du gène PRNP n’a été réalisée chez l’homme jusqu’à aujourd’hui mais des chercheurs ont étudié des mutations naturelles dans la région N-Terminale entraînant une perte de fonction. Etant donné que les sujets possédant ces mutations étaient d’âge moyen et en bonne santé, cela a donc permis de conclure qu’une perte de fonction réduisant de 50% l’expression de la PrP^c n’entraîne pas de trouble particulier chez l’homme. (151) (152)

D’un point de vue thérapeutique, le taux d’abaissement de l’expression de PrP^c nécessaire pour observer un effet significatif sur le déclenchement de la maladie reste à déterminer.

1. Les oligonucléotides antisens (ASO)

Un oligonucléotide antisens est un brin unique d'acide nucléique ou d'analogues d'acides nucléiques, de 15 à 20 nucléotides de longueur, avec une séquence complémentaire à une séquence nucléotidique cible (ADN ou ARN) afin de l'inactiver et empêcher ou modifier la synthèse d'une protéine.

Il existe 2 catégories d'ASO :

- 1) Les ASO ribonucléase H-dépendants, qui induisent la dégradation de l'ARNm (Figure 34).
- 2) Les ASO stérique-bloquants, qui occupent une région spécifique de l'ARN nécessaire à la traduction, à l'épissage, ou à la régulation post-transcriptionnelle.

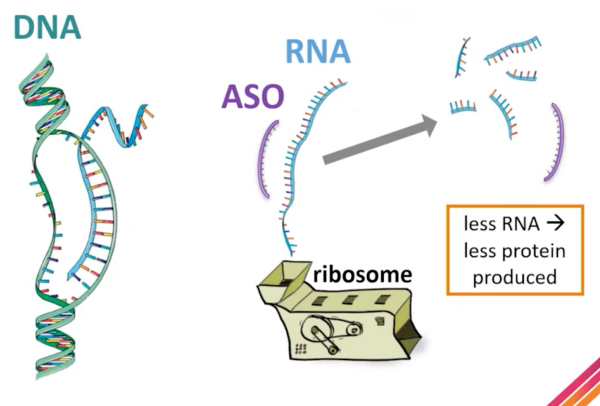


Figure 34 : Mécanisme de dégradation de l'ARNm par liaison à l'ASO (153)

Pour remplir leur fonction, les ASO doivent être capables d'entrer dans les cellules cibles, c'est pourquoi ils sont généralement associés à un dispositif de ciblage (ligand correspondant à des récepteurs sur la cellule cible ou des Ac ciblés contre des molécules de surface des cellules cibles)

Les ASO sont également sensibles aux nucléases plasmatiques, raison pour laquelle ils sont en général chimiquement modifiés pour résister à leur digestion. (154)

La modification par phosphorothioate rend les oligonucléotides résistants aux nucléases tout en conservant leur charge et leur structure, en remplaçant un oxygène du phosphate du squelette par un atome de soufre.

Les ASOs sont actuellement utilisés en thérapie pour des pathologies telles que l'hypercholestérolémie familiale (Kynamro®) (155), la rétinite à cytomégalovirus (Vitravene®) (156), l'amyotrophie spinale (Spinraza®) (157), ou encore la maladie musculaire de Duchenne (Exondys51®, non autorisé en Europe) (158).

Au vu du mécanisme d'action des ASOs, il est naturel que la recherche se soit intéressée à leurs potentiels effets sur les maladies à prions.

Pour rappel, le gène PRNP est responsable de la production de PrPc via un ARN messager. La PrPc se transforme ensuite en PrPsc à cause d'un changement de conformation post-traductionnel, causant la maladie à prions.

L'intérêt des ASOs ici est d'empêcher la traduction de l'ARNm en PrPc en induisant sa dégradation. Ainsi, sans PrPc, on supprime le risque de formation de PrPsc et donc l'apparition d'une maladie à prions (Figure 35).

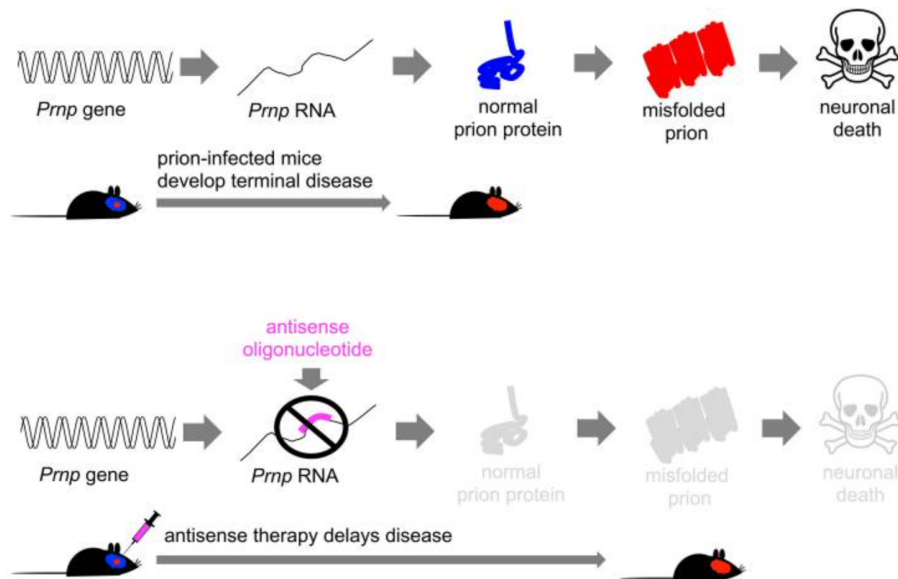


Figure 35 : Fonctionnement des ASOs dans le traitement des maladies à prions (159)

Afin d'évaluer les effets des ASO dans le cas de maladies à prions, une étude *in vitro* a été réalisée en 2006 (Tableau 29).

D.A. Kocisko <i>et al.</i> (160) 2006	
Lignées	Cellules de neuroblastome de souris (N2a)
Molécule étudiée	Comparaison des effets de 3 analogues phosphorothiotiques monocaténares dégénérés d'acides nucléiques naturels : <ul style="list-style-type: none"> - Randomer 1 : phosphorothioé et fortement hydrophobe - Randomer 2 : phosphorothioé et 2'-O méthylé et fortement hydrophobe - Randomer 3 : 2'-O méthylé et faiblement hydrophobe
Méthode	<p>Les cellules ont été infectées par les souches 22L, RML de la tremblante de la souris et la tremblante du mouton puis incubées avec les ASOs à des doses allant de :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 10 à 500 nM pour Randomer 1 et 2 - 10 à 100 um pour Randomer 3. <p>1) Analyse de la capacité d'inhibition de l'accumulation de PrPsc par Randomer 1, 2 et 3.</p> <p>2) L'activité anti-PrPsc du Randomer 1 a été comparée à celle d'autres ON homo- et hétéropolymères phosphorothioés :</p> <ul style="list-style-type: none"> - De taille équivalente (40 bases) et de compositions définies. - De différentes tailles (6 à 120 bases) <p>3) Recherche d'une éventuelle interaction des Randomers 1, 2 et 3 directement avec une PrPc recombinante (rPrPc) en utilisant un test acellulaire basé sur la polarisation de fluorescence.</p>

	La corrélation entre l'intensité de l'interaction et la taille du PS-ON a également été examinée en utilisant les analogues de Randomer 1.
Résultats	<p>1) Concernant l'inhibition de l'accumulation de PrPsc, les Randomers 1 et 2 avaient des IC50 de 20 à 51 nM, tandis que le Randomer 3 était >1 000 fois moins efficace, ce qui suggère que le caractère hydrophobe et la modification phosphorothioate sont des paramètres importants. Aucune cytotoxicité n'a été observée.</p> <p>2) Les différents ASO hétéropolymères et homopolymères de composition différentes ont montré des activités comparables à celles du Randomer 1, suggérant que l'effet anti-prion des ASOs dépendent peu de la composition des bases. En revanche, une activité dépendante de la taille était apparente contre les souches 22L et du mouton, les ON plus longs ayant des activités plus puissantes. Des activités anti-PrPsc presque maximales ont été atteintes pour des tailles d'environ 25 à 28 bases.</p> <p>3) Randomers 1 et 2 marqués ont montré une liaison >8 fois plus forte aux rPrPC que le Randomer 3. Une corrélation entre la liaison et la taille des PS-ON a effectivement été observée, les ON plus grands entraînant une liaison plus forte. La taille optimale pour la liaison était comprise entre 20 et 40 bases.</p>

Tableau 29 : Essai *in vitro* conduit sur des ASOs

Cette étude révèle d'importantes découvertes. Premièrement, les oligonucléotides nécessitent un squelette phosphorothioate ainsi qu'une importante hydrophobicité pour exercer leur activité.

De plus, la taille semble également être un paramètre important, (les ASO les plus efficaces étant entre 20 et 40 bases), contrairement à la composition nucléotidique, qui ne semble pas avoir d'impact sur l'activité anti-prion.

Enfin, les oligonucléotides interagissent directement avec la PrP, selon une affinité une nouvelle fois dépendante de la taille.

Tous ces éléments tendent à remettre en question le mécanisme des ASOs dans le cadre de la maladie à prions. En effet, le mécanisme des ASOs était supposé être médié par une liaison avec l'ARNm de la PrP suivi d'une dégradation par la ribonucléase H. Cependant, d'après cette étude, il semblerait que les ASOs agissent ici via un mécanisme aptamérique, via une liaison directe avec la PrP.

Cette hypothèse semble être confirmée par la suite avec une autre étude *in vitro* portant cette fois sur des ADN phosphorothioate (PS-ADN) (161), où les chercheurs ont mesuré les taux d'ARNm de PrP à des moments où les taux de PrPsc étaient réduits après incubation avec le PS-ADN. L'analyse par Northern blot n'a révélé aucun changement dans les niveaux d'ARNm de PrP.

A la suite de ces essais *in vitro*, des essais ont été conduits chez l'animal (Tableau 30).

	K. Nazor Friberg <i>et al.</i> (162) 2012	G. J. Raymond <i>et al.</i> (159) 2019
Modèle animal	Souris FVB saines (parties II à V) Souris FVB infectées par le prion (partie VI)	Souris WT, Souris C57BL/6N, Souris SWR/R saines (partie I) ou infectées par le prion (parties II et III)
Paramètre étudié	Effet de différents ASOs sur l'expression de PrPc (parties II à V) et PrPsc (partie VI)	Evolution des taux d'ARNm du gène PRNP dans le cerveau, prolongation de la survie et retardement des symptômes
Organisation de l'étude	<p>Partie I) : Détermination des ASOs les plus efficaces par screening in vitro (expérience décrite précédemment) ASOs 742, 747 et 771 ont été sélectionnés.</p> <p>Partie II) : Etude de tolérance chez la souris</p> <p>Partie III) : Administration IP des 3 ASOs</p> <p>Partie IV) : Administration ICV des ASOs 742 et 771</p> <p>Partie V) : Relation dose-réponse</p> <p>Partie VI) : Administration précoce / retardée d'ASO 771 chez des souris infectées par le prion</p>	<p>Comparaison de 2 ASOs :</p> <ul style="list-style-type: none"> - ASO 1 : Cible le 3' UTR du gène PRNP - ASO 2 : Cible l'intron 2 du gène PRNP <p>Partie I) : Evaluation des taux d'ARNm du gène PRNP dans le cerveau</p> <p>Partie II) : Evaluation de la survie et des symptômes (traitement prophylactique)</p> <p>Partie III) : Evaluation de la survie et des symptômes (traitement curatif)</p>
Groupes	<p>Partie III) : Administration IP</p> <p><u>Groupe 1</u> : Témoin traité par PBS</p> <p><u>Groupe 2</u> : Témoin traité par ASO 847 (non ciblé contre PRNP)</p> <p><u>Groupe 3</u> : Traité par ASO 742</p> <p><u>Groupe 4</u> : Traité par ASO 747</p> <p><u>Groupe 5</u> : Traité par ASO 771</p> <p>Partie IV) : Administration ICV</p> <p><u>Groupe 1</u> : Témoin traité par PBS</p> <p><u>Groupe 2</u> : Traité par ASO 742</p> <p><u>Groupe 3</u> : Traité par ASO 771</p>	<p>Partie I) : Evaluation des taux d'ARNm du gène PRNP dans le cerveau</p> <p><u>Groupe 1</u> : Témoin traité par solution saline</p> <p><u>Groupe 2</u> : Témoin traité par un ASO non ciblé contre le gène PRNP</p> <p><u>Groupes 3 à 8</u> : Traités soit par ASO 1 soit par ASO 2 à 300, 500 ou 700 µg</p> <p>Partie II) : Traitement prophylactique : Evaluation de la survie et des symptômes</p> <p><u>Groupe 1</u> : Témoin traité par solution saline</p> <p><u>Groupe 2</u> : Témoin traité par un ASO non ciblé contre le gène PRNP</p> <p><u>Groupes 3 à 6</u> : Traités soit par ASO 1 soit par ASO 2 à 300 ou 500 µg</p> <p>Partie III) : Traitement curatif : Evaluation de la survie et des symptômes</p> <p><u>Groupe 1</u> : Témoin traité par solution saline</p> <p><u>Groupe 2</u> : Témoin traité par un ASO non ciblé contre le gène PRNP</p>

	<p>Partie V) : Relation dose-réponse <u>Groupe 1</u> : Témoin traité par PBS <u>Groupe 2</u> : Traité par ASO 742 <u>Groupe 3</u> : Traité par ASO 771</p>	<p><u>Groupe 3</u> : Traité par ASO 1 à 300µg <u>Groupe 4</u> : Traité par ASO 2 à 300µg</p>
	<p>Partie VI) : Administration précoce ou retardée d'ASO 771 chez des souris infectées par le prion <u>Groupe 1</u> : Témoin traité par PBS à 1 jour PI <u>Groupe 2</u> : Traité par ASO 923 à 1 jour PI <u>Groupe 3</u> : Traité par ASO 771 à 1 jour PI <u>Groupe 4</u> : Témoin traité par PBS à 60 jours PI <u>Groupe 6</u> : Traité par ASO 771 à 60 jours PI</p>	
<p>Méthode</p>	<p>Partie III) : Administration IP des ASOs 2 fois / semaine pendant 3 semaines, à raison de 50 ou 100 mg/kg/semaine</p> <p>Partie IV) : Administration ICV des ASOs 742 et 771 en continu dans le ventricule latéral droit à raison de 75 µg/jour pendant 21 jours</p> <p>Partie V) : Administration ICV des ASOs 742 et 771 en continu dans le ventricule latéral droit à raison de 25, 50, 75 et 100 µg/jour pendant 14 jours.</p> <p>Partie VI) : Perfusion par voie ICV de l'ASO 771 ou 923 (75 µg/j) soit au lendemain de l'inoculation intracérébrale par la souche RML (groupe 2 et 3) soit 60 jours PI (groupe 6). Durée du traitement : 14 jours.</p>	<p>Partie I) Les souris ont été traitées par des bolus en ICV des ASOs à différentes doses. Les cerveaux ont été prélevés et analysés à différents intervalles selon les groupes.</p> <p>Partie II) Injection de 300 ou 500 µg par voie ICV en bolus 2 semaines avant l'inoculation par le prion par voie intracérébrale puis 2 autres bolus de de 300 ou 500 µg à 60 jours d'intervalle.</p> <p>Partie III) Les souris ont reçu 300µg de chaque ASO par voie ICV en bolus à 120 jours PI. Évaluation de la survie et des symptômes.</p> <p>Certains des animaux issus des parties II) et III) de l'étude ont été sacrifiés à différents intervalles de temps pour analyse histologique.</p>

Tableau 30 : Essai *in vivo* conduit chez l'animal sur des ASOs

Résultats de l'étude de K. Nazor Friberg et al. :

Partie III) : Administration IP des ASOs :

- Tolérance :

Aucune des souris n'a montré d'EI. Tous les animaux sont restés en bonne santé jusqu'à ce qu'ils soient tués à 21 jours. La chimie sérique clinique de routine n'a montré aucune anomalie.

- Expression du gène PRNP et de la PrPc :

Les souris ont été sacrifiées au 21^{ème} jour de traitement et le foie a été prélevé afin d'évaluer :

- 1) L'expression de l'ARNm du gène PRNP par qRT-PCR (Figure 36)
- 2) L'expression de la PrPC par ELISA (Figure 37)

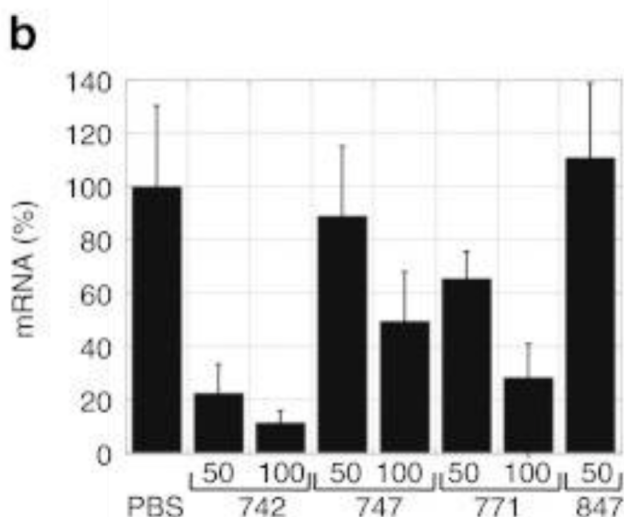


Figure 36 : Taux d'ARNm du gène PRNP après administration des différentes substances par voie intrapéritonéale

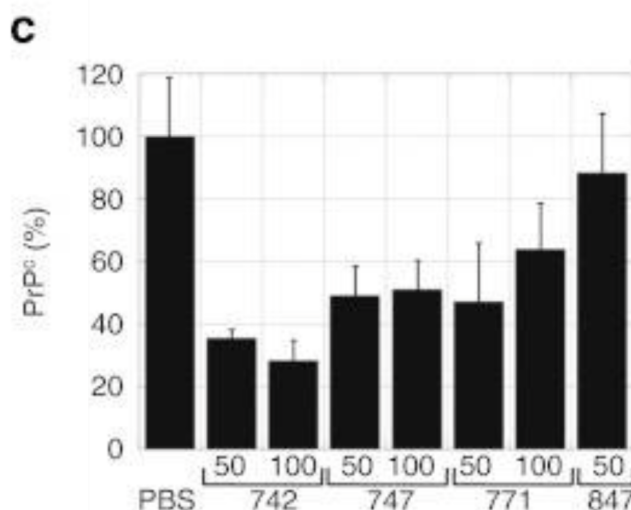


Figure 37 : Taux de PrPc après administration des différentes substances par voie intrapéritonéale

Les diminutions les plus importantes de l'ARNm du gène PRNP et de la PrPC dans le foie ont été observées avec l'ASO 742, dont l'effet semble corrélé à la dose (Tableau 31) :

Dose (mg/kg/semaine)	Effet sur l'expression de l'ARNm du gène PRNP (par rapport au témoin PBS)	Effet sur l'expression de la PrPc (par rapport au témoin PBS)
50	réduction de 75%	réduction de 65%
100	réduction de 85%	réduction de 72%

Tableau 31 : Conséquences de l'ASO 742 sur l'expression d'ARNm du gène PRNP et de la PrPc selon la dose

Partie IV) : Administration ICV des ASOs :

Seulement les 2 ASOs les plus efficaces par voie périphérique ont été testés par voie ICV ; ASO 771 et ASO 742.

- Tolérance :

Aucun EI ni abcès cérébral n'ont été observés. L'analyse histopathologique d'une section du mésencéphale, postérieure au site de canulation, n'a révélé aucune anomalie.

- Expression du gène PRNP et de la PrPc :

Les souris ont été sacrifiées après 21 jours de traitement et les cerveaux prélevés pour mesure des taux d'ARNm (Figure 38) et de PrPc (Figure 39) par densitométrie.

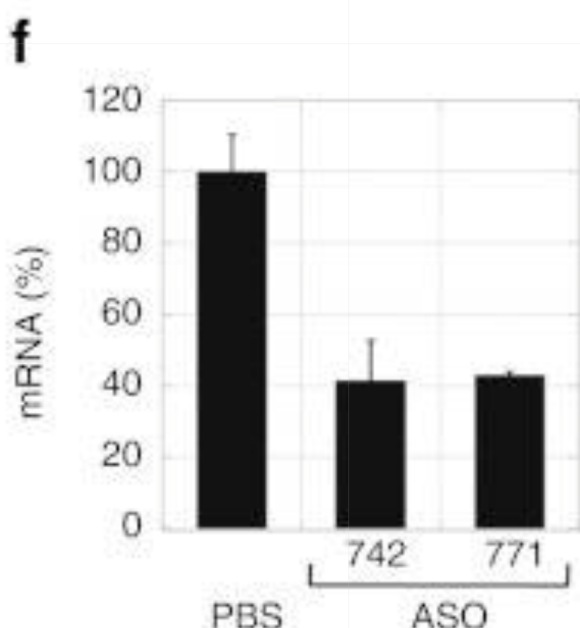


Figure 38 : Taux d'ARNm du gène PRNP après administration des différentes substances par voie ICV

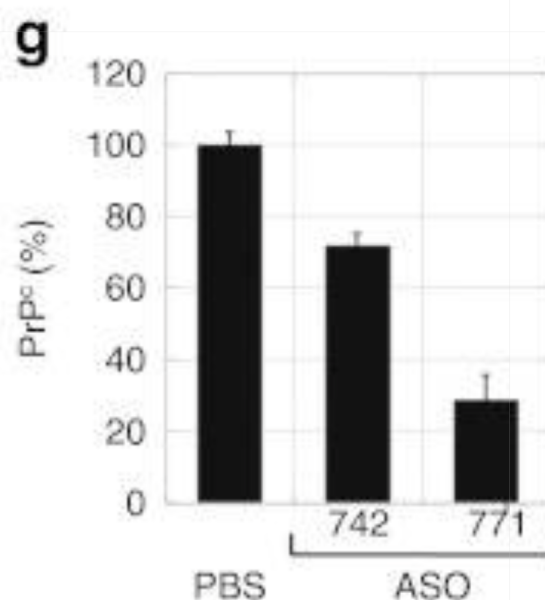


Figure 39 : Taux de PrPc après administration des différentes substances par voie ICV

ASO	Effet sur L'expression de l'ARNm du gène PRNP (par rapport au témoin PBS)	Effet sur l'expression de la PrPc (par rapport au témoin PBS)
ASO 742	réduction de 60%	réduction de 30%
ASO 771	réduction de 60%	réduction de 70%

Tableau 32 : Conséquences de l'ASO 742 et de l'ASO 771 sur l'expression d'ARNm du gène PRNP et de la PrPc.

Les effets des ASOs sur la réduction de l'expression de l'ARNm ou de la PrPc semblent plus faibles à première vue lorsqu'ils sont injectés par voie ICV comparativement à la voie IP (Tableau 32). Cependant, lorsque les ASOs ont été injectés par voie IP, les taux d'ARNm et de PrPc ont été mesurés dans le foie et non dans le cerveau. Ces résultats ne

sont donc pas tout à fait comparables puisqu'ils ne proviennent pas des mêmes organes. Les auteurs de l'étude ne discutent pas de cette différence.

Partie V : Evaluation de la relation dose-réponse :

Pour cette expérience, les chercheurs ont à nouveau utilisé les ASOs 742 et 771 en administration ICV mais cette fois à différentes doses afin d'évaluer la relation dose-réponse.

- Tolérance :

Toutes les doses ont été bien tolérées chez les souris hormis pour la dose de 100 µg/jour d'ASO 742, qui a entraîné la mort des animaux.

- Expression du gène PRNP et de la PrPc :

Les souris ont été sacrifiées au 14ème jour et les taux de d'ARNm de la PrP ont été analysés par qRT-PCR (Figure 40).

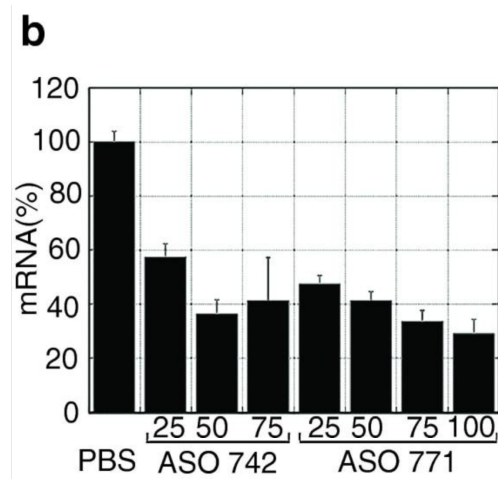


Figure 40 : Taux d'ARNm du gène PRNP après administration de différentes doses des ASOs 742 et 771 par voie ICV

On observe que la diminution du taux d'ARNm du gène PRNP est dose-dépendante pour les deux ASOs.

Concernant l'expression de la PrPc, des histoblots des coupes cryogéniques coronales ont été réalisés et montrent que l'ASO 771 à la dose de 75 µg/jour a entraîné la diminution la plus prononcée de l'expression de la PrPc par rapport à celles recevant du PBS.

L'ensemble de ces résultats démontre que l'ASO 771 administré *in vivo* dans le cerveau par perfusion est bien toléré et réduit à la fois l'expression de l'ARNm du gène PRNP et de la PrPc.

Partie VI : Administration précoce ou retardée d'ASO 771 post-inoculation :

Les souris traitées au lendemain de l'inoculation par le prion ont été sacrifiées à 50 jours PI. Les souris traitées par les ASO 771 ou 923 ont montré une diminution de l'expression de la PrP^{Sc} de 96% et 92% respectivement par rapport aux souris témoins.

En revanche, seul l'ASO 771 a permis de diminuer l'expression de PrP^c, d'environ 50% par rapport aux groupes traités par ASO 923 ou au PBS.

De plus, les souris traitées par ASO 771 avaient une période d'incubation plus longue (environ 193 jours) par rapport aux souris témoins (environ 136 jours) ce qui représente une prolongation de 40 % du temps d'incubation.

Les souris traitées 60 jours après l'inoculation par le prion ont été victimes d'une toxicité importante une dizaine de jours après le début du traitement par ASO 771, alors que le même traitement administré au lendemain de l'infection n'entraîne pas cette toxicité.

Les cerveaux des souris ont donc été prélevés après leur décès à 71 jours PI et ont montré une réduction des taux de PrP^c et PrP^{Sc} par rapport aux témoins.

La conclusion tirée par les chercheurs était que la toxicité de l'ASO 771 était liée au stade avancé de l'infection par les prions.

Résultats de l'étude de G. J. Raymond et al. :

Partie I : Evaluation des taux d'ARNm du gène PRNP

Les souris ont été sacrifiées 8 semaines après un bolus ICV de chaque ASO aux différentes doses : 300, 500 ou 700 µg, puis les chercheurs ont analysé les taux d'ARNm du gène PRNP dans différentes régions pour chaque groupe (Figure 41) :

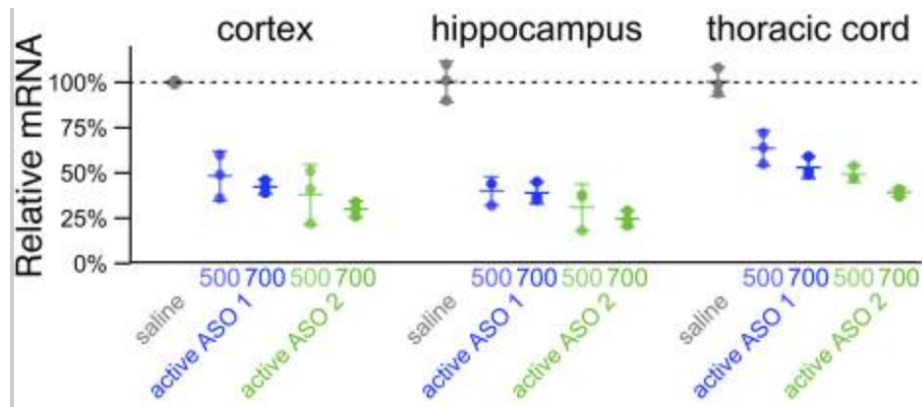


Figure 41 : Taux d'ARNm du gène PRNP dans différentes régions du cerveau après administration de différentes doses de l'ASO 1 et 2, relativement au groupe contrôle traité par solution saline.

Quantification par RT-PCR. Les barres d'erreur indiquent un IC à 95 % de la moyenne

Les résultats confirment l'activité des ASOs dans 3 régions cérébrales distinctes par rapport au groupe contrôle traité par solution saline.

Deuxièmement, les chercheurs ont procédé à une quantification de l'ARNm dans le temps pour une dose de 500 µg d'ASO (Figure 42) :

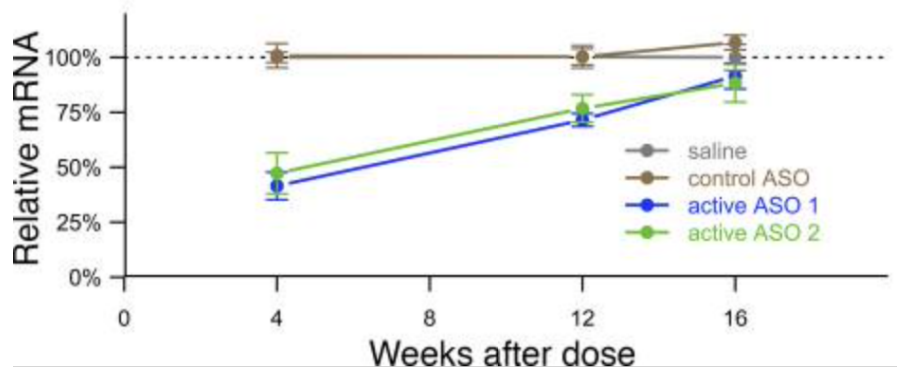


Figure 42 : Taux d'ARNm du gène PRNP dans le cortex ipsilatéral à 4, 12 et 16 semaines après un bolus de 500 µg d'ASO 1 ou 2.

Les barres d'erreur indiquent un IC à 95 % de la moyenne.

On observe ainsi que les taux d'ARNm sont initialement plus faibles pour les groupes traités par les ASOs 1 et 2 comparativement aux groupes contrôle, même si à terme, les taux deviennent semblables.

Partie II : Evaluation de la survie et des symptômes (traitement prophylactique) :

- Tolérance :

Ces expériences n'ont nécessité que 2 interventions chirurgicales et les seuls décès intercurrents observés ont eu lieu immédiatement après l'inoculation du prion (3 souris au total dans toutes les cohortes de traitement).

4 des 8 animaux traités avec l'ASO témoin sont morts subitement 8 à 9 jours après la 3^{ème} dose. Plusieurs animaux d'autres cohortes sont morts de façon intermittente à différents moments pour des raisons apparemment sans rapport avec la maladie à prions. Cette information ne bénéficie d'aucune autre précision, ni n'est discutée par les auteurs ensuite.

- Survie :

Les différences entre les groupes ont été considérées par les auteurs comme visuellement évidentes ; les tests statistiques n'ont pas été utilisés.

- - - uninfected
- no treatment
- saline
- control ASO
- active ASO 1
- active ASO 2

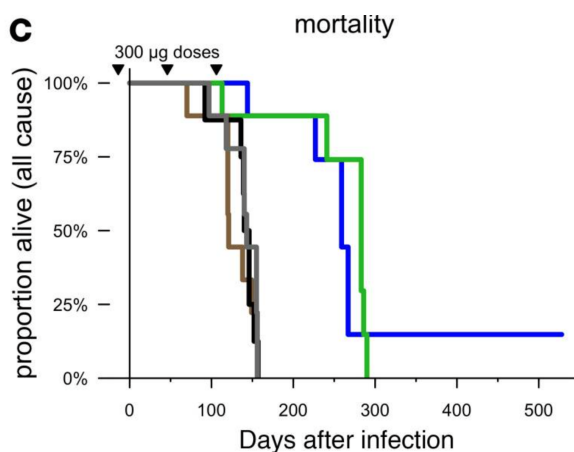


Figure 43 : Survie des souris traitées à 300 µg d'ASO

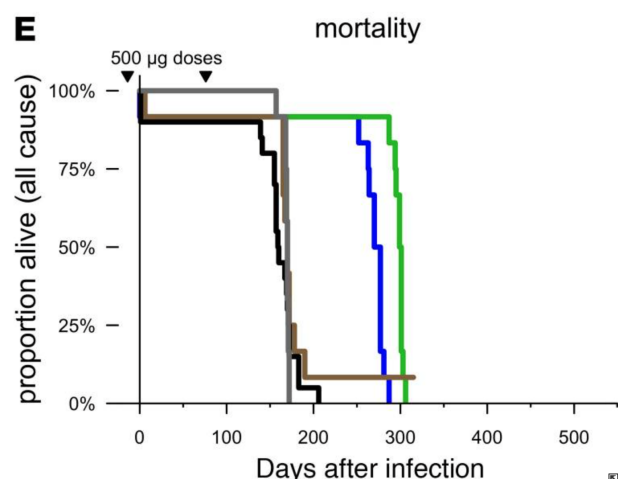


Figure 44 : Survie des souris traitées à 500 µg d'ASO

D'après les figures 43 et 44 présentées ci-dessus, les chercheurs sont parvenus aux observations suivantes (Tableau 33) :

Prolongement de la survie (par rapport à la solution saline)*		
	à 300 µg	à 500 µg
ASO 1	Prolongement de 81% (Médiane = 259 DPI)	Prolongement de 61% (Médiane = 274 DPI)
ASO 2	Prolongement de 98% (Médiane = 283 DPI)	Prolongement de 76% (Médiane = 300 DPI)

Tableau 33 : Prolongement de la survie selon le type d'ASO et la dose (300 ou 500µg)

*Médiane survie solution saline à 300µg = 143 DPI // à 500µg = 170 DPI

- Symptômes :

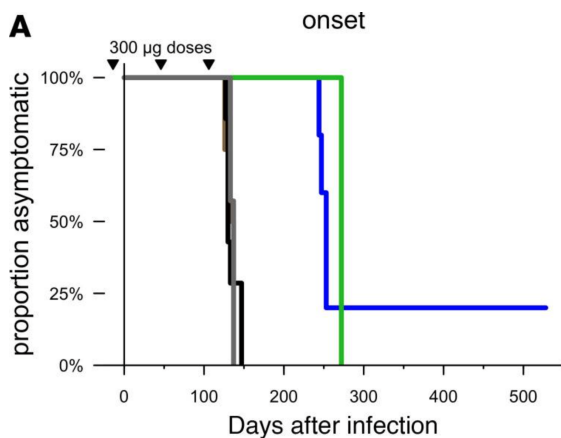


Figure 45 : Délai d'apparition des signes cliniques caractéristiques de la maladie chez les souris traitées à 300µg d'ASO

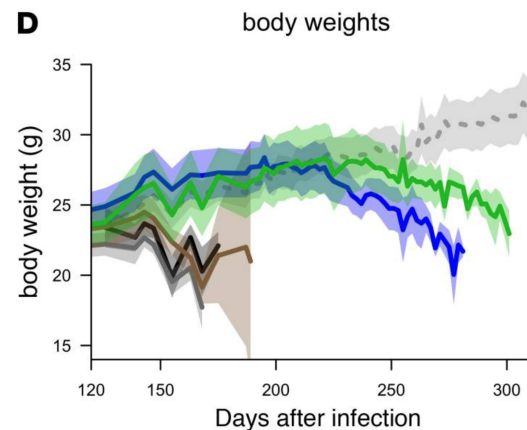


Figure 46 : Evolution du poids des souris traitées à 500µg d'ASO

D'après les figures 45 et 46 présentées ci-dessus, les chercheurs ont conclu que les ASOs 1 et 2 administrés à la dose de 300 µg ont retardé l'apparition des signes cliniques de la maladie à prions de 82 % et 99 % respectivement, par rapport à la solution saline (médiane 250 et 272 DPI, respectivement, contre 137 DPI).

Les animaux traités par ASO ont finalement succombé à une maladie à prions en phase terminale et ont suivi une évolution clinique standard, la durée allant des premiers signes cliniques observés au point final apparaissant similaire à celle des témoins.

Ensemble, ces données indiquent que la suppression de la PrP médiée par l'ASO retarde l'apparition de la maladie à prions et prolonge la vie lorsqu'elle est administrée à titre prophylactique.

Partie III : Evaluation de la survie et des symptômes (traitement curatif) :

- Tolérance :

À ce stade avancé de la pathologie (120 jours PI), toutes les souris ont vu leur état empirer rapidement entraînant le décès (dans un délai d'environ 16 heures) 8 à 9 jours après l'intervention chirurgicale pour l'ASO 2. Le même phénomène a été observé pour 2 souris sur les 9 traitées par l'ASO témoin ne ciblant pas le gène PRNP. Cette mortalité n'est pas discutée par les auteurs mais peut simplement être due au stade avancé de la maladie.

- Survie et symptômes :

Au vu des résultats plutôt négatifs obtenus avec l'ASO 2 à 120 DPI, seules les données de l'ASO 1 sont présentées dans les figures 47 à 49 ci-dessous :

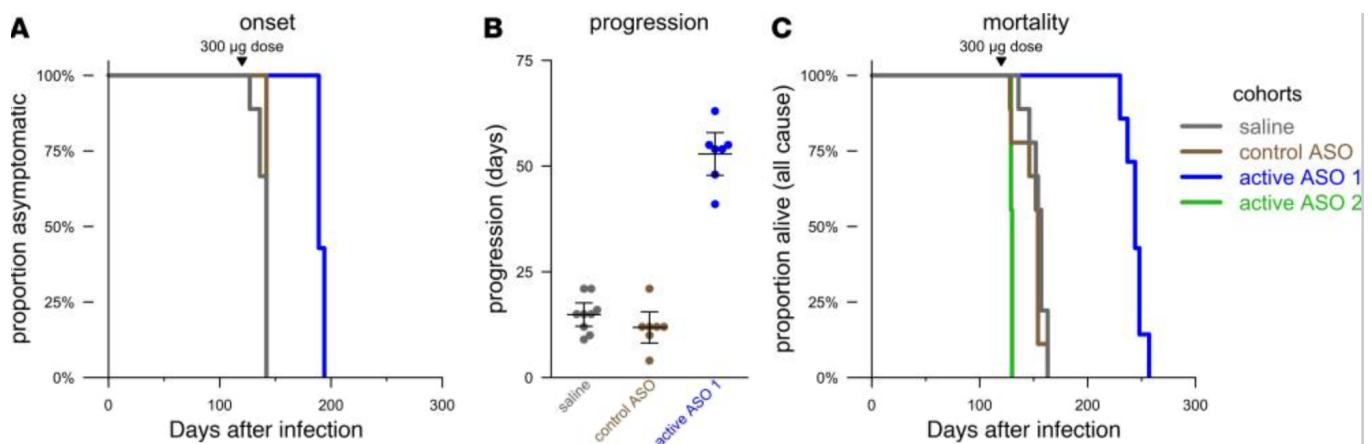


Figure 47 : Délai d'apparition des signes cliniques caractéristiques de la maladie

Figure 48 : Durée de la maladie (du début à la fin)

Figure 49 : Survie des souris traitées

D'après les résultats exposés, les chercheurs ont remarqué que L'ASO 1 a :

- 1) Retardé l'apparition des signes cliniques de la maladie à prions de 33 % (médiane 189 contre 142 DPI) (Figure 47)
- 2) Entraîné une progression 3 fois plus lente de la maladie symptomatique que chez les souris traitées avec une solution saline (début à la fin du stade 53 ± 7 jours contre 15 ± 4 jours, moyenne \pm écart-type) (Figure 48)
- 3) Augmenté la durée de survie de 55% (toutes causes confondues) par rapport à la solution saline (médiane 244 contre 157 DPI) (Figure 49)

- Analyse histologique des cerveaux :

Les cerveaux ont été prélevés simultanément sur des souris encore asymptomatiques et traitées de manière :

- Prophylactique avec les ASO 1 et 2 (2 semaines avant infection)
- Curative à 120 DPI avec ASO 1

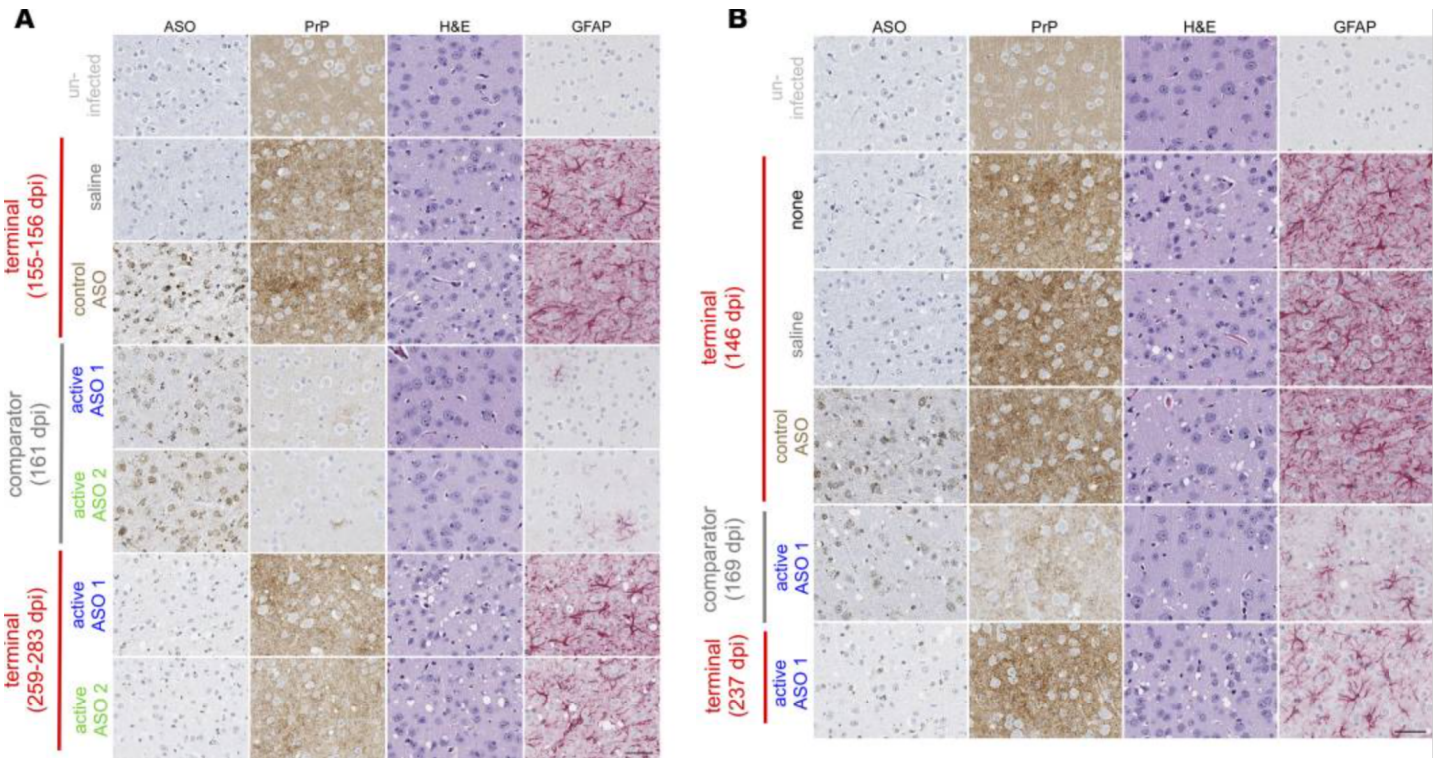


Figure 50 : Distributions d'ASO, PrP, spongiose (H&E) et astroglie (GFAP) chez des souris traitées prophylactiquement (A) et à 120 DPI (B).

Barre d'échelle : 50 μm.

Les résultats présentés dans la figure 50 montrent la présence d'ASO ainsi que des changements neuropathologiques et des taux de PrP moins importants pour les deux stratégies thérapeutiques par rapport au groupe traité par solution saline ou par l'ASO contrôle. Cependant, lorsque les groupes traités ont évolué vers la phase terminale, ils présentaient une neuropathologie semblable à celle des animaux non traités bien que l'astroglie soit légèrement atténuée.

Ensemble, ces résultats indiquent que les ASO réduisant la PrP retardent la maladie à prions en ralentissant l'accumulation de PrP mal repliée et les changements neuropathologiques qui en découlent.

Ces données indiquent que les ASO réduisant la PrP peuvent être identifiés comme étant à la fois tolérés à un moment pathologique et capables de prolonger la survie lorsqu'ils sont administrés à ce stade en retardant l'apparition des signes cliniques ainsi qu'en ralentissant la progression symptomatique.

Pour conclure sur l'intérêt des oligonucléotides antisens dans le traitement de la MCJ, il semblerait que cette stratégie ait apporté des résultats plutôt positifs en termes de prolongement de la survie et du temps d'incubation chez l'animal, confirmant les observations *in vitro*.

Le mécanisme initialement supposé des ASOs est qu'ils entraînent la dégradation de l'ARNm responsable de la PrPc, expliquant la baisse du taux d'ARNm et en conséquence, la baisse du taux de PrPc. Cet effet est bien celui observé dans les études *in vivo* chez l'animal décrites ci-dessus.

Cependant, des études *in vitro* ont montré que certains ASOs initialement censés agir par interaction avec l'ARNm de PrP, agissaient en réalité via une interaction directe avec la PrPc. Ce phénomène semble être indépendant de la nature nucléotidique de l'ASO mais dépendant de sa longueur (taille optimale entre 20 et 40 bases) et de son hydrophobicité.

Il est important de rappeler que les résultats très positifs ont été obtenus la plupart du temps pour des administrations très précoces voire de manière prophylactique avant exposition. Si les ASOs étaient bien tolérés par les cellules de neuroblastome *in vitro*, certains de ces ASOs se sont révélés non seulement inefficaces lorsqu'administrés tardivement, mais en plus potentiellement toxiques pour les animaux, précipitant le décès en un court laps de temps, sans que la cause précise ne soit élucidée.

L'étude de G. J. Raymond et al. en 2019 a montré qu'une administration en bolus semblait être moins toxique pour les animaux qu'une administration continue dans les stades avancés de la maladie. Cependant, il est primordial de répéter cette expérience afin de confirmer cette observation.

L'administration par voie ICV entraîne un certain nombre de risques liés à la chirurgie (blessure, douleur, infections...) pouvant être fatals aux patients.

Même si aucune réaction immunitaire contre les ASOs n'a été décrite dans les études présentées, ce risque reste présent étant donné qu'il s'agit de stimulateurs de l'immunité.

Cela pourrait engendrer une réaction immunitaire non souhaitée et délétère pour le patient.

Enfin, le tableau 34 ci-après récapitule les avantages et les inconvénients dans l'utilisation d'oligonucléotides antisens dans le traitement des maladies à prions :

Avantages	Inconvénients
- Prolongement de la survie et du temps d'incubation si administration précoce	- Toxicité si administration à un stade tardif de la maladie
- Atténuation des symptômes	- Risques liés à la voie ICV
- Capacité à cibler une protéine spécifiquement, ce qui permet de réduire le risque d'effets indésirables.	- Risque de réaction immunitaire contre l'ASO - Peu d'études sur l'animal, aucune sur des patients

<ul style="list-style-type: none"> - Possibilité de titrer les ASOs afin d'ajuster la dégradation d'ARNm et donc la baisse de PrPc - Réversibilité de leurs effets à l'arrêt du traitement 	
--	--

Tableau 34 : Récapitulatif des avantages et inconvénients liés à l'utilisation des oligonucléotides antisens dans les maladies à prions

Il est donc nécessaire de poursuivre les études chez l'animal afin de mieux caractériser le mécanisme d'action des ASOs quant à leur implication dans la conversion de PrPc en PrPsc et d'éliminer tout risque de toxicité lors d'une administration tardive, avant de procéder aux études cliniques chez l'homme.

2. Interférence par ARN

Une deuxième stratégie vise à concevoir un ARN interférent double brin (un brin sens nécessaire pour l'acheminement au site d'action et un brin antisens possédant l'activité souhaitée).

Cet ARN bicaténaire est endocyté puis se lie au complexe RISC dans le cytosol. Cette liaison va permettre la séparation des deux brins d'ARN par la protéine Argonaute 2 intégrée dans le complexe RISC.

Ainsi, le brin antisens est libre et va se lier de façon complémentaire à son ARNm cible naturel. Tout au long de ce processus, le complexe RISC reste lié au brin antisens, et lorsque la liaison avec l'ARNm cible a lieu, cela va entraîner le clivage de l'ARNm cible par la partie Argonaute 2 du complexe RISC et rend ainsi sa traduction en protéine impossible.

Après le clivage, le brin antisens est à nouveau détaché de l'ARNm cible clivé et est toujours lié au complexe RISC. Il peut alors être dirigé vers un autre ARNm cible afin de répéter le processus. (163) (164) Ce mécanisme est résumé visuellement dans la figure 51.

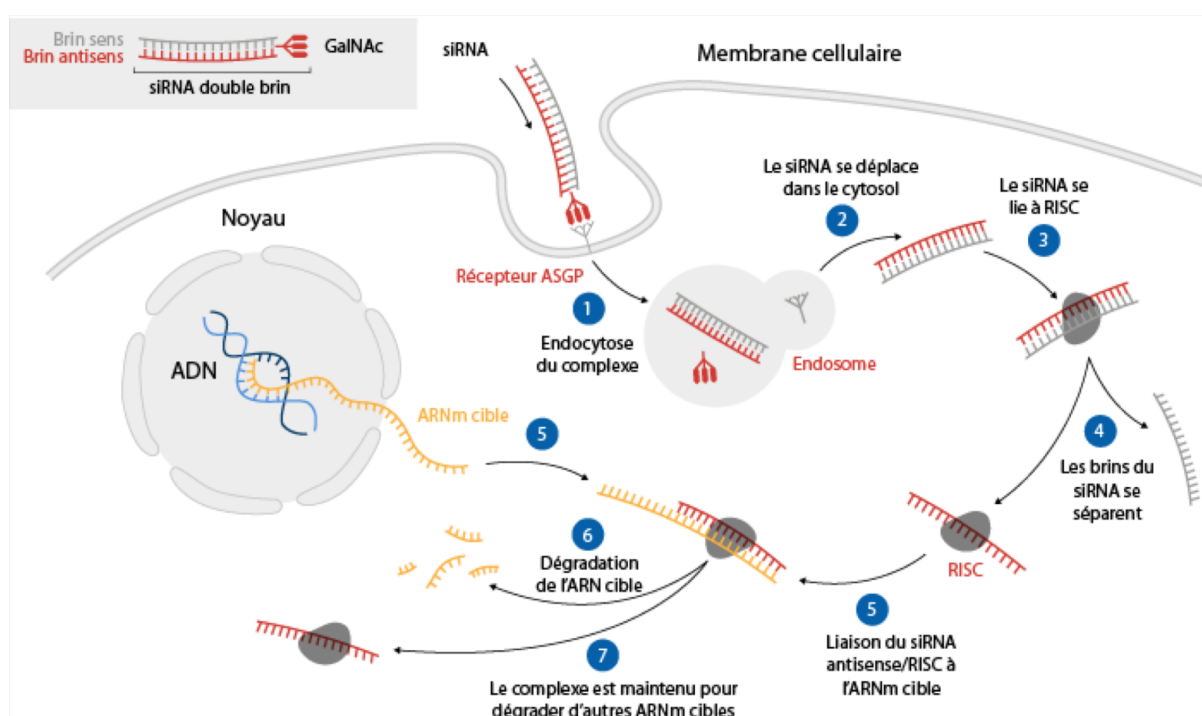


Figure 51 : Mécanisme d'action général des ARNi (165)

Les ARNi ont été utilisés en tant que traitement pour la première fois en décembre 2004 lors d'essais cliniques menés par le laboratoire pharmaceutique américain Sirna Therapeutics dans la dégénérescence maculaire liée à l'âge. (166)

En France, 3 ARNi ont obtenu une AMM entre 2018 et 2020 et sont pris en charge par l'Assurance maladie :

- givosiran (Givlaari®) est indiqué dans les cas de porphyrie hépatique aiguë.
- lumasiran (Oxlumo®) est indiqué dans le traitement de l'hyperoxalurie primitive de type 1
- patisiran (Onpattro®) est indiqué dans le traitement de l'amylose à transthyréine chez les patients adultes atteints de polyneuropathie de stade 1 ou 2.

Inclisiran (Leqvio®) quant à lui est disponible mais non remboursé à ce jour. (166)

Le mécanisme d'action des ARNi étant très similaire à celui des oligonucléotides antisens, leur intérêt dans le traitement des maladies à prions a également été exploré à travers l'hypothèse qu'un ARNi pourrait cibler spécifiquement l'ARNm du gène PRNP, et ainsi empêcher sa traduction en protéine PrPc.

Ainsi, diverses études ont été réalisées *in vitro* dès le début des années 2000 et sont résumées dans le tableau 35.

	G. Tilly <i>et al.</i> (167) 2003	A. Pfeifer <i>et al.</i> (168) 2006	N. Daude <i>et al.</i> (169) 2007	M. D. White <i>et al.</i> (170) 2008
Lignées	Cellules épithéliales de rein de lapin (RK13)	Cellules de neuroblastome murin (N2a et ScN2a)	Cellules de neuroblastome murin (N2aS12sc+)	Cellules neuronales (N2a et GT-1)
Molécules étudiées	Comparaison de 2 ARNi ciblant 2 séquences différentes d'ARNm cible du gène PRNP.	Comparaison de 6 ARNi ciblant 6 séquences différentes d'ARNm cible du gène PRNP.	ARNi ciblant la séquence 392 à 410 de l'ARNm cible du gène PRNP.	ARNi ciblant les séquences MW1, MW2 et MW3 de l'ARNm cible du gène PRNP.
Méthode	<p>Les ARNi ont été intégrés dans un plasmide comprenant un promoteur U6</p> <p>Les plasmides contenant l'un ou l'autre des ARNi et un plasmide vide (contrôle) ont été transfectés dans les cellules.</p> <p>L'expression du gène Prnp a été activée par ajout de 1 µg/ml de doxycycline dans le milieu de culture 24 h après la transfection et les cellules ont été récoltées 24h plus tard. Les taux de PrPc ont été analysés par Western blot après SDS – PAGE</p>	<p>Les ARNi ont été implantés dans un système de vecteurs lentiviraux dérivés du VIH-1.</p> <p>L'un des vecteurs comprenait un ARNi non spécifique en tant que témoin (LVshscr).</p> <p>Les cellules ont été infectées pendant la nuit (à une confluence de 40 à 50 %) et récoltées et lysées 72h plus tard puis analysées par Western Blot</p>	<p>Différentes quantités d'ARNi (1 à 10 µl) ont été transfectées dans les cellules qui ont ensuite été cultivées pendant 3 jours à 37°C jusqu'à confluence.</p> <p>Un ARNi simple brin dirigé contre l'ARNm de la protéine ERK a été utilisé comme contrôle pour cette étude.</p> <p>Les cellules ont ensuite été lysées puis centrifugées.</p> <p>Les taux de PrP ont été mesurés par Western blot.</p> <p>Une 2^{ème} expérience consistait à transfecter des cellules N2aS12sc+ avec 400 nM d'ARNi puis surveiller la progression des taux de PrPsc pendant 1 et 2 semaines.</p>	<p>Les ARNi ont été intégrés dans un plasmide comprenant un promoteur U6</p> <p>Les plasmides contenant les ARNi et un plasmide vide (contrôle) ont été implantés dans un système de vecteurs lentiviraux</p> <p>Les lignées cellulaires ont ensuite été transfectées avec les lentivirus "vides" (contrôle) ou contenant les ARNi à différentes concentrations.</p> <p>Les cellules transfectées ont été cultivées pendant 4 jours puis observées au microscope après un marquage par immunofluorescence.</p> <p>L'ARN a ensuite été extrait des cellules puis amplifié par RT-PCR.</p>

<p>Résultats</p>	<p>Inhibition efficace de l'expression de la PrPc dans les cellules co-transfectées avec ARNi 1 (81,7%) ou ARNi 2 (88,6%) par rapport aux cellules co-transfectées avec le plasmide vide.</p>	<p>L'ARNi le plus efficace était celui ciblant la section 512-532 de la PrP (LVsh512)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Inhibition de l'expression de 97% de la PrPc dans les cellules N2a - Inhibition efficace de la PrPsc dans les cellules ScN2a 	<p>L'expression de PrPc et l'accumulation de PrPsc étaient spécifiquement réduites par le l'ARNi de manière dose-dépendante, alors que l'expression de la protéine non apparentée ERK n'était pas affectée.</p> <p>Les concentrations d'ARNi capables d'inhiber 50% de l'expression de PrPc et de l'accumulation de PrPsc étaient respectivement de 72 et 100 nM</p> <p>Aucun effet cytotoxique des ARNi n'a été observé.</p> <p>Les niveaux de PrPc et PrPsc ont également été considérablement réduits lors d'un test sur une lignée cellulaire (cellules hypothalamiques de souris (GT-1)) et une souche de tremblante différentes.</p> <p>La 2nde expérience a montré une réapparition de faibles niveaux de PrPsc après le 4^{ème} passage. Cela suggère qu'une seule exposition à l'ARNi n'est pas suffisante pour éliminer complètement la PrPsc.</p>	<p>L'ARNi à médiation lentivirale a réduit l'expression de la PrP.</p> <p>La séquence la plus efficace était MW1.</p> <p>Cet ARN MW1 a réduit l'expression de l'ARNm et donc de la PrP et a ainsi empêché l'accumulation de PrPsc dans les cellules infectées par des prions.</p>
-------------------------	---	---	--	---

Tableau 35 : Essais *in vitro* conduits sur les ARNi

Certaines des études précédemment décrites ont également incorporé des expériences *in vivo* chez la souris (Tableau 36).

	A. Pfeifer et al. (168) 2006	M. D. White et al (170) 2008	
Modèles animaux	Partie I) : Souris tga20 saines <i>(Ces souris portent 60 copies du gène Prnp et expriment des niveaux de PrPC environ 10 fois plus élevés que les souris WT)</i>	Partie I) : Souris FVB saines Partie II) : Souris transgéniques tg37	
	Partie II) : Souris WT et souris chimériques LVsh512 <i>(Infection des cellules souches embryonnaires dérivées de 129Sv avec LVsh512 puis injection de ces cellules dans des blastocystes WT C57BL/6)</i>		
	Partie II) : Souris chimériques LVsh512, souris consanguines WT 129Sv, souris avec un fond génétique mixte 129Sv-C57BL/6 et souris chimériques LVEGFP <i>(Infection des cellules souches embryonnaires avec un lentivirus dirigé contre l'EGFP)</i>		
Organisation & objectifs de l'étude	<p>Partie I) : Effet sur l'expression de PrPc</p> <p>Partie II) : Efficacité du silençage génique chez des souris chimériques</p> <p>Partie III) : Effet de l'ARNi lentiviral sur la maladie à prions</p>	<p>LV-MW1 = Séquence ARN la plus efficace dans la réduction d'ARNm de PrP (MW1) intégrée dans un vecteur lentiviral (LV)</p> <p>Partie I) : Evaluation de l'effet de LV-MW1 sur l'ARNm de la PrPc chez des souris non infectées par le prion</p> <p>Partie II) : Evaluation des effets de LV-MW1 chez des souris infectées par le prion</p>	
Groupes	Partie I) :	Partie I) :	
	<u>Groupe 1</u> : Traité par LVshscr (lentivirus transfecté avec un ARNi non spécifique) <u>Groupe 2</u> : Traité par LVsh512 (lentivirus transfecté avec un ARNi visant la section 512-532 de la PrP)		<u>Groupe 1</u> : Traité par LV-Empty (contrôle 1) <u>Groupe 2</u> : Aucun traitement (contrôle 2) <u>Groupe 3</u> : Traité par LV-MW1 n = 3 dans chaque groupe
	Partie II) :		Partie II) :
<u>Groupe 1</u> : Souris WT témoins <u>Groupe 2</u> : Souris chimériques LVsh512	<u>Groupe 1</u> : Souris chimériques LVsh512 <u>Groupe 2</u> : Souris chimériques LVEGFP <u>Groupe 3</u> : Souris WT 129Sv <u>Groupe 4</u> : Souris 129Sv-C57BL/6	<u>Groupe 1</u> : Traité par LV-Empty (contrôle 1) <u>Groupe 2</u> : Aucun traitement (contrôle 2) <u>Groupe 3</u> : Traité par LV-MW1 n ≈ 20 pour chaque groupe	

Méthodes	<p>Partie I) : Injection ICV sur l'hémisphère droit des vecteurs lentiviraux (~ 5 × 10⁸ particules transductrices/ml) à un débit de 1 µl/min pendant 2 minutes. Les souris ont été sacrifiées 3 semaines après l'injection, puis l'expression de l'EGFP ainsi que de la PrPc ont été analysées par immunohistochimie.</p>	<p>Partie I) : Injection bilatérale de LV-Empty ou LV-MW1 dans l'hippocampe des souris du groupe 1 et 3 puis mesure des niveaux d'ARNm de PrP dans l'hippocampe de chaque groupe 2 semaines après l'injection.</p>
	<p>Partie II) : Analyse de l'expression de la PrPc dans les cerveaux de chaque groupe et du marqueur EGFP en tant que gène rapporteur.</p>	<p>Partie II) : Inoculation de la souche de prion RML par voie ICV à l'âge d'une semaine. 8 semaines PI, injection bilatérale de LV-MW1 ou du LV-Empty dans l'hippocampe. Les 3 groupes ont subi des tests de fouille et de reconnaissance d'objets à partir de 7 semaines PI</p>
	<p>Partie III) : Inoculation de la tremblante (souche RML) par voie ICV aux souris de chaque groupe puis analyse des cerveaux après le décès.</p>	<p>9 cerveaux de chaque groupe de souris ont été prélevés au hasard, lorsqu'ils développaient des signes cliniques diagnostiques de maladie à prions terminale. Ces cerveaux ont ensuite subi un examen neuropathologique à l'aveugle.</p>

Tableau 36 : Essais *in vivo* conduits chez l'animal sur les ARNi

*EGFP : enhanced GFP = Protéine fluorescente verte améliorée

Résultats de l'étude de A. Pfeifer et al. :

Partie I : Effet sur l'expression de PrPc

Trois semaines après l'injection intracrânienne, LVsh512 a significativement réduit l'expression de PrPc, contrairement au groupe 1 témoin traité avec LVshscr (ARNi non spécifique). La figure 52 représente les zones d'injection des lentivirus pour les groupes témoin traité par LVshscr (G) et traité par LVsh512 (H). La zone plus claire pointée par des flèches noires prouve la réduction de PrPc au niveau de la zone d'injection de LVsh512, par rapport à cette même zone chez les souris témoins traitées par LVshscr.

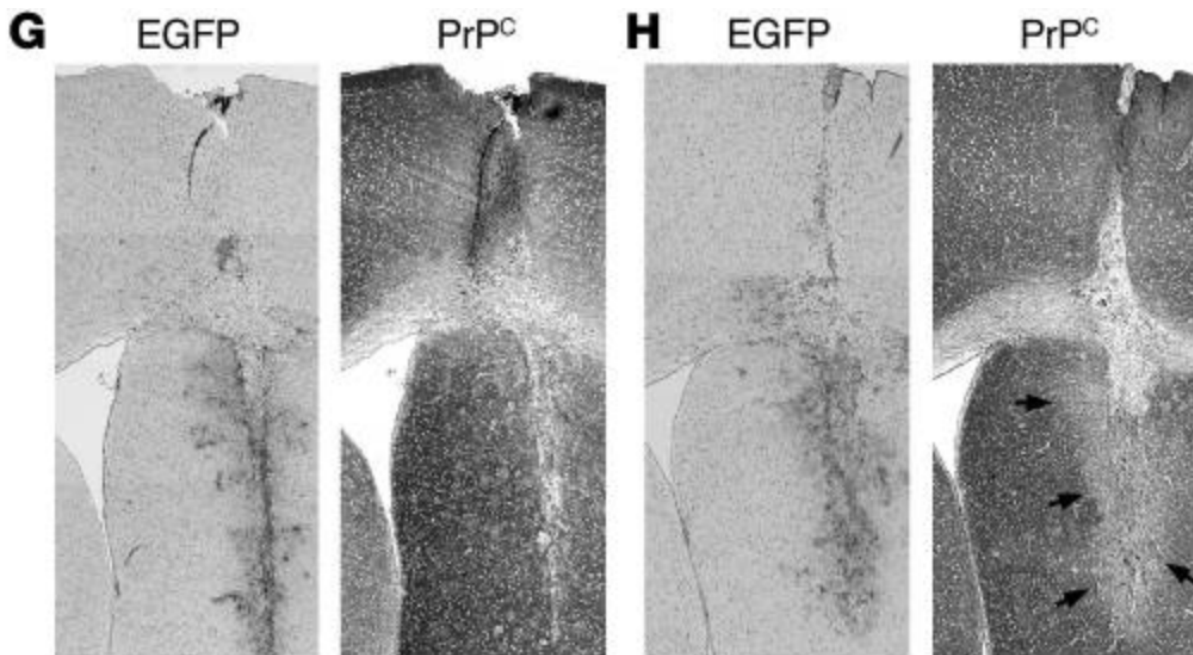


Figure 52 : Injection intracrânienne de LVshscr (G) et LVsh512 (H) chez des souris tga20 surexprimant PrPC . Analyse de l'expression de l'EGFP (à gauche) et de la PrPC (à droite) 3 semaines après l'injection.

Partie II : Efficacité du silençage génique chez des souris chimériques

Afin de vérifier l'efficacité du silençage génique médié par les lentivecteurs, trois souris chimériques ont été créées à partir de LVsh512 chez la souche C57BL/6 de la façon suivante :

- Souris n°1917 : 90% de chimérisme
- Souris n°1936 : 60% de chimérisme
- Souris n°1938 : 80% de chimérisme

On observe sur la figure 53 que les analyses par Western blot du cerveau (contenant l'hippocampe) ont révélé une diminution de 26 % (\pm 8%) de la PrPc , allant de 15% pour la souris n°1936 à 42 % chez la souris n° 1917. Dans le cervelet, l'expression de la PrPc était réduite de 46% (\pm 13%) (moyenne des 3 souris chimériques par rapport aux souris WT témoins).

La corrélation entre l'expression réduite de la PrPc chez les souris chimériques et la présence du rapporteur EGFP indique clairement que la réduction de la PrPc est liée au LVsh512. Plus le degré de chimérisme était important, plus la réduction des taux de PrPc était importante.

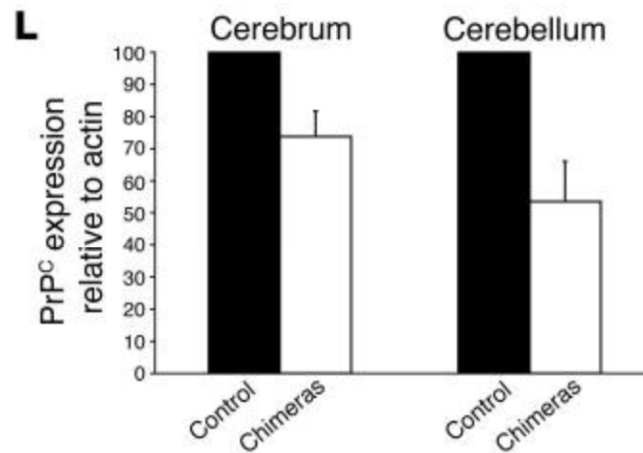


Figure 53 : Analyse par Western blot de l'expression de la PrPc dans le cerveau (à gauche) et le cervelet (à droite) d'animaux chimériques.

Partie III : Effet de l'ARNi lentiviral sur la maladie à prions

Toutes les souris témoins (groupes 2 à 4) ont succombé à la maladie à prions dans les 174 jours post-inoculation de tremblante par voie intracérébrale.

En revanche, 64 % des souris chimériques LVsh 512 ont vécu plus de 174 jours après l'inoculation (Figure 54). Seules les souris LVsh512 avec un fort chimérisme (>65%) avaient une durée de vie significativement plus longue ($p < 0,03$) que les groupes témoins et que les souris avec un faible chimérisme (<35%).

Cependant, les souris chimériques et les témoins atteints de tremblante terminale ont présenté des degrés similaires de modifications spongiformes et de gliose.

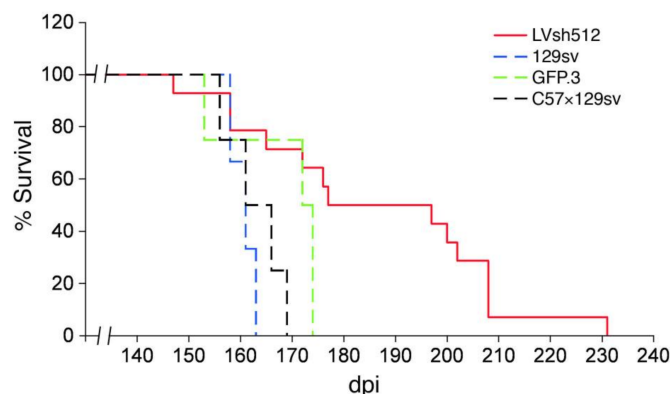


Figure 54 : Temps de survie des souris chimériques LVsh512 et témoins après inoculation de la souche RML de la tremblante.

Résultats de l'étude de M. D. White et al :

Partie I : Evaluation de l'effet de LV-MW1 sur l'ARNm de la PrPc chez des souris non infectées par le prion :

Des injections bilatérales de LV-MW1 dans l'hippocampe chez des souris non infectées par le prion ont réduit l'ARNm de la PrP d'environ 80 % des valeurs initiales 2 semaines après le traitement dans des hippocampes entiers ($p < 0,0001$; test t de Student, bilatéral), alors que LV-Empty était inefficace (Figure 55).

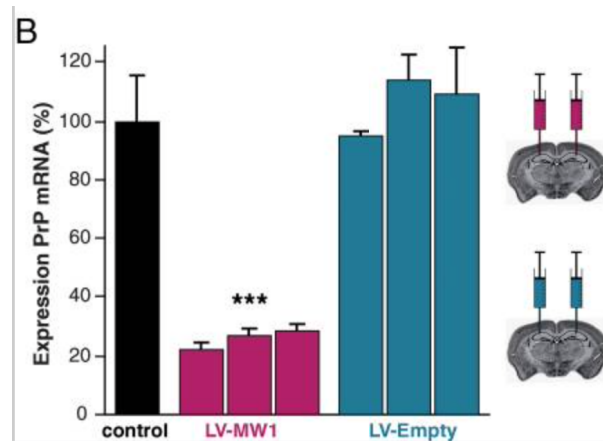


Figure 55 : Expression de l'ARNm de PrP (%) selon les groupes

Partie II : Evaluation des effets de LV-MW1 chez des souris infectées par le prion

- Effet sur les symptômes cliniques :

D'après les chercheurs, la spongiose précoce est associée à une altération des tâches comportementales dépendantes de l'hippocampe, en particulier l'enfouissage et de la reconnaissance d'objets.

- Résultats du test de fouille :

La capacité des souris à enfouir activement les granulés de nourriture d'un tube pendant 24h à partir de 7 semaines post-inoculation (PI) a été évaluée (Figure 56).

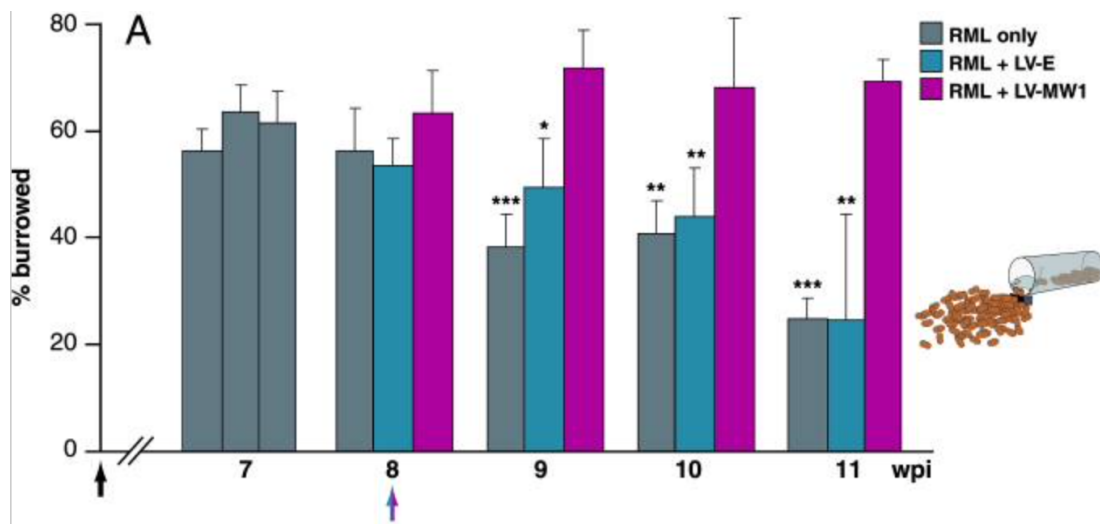


Figure 56 : Evolution des capacités d'enfouissage des groupes 1 (en bleu), 2 (en gris) et 3 (en rose)

Toutes les souris ont creusé de manière égale à 7 et 8 semaines PI.

A partir de 9 semaines PI (1 semaine après l'injection) les souris des groupes contrôles 1 et 2 ont montré une diminution significative de l'activité fouisseuse ($p = 0,011$ et $p = 0,0001$ respectivement) par rapport au groupe 3 qui est resté actif ($p < 0,005$ pour le groupe 3 par rapport aux groupes contrôles 1 et 2 à tout moment après 9 semaines PI).

L'analyse statistique a été effectuée par le test t de Student, bilatéral, variance inégale

Résultats du test de reconnaissance :

D'après les auteurs, les rongeurs en bonne santé exposés à un objet inconnu l'exploreront plus activement qu'un objet familier. L'exploration aléatoire des 2 objets (1 objet familier et 1 nouvel objet) donne un rapport exploratoire de 1, tandis que l'exploration préférentielle du nouvel objet donne un rapport > 1 .

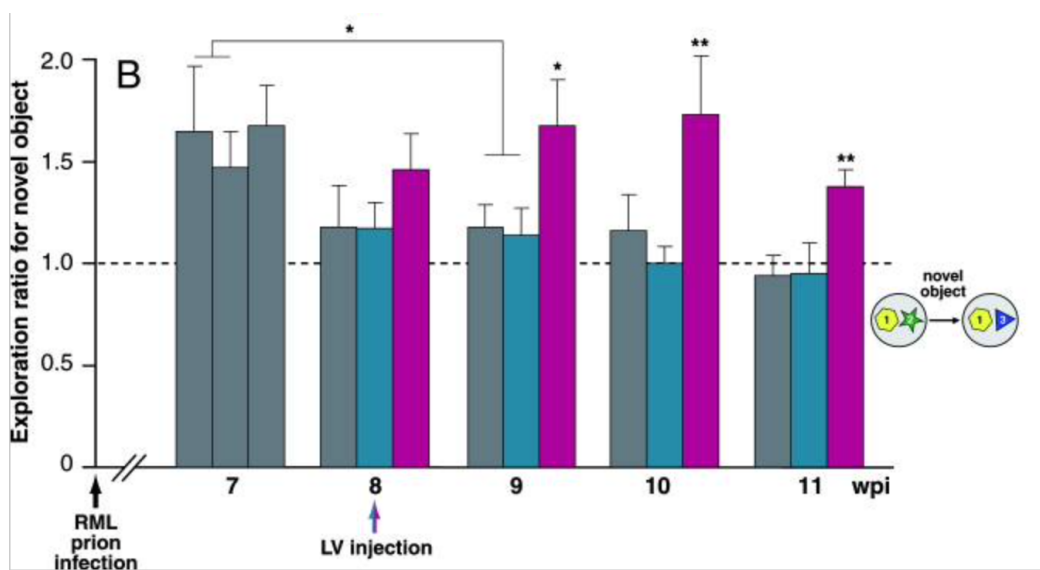


Figure 57 : Evolution du rapport exploratoire des groupes 1 (en bleu), 2 (en gris) et 3 (en rose)

Tous les groupes de souris ont exploré de préférence les nouveaux objets par rapport aux objets familiers à 7 semaines PI (Figure 57).

En revanche, à 8 semaines PI, la reconnaissance des objets familiers a été perdue dans les groupes contrôles 1 et 2 ($p = 0,021$ et $0,027$, respectivement, pour l'exploration à 7 par rapport à 9 semaines PI) par rapport au groupe 3, qui a conservé la mémoire des objets familiers ($p = 0,016$ et $0,014$, comparées aux groupes 1 et 2, respectivement, à 9 semaines PI), et cela a été maintenu tout au long de l'expérience ($p < 0,005$, pour tous les groupes à 10 et 11 semaines PI).

- Survie :

Le temps d'incubation moyen est environ **23,5 %** plus long chez le groupe 3 par rapport au groupe 2 et **19,3 %** plus long par rapport au groupe 1 ($p < 0,0001$ Test t de Student, bilatéral) (Figure 58, tableau 36).

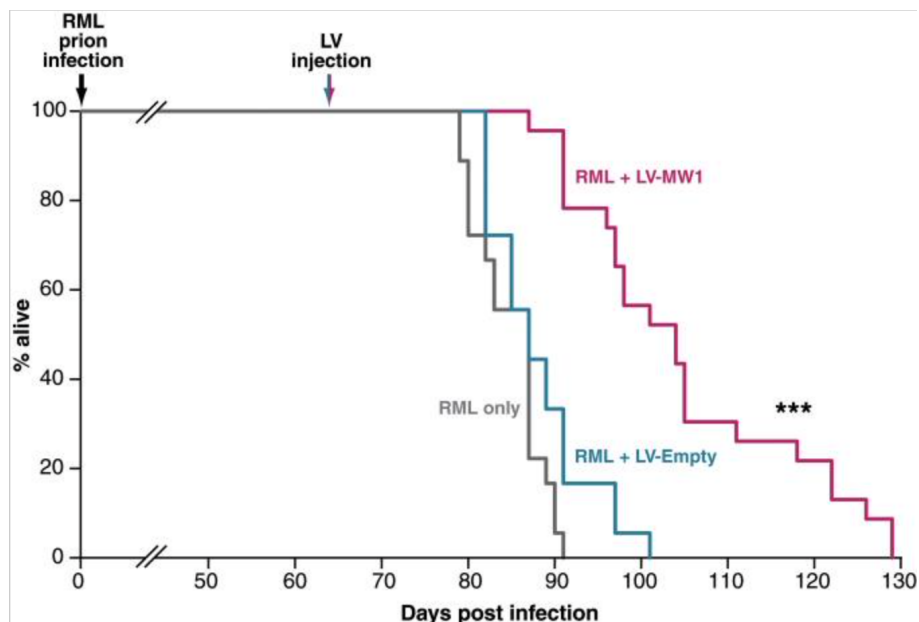


Figure 58 : Temps de survie des groupes 1 (en bleu), 2 (en gris) et 3 (en rose)

	Groupe 1 (RML + LV-Empty)	Groupe 2 (RML)	Groupe 3 (RML + LV-MW1)
Survie moyenne	88 ± 3 jours ($P = 1,16E^{-05}$, T test de Student ; bilatéral)	85 ± 3 jours ($P = 2,15E^{-07}$, T test de Student, bilatéral)	105 ± 4 jours

Tableau 37 : Survie moyenne selon les groupes

- Evaluation neuropathologique :

Des tranches de cerveau de chaque groupe ont été évaluées morphologiquement, afin de repérer des signes de spongiose ainsi qu'un dépôt de PrPSc (Figure 59). Des décomptes neuronaux systématiques des neurones CA1 de l'hippocampe ont également été effectués (Figure 60).

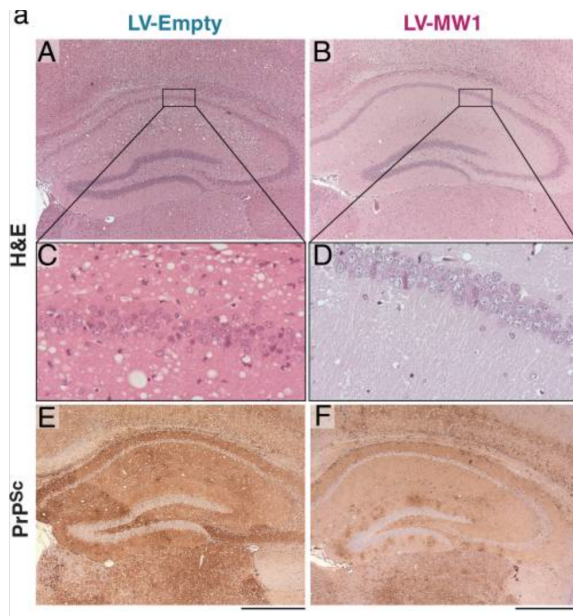


Figure 59 : Comparaison de la spongiose (A-D) et de l'accumulation de PrPSc (E-F) entre les groupes 1 (A, C, E) et 3 (B, D, F) dans la région CA1-3 de l'hippocampe droit (Barre d'échelle, 500 µm.)

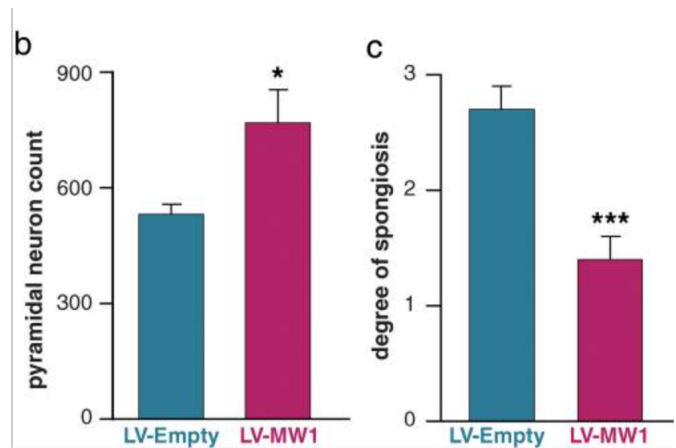


Figure 60 : Comptage des cellules CA1 (à gauche) et degré de spongiose (à droite) entre les groupes 1 (en bleu) et 3 (en rose)

Comme on peut le constater sur la figure 59, l'accumulation de PrPSc dans l'hippocampe est moins importante dans le groupe 3 par rapport au groupe 1, en sachant que les cerveaux des souris du groupe 3 ont été en moyenne prélevés plus tard en raison de leur survie plus longue, laissant plus de temps pour la réplication du prion et l'accumulation de PrPSc

La dégénérescence spongiforme de l'hippocampe a été évaluée par une notation semi-quantitative aveugle de la spongiose sur une échelle de 0 à 3 [indiquant une plage de spongiose absente (0) à sévère (3)] (Tableau 37).

	Groupe 1 (RML + LV-Empty)	Groupe 3 (RML + LV-MW1)
Comptage neuronal moyen (<i>P</i> = 0,029, <i>T</i> test de Student, bilatéral)	532 ± 24	852 ± 85
Score de spongiose moyen (<i>P</i> = 0,0007, <i>T</i> test de Student, bilatéral)	2,7 ± 0,2 (spongiose sévère)	1,3 ± 0,2 (spongiose légère)

Tableau 38 : Comptage neuronale et score de spongiose moyens selon les groupes

D'après les données présentées par les figures et tableaux ci-dessus, les chercheurs ont conclu que la perte neuronale ainsi que la spongiose étaient également significativement moins importantes chez les souris du groupe 3 par rapport au groupe 1, et que par conséquent, l'ARNi MW1 exerçait un effet protecteur contre la perte neuronale de l'hippocampe.

En dehors de l'hippocampe, l'analyse du cerveau entier des animaux du groupe 3 a montré une réduction significative de la spongiose et des dépôts de PrP^{Sc} dans le thalamus (mais non significative dans le cortex), par rapport au groupe 1.

(P = 0,03 pour la spongiose et P = 0,04 pour le dépôt de PrP^{Sc} dans le thalamus, T test de Student, bilatéral, variance inégale)

Les chercheurs ont donc conclu que l'ARNi MW1 altérait la propagation de la PrP^{Sc} dans l'hippocampe et dans le thalamus mais non au-delà. De plus, aucune preuve d'expression du lentivirus en dehors des hippocampes ayant subi l'injection n'a été trouvée.

De plus, les injections unilatérales de LV-MW1 dans l'hippocampe droit de souris infectées par des prions ont réduit les niveaux d'ARNm de PrP uniquement de ce côté, mais pas dans l'hippocampe gauche, prouvant que l'effet des lentivirus se limite à la zone d'injection.

En conclusion, les ARN interférents ont prouvé leur efficacité à la fois *in vitro* et *in vivo* chez le rongeur, à travers la réduction significative des taux de PrPc chez les animaux traités par rapport aux animaux témoins mais également en améliorant la survie et les symptômes des animaux, même lors d'une administration tardive, ce qui est rarement le cas parmi toutes les substances précédemment citées.

Ces résultats encourageants doivent maintenant être confirmés par des essais supplémentaires chez l'animal, lors d'administration au moment des premiers symptômes de la maladie.

Cependant, le développement d'une thérapie à base d'ARN interférent est confrontée à des obstacles non négligeables, le premier étant la délivrance de ces ARNi au niveau du SNC. La BHE restreint l'entrée passive des molécules de la circulation périphérique, ce qui signifie qu'un transport actif à travers cette barrière, une perturbation de la perméabilité ou une injection intracérébrale sont nécessaires pour l'administration au SNC. (171) Pfeifer *et al.* ont appliqué la stratégie des lentivirus comme vecteurs de ces ARNi au traitement des maladies à prions en 2006. Les lentivirus sont une famille de rétrovirus qui peuvent s'intégrer dans les génomes non seulement des cellules en division, mais également des cellules non en division (telles que les neurones) permettant vectorisation efficace et fiable des ARNi. (168)

Une autre problématique liée à l'utilisation des ARNi dans le traitement des maladies à prions vient du fait que les ARNi nécessitent en premier lieu d'être acheminés sous la forme d'ARN bicaténaires qui pourraient potentiellement stimuler le système immunitaire inné ou bien inhiber des gènes non cibles. (172)

Malgré tout, les ARNi ne semblent pas avoir induit de toxicité particulière dans les modèles cellulaires et murins précédemment exposés. Cette observation reste à confirmer à travers la réalisation d'études supplémentaires.

L'approche thérapeutique ARNi présente un avantage majeur dans le traitement de la maladie à prions : En théorie, cette stratégie est applicable à toutes les souches identifiées de cette maladie. Les séquences primaires de PrPc et PrPsc restant constantes pour toutes les variantes connues, l'utilisation de l'ARNi devrait être efficace en tant que traitement pour toutes les formes de la maladie.

VI - Discussion

Au terme de cette revue bibliographique, il apparaît qu'un grand nombre d'études cliniques et précliniques ont été réalisées, traduisant un intérêt certain de la communauté scientifique pour la découverte d'un traitement efficace à la MCJ.

Même si ce travail se veut le plus exhaustif possible, il n'a pas été possible de regrouper la totalité des études publiées sur le sujet, pour des questions évidentes de lisibilité et de fluidité. L'objectif ici est de produire une analyse critique des résultats précédemment exposés par les auteurs et de mettre en lumière les raisons qui ont poussé la recherche à abandonner certaines molécules.

Tout d'abord, la quinacrine a certes produit de bons résultats *in vitro* mais ces résultats n'ont pas pu être reproduits *in vivo* chez l'animal ou chez l'homme. La perte d'intérêt de la recherche pour cette molécule peut provenir de son mécanisme d'action qui limite l'accumulation de la PrPsc mais ne permet pas d'accélérer sa dégradation en la rendant à nouveau sensible aux protéases. Or la dégradation naturelle de la PrPsc est très lente dans le cerveau, ne permettant pas de conclure que la quinacrine est un traitement efficace. Contrairement à la quinacrine, la doxycycline permet elle d'accélérer la dégradation de la PrPsc mais cela n'a pas permis de montrer une quelconque efficacité chez l'homme, comme pour l'amphotéricine B, le pentosan polysulfate ou la flupirtine. Les discussions autour de ces molécules se sont évanouies au fil du temps probablement à cause des résultats décourageants obtenus chez l'homme et compte tenu de la difficulté de mise en oeuvre de ces études due à un petit effectif de patients, ce qui peut expliquer que la recherche se soit concentrée sur de nouvelles stratégies thérapeutiques comme les biotechnologies au cours du temps.

Par ailleurs, un élément important ayant ralenti la recherche d'un traitement contre la MCJ est la question de la sécurité du personnel intervenant dans les expérimentations en lien avec les prions. En effet, plusieurs cas de MCJ sont apparus chez des personnes travaillant en laboratoire, au contact de tissus infectés par des prions. C'est le cas de 2 techniciennes de l'INRAE, emportées par la MCJ en 2019 et 2021 respectivement, ainsi qu'un spécialiste espagnol du diagnostic précoce de la MCJ en 2022. Ces cas de MCJ ont conduit à une suspension des travaux de recherche et d'expérimentation relatifs aux maladies à prions en France de juillet à fin d'année 2021 afin de réévaluer l'ensemble des mesures de sécurité des laboratoires. Ces événements ont sans aucun doute freiné la recherche dans son élan, ce qui explique un affaiblissement des discussions autour des thérapeutiques de la MCJ récemment.

Hormis la problématique de sécurité au sein des laboratoires, certaines lacunes importantes dans les études présentées dans ce travail peuvent être soulignées à travers trois critiques majeures :

Premièrement, aucun des traitements candidats évoqués dans les études ci-dessus n'a prolongé la survie de manière significative chez l'homme. Ce constat diverge la plupart du temps des observations *in vitro* ou chez l'animal, où les traitements augmentent la période d'incubation et diminuent la quantité de PrPsc dans les tissus des animaux infectés. Cette divergence peut s'expliquer de plusieurs façons :

- Bien souvent, l'administration du traitement chez l'animal avait lieu peu de temps après l'inoculation du prion, voire plusieurs semaines avant. La précocité dans l'administration du traitement semble effectivement être une condition majeure à l'obtention de résultats positifs. Malheureusement, cette condition n'est pas envisageable chez l'homme à l'heure actuelle, au regard de méthodes diagnostiques ne permettant pas de dépister la maladie avant l'apparition des symptômes.
- Par ailleurs, les doses de substances administrées aux animaux ou mises au contact des cellules infectées couvrent souvent une large plage de concentrations afin de déterminer les concentrations inhibitrices ou les potentiels effets indésirables. Les effets sont généralement observés pour des concentrations élevées, qui ne sont pas atteintes chez l'homme lors des études cliniques, pour des questions de tolérance, ou en lien avec une administration périphérique (des injections intracérébrales chez le rongeur permettant de délivrer une dose plus importante sur le site d'action).
- Enfin, les expérimentations sur animaux privilégient régulièrement une inoculation de la tremblante par voie périphérique. Cette voie d'inoculation est tout à fait représentative d'une contamination périphérique chez l'homme, mais pour rappel, la majeure partie des cas de MCJ sont sporadiques, ce qui signifie que le prion trouve son origine dans le système nerveux central. Cependant, une inoculation par voie périphérique du prion s'affranchit de l'obstacle que représente la barrière hémato-encéphalique pour le traitement administré, et de cette façon produit des résultats généralement plus positifs en termes de survie ou de période d'incubation.

Deuxièmement, la MCJ est une maladie rare, touchant seulement une à deux personnes sur un million par année. En conséquence, un grand nombre des études cliniques mises en œuvre exposent des résultats très peu interprétables avec pour principale cause le faible nombre de patients volontaires. Pour tenter d'augmenter leur nombre de participants, certaines études ouvertes se sont affranchies d'un groupe placebo ou bien ont pris en compte les préférences des patients dans le choix du traitement. Malheureusement, il en résulte des données peu interprétables sans moyen de comparaison fiable ou avec un biais important. Ce constat plaide en faveur d'un effort coordonné international, comme l'ont fait la France et l'Italie en 2014 pour la Doxycycline. Cela favoriserait la mise en œuvre d'essais contrôlés par placebo, randomisés en double aveugle grâce à un nombre de participants plus important.

Troisièmement, il est important de souligner qu'aucune des études parcourues durant les recherches nécessaires à la rédaction de ce travail n'a exploré les effets de la conjugaison de plusieurs stratégies thérapeutiques. Cette idée a été soulevée par Feraudet *et al.* en 2005 lorsque la combinaison de deux anticorps ciblant le même épitope de la PrP a donné lieu à une synergie d'effet dans la réduction des taux de PrPsc. Il pourrait être intéressant d'étudier la combinaison d'une ou plusieurs substances chimiques ou biotechnologiques voire la combinaison d'une molécule chimique avec une molécule biotechnologique. Cela pourrait ouvrir la voie à de nouvelles découvertes et ranimer les discussions autour d'anciennes molécules telles que l'amphotéricine B ou la flupirtine.

Au sujet des stratégies plus actuelles, celles-ci n'en sont malheureusement encore qu'au stade pré-clinique pour la plupart. En émergent malgré tout des résultats très encourageants chez l'animal avec des prolongations de survie voire des animaux ne déclenchant pas de maladie clinique après vaccination. Toutefois, ces résultats sont à mettre en perspective avec leur potentiel limité aux contaminations périphériques. Encore une fois, les contaminations périphériques ne concernent qu'une infime partie des patients MCJ. Cela ne signifie en aucun cas que leur bénéfice est inexistant mais qu'ils profiteraient à un très faible nombre de personnes.

De plus, une neurotoxicité liée à l'administration de certains anticorps a été évoquée dans plusieurs articles, même si cela reste controversé. Il s'agit peut-être là d'une occasion de conjuguer des anticorps avec la flupirtine qui a prouvé un effet neuroprotecteur dans le passé.

Tout comme l'immunothérapie, les thérapies géniques font partie intégrante des perspectives d'avenir dans la MCJ. Avec pour principal objectif le silençage du gène responsable de la synthèse de la PrP, ces stratégies permettent d'agir plus en amont en diminuant les taux de PrP cellulaire disponibles pour la conversion. L'approche des ARN interférents a montré une prolongation significative de la durée de vie des rongeurs d'environ 20%, même lors d'une administration tardive après inoculation par voie intracérébrale du prion. Malgré ce résultat très encourageant, il est important de garder à l'esprit que les expériences doivent être répétées afin de confirmer cette observation, et qu'encore aucune étude chez l'homme n'a été conduite.

VII - Conclusion

THÈSE SOUTENUE PAR : Margaux CLAUSIER

TITRE :

Maladie de Creutzfeldt-Jakob : Exploration des pistes thérapeutiques & perspectives d'avenir

CONCLUSION :

Ce travail constitue une revue générale et narrative des essais thérapeutiques, précliniques et cliniques, dans la maladie de Creutzfeldt-Jakob. En conclusion, il apparaît clairement que bien que les avancées scientifiques aient permis de mieux appréhender les mécanismes fondamentaux de cette maladie neurodégénérative, les freins au développement de traitements spécifiques et efficaces demeurent, reposant encore sur une connaissance incomplète de la protéine prion et, surtout, du mécanisme de conversion de la forme saine en la forme pathologique.

Dans la plupart des études évoquées, rares sont les traitements ayant prouvé une efficacité au-delà des études chez le rongeur. Par ailleurs, il existe un nombre limité d'études expérimentant des traitements à des stades tardifs ou symptomatiques de la maladie.

Les investigations menées ont mis en évidence une évolution dans les approches thérapeutiques au fil du temps et au gré des découvertes scientifiques, allant des thérapies chimiques visant à contrôler la propagation des prions pathologiques à des stratégies biotechnologiques visant à briser l'auto-tolérance du système immunitaire.

Les principaux défis dans la recherche d'une stratégie thérapeutique à ce jour reposent sur la précocité dans l'administration du traitement, son affinité préférentielle pour la forme pathologique de la protéine prion et enfin l'aptitude de la substance à traverser la barrière hémato-encéphalique. Les limites pratiques consistent dans la difficulté à mettre en évidence des effets spécifiques au sein d'une population de patients rares et disséminés dans le monde. Cette constatation plaide en faveur d'un effort coordonné au niveau mondial, et pourrait constituer une illustration exemplaire de la mise en commun de la recherche médicale dans les maladies rares.

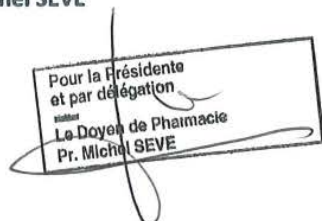
En somme, cette thèse offre un aperçu critique des avancées actuelles et des défis persistants dans le domaine des traitements de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, soulignant l'importance capitale de poursuivre les efforts de recherche afin d'apporter un espoir concret aux patients et à leurs familles confrontés à cette maladie.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le : 22/11/23

**LE DOYEN DE LA
FACULTÉ DE PHARMACIE**

Pr Michel SÈVE



LE DIRECTEUR / LA DIRECTRICE DE THÈSE

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Laurent Vercueil".

Dr. Laurent Vercueil

LE TUTEUR / LA TUTRICE UNIVERSITAIRE

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Anne Briançon-Marjollet".

Dr. Anne Briançon-Marjollet

BIBLIOGRAPHIE

1. Katscher F. It's Jakob's disease, not Creutzfeldt's. *Nature*. mai 1998;393(6680):11-11.
2. Triarhou LC. Alfons Maria Jakob (1884–1931), Neuropathologist par Excellence | *European Neurology* | Karger Publishers. *Eur Neurol*. déc 2008;61(1):52-8.
3. Carrilho P, Nitrini R. The controversial Third Reich history of Hans Creutzfeldt: was he a supporter or just another adept of the "hand washing policy"? *Arq Neuropsiquiatr*. févr 2021;79(1):84-7.
4. Prusiner SB. *La Mémoire et la Folie*. Vol. 1. Odile Jacob; 2015. 384 p.
6. Laurent M. L'exemplaire histoire du kuru. *Médecine/sciences*. avr 1999;15(4):545-50.
9. Ruttkay-Nedecky B, Sedlackova E, Chudobova D, Cihalova K, Jimenez AMJ, Krizkova S, et al. Prion protein and its interactions with metal ions (Cu²⁺, Zn²⁺, and Cd²⁺) and metallothionein 3. *ADMET DMPK*. 5 sept 2015;3(3):287-95.
10. Riesner D. Biochemistry and structure of PrP(C) and PrP(Sc). *Br Med Bull*. 2003;66:21-33.
12. Laszlo L, Lowe J, Self T, Kenward N, Landon M, McBride T, et al. Lysosomes as key organelles in the pathogenesis of prion encephalopathies. *J Pathol*. avr 1992;166(4):333-41.
14. Zerr I, Parchi P. Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Handb Clin Neurol*. 2018;153:155-74.
16. Parchi P, Castellani R, Capellari S, Ghetti B, Young K, Chen SG, et al. Molecular basis of phenotypic variability in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol*. juin 1996;39(6):767-78.
19. Ladogana A, Kovacs GG. Genetic Creutzfeldt-Jakob disease. *Handb Clin Neurol*. 2018;153:219-42.
20. Peoc'h K, Brandel JP, Salomon D, Leandre S, Haik S, Laplanche JL. E - 17 Polymorphisme 129 dans une population de patients initialement suspects de MCJ. *Rev Neurol (Paris)*. 1 avr 2007;163(4, Supplement 1):174-5.
21. Heath CA, Barker RA, Esmonde TFG, Harvey P, Roberts R, Trend P, et al. Dura mater-associated Creutzfeldt-Jakob disease: experience from surveillance in the UK. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. juill 2006;77(7):880-2.
24. Bélondrade M, Mayran C, Bruyère-Ostells L, Lehmann S, Green A, Will R, et al. Diagnostic pré-mortem du variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob. *Transfus Clin Biol*. 1 sept 2019;26(3, Supplement):S40.
26. Steinhoff BJ, Räcker S, Herrendorf G, Poser S, Grosche S, Zerr I, et al. Accuracy and reliability of periodic sharp wave complexes in Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol*. févr 1996;53(2):162-6.
27. Oppenheim C, Zuber M, Galanaud D, Detilleux M, Bolgert F, Mas J, et al. Spectroscopy and serial diffusion MR findings in hGH-Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. juill 2004;75(7):1066-9.
28. Jung S, Sturzenegger M, Schärer C, Fischer I, Altpeter E. Diagnostic et transmission

des maladies à prions. *Forum Méd Suisse*. oct 2011;11(41):713-7.

29. Zeidler M, Sellar RJ, Collie DA, Knight R, Stewart G, Macleod MA, et al. The pulvinar sign on magnetic resonance imaging in variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet Lond Engl*. 22 avr 2000;355(9213):1412-8.
31. Brandel JP, Grznarova K, Culeux A, Levavasseur E, Peckeu L, Welaratne A, et al. Les marqueurs du liquide céphalo-rachidien pour le diagnostic des maladies à prions. *Prat Neurol - FMC*. 1 sept 2018;9(3):186-91.
33. Brown P. Transmissible spongiform encephalopathy in the 21st century: neuroscience for the clinical neurologist. *Neurology*. 26 févr 2008;70(9):713-22.
34. Coulthart MB, Jansen GH, Olsen E, Godal DL, Connolly T, Choi BCK, et al. Diagnostic accuracy of cerebrospinal fluid protein markers for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease in Canada: a 6-year prospective study. *BMC Neurol*. 27 oct 2011;11:133.
35. Levavasseur E, Neslon P. Gros plan sur l'équipe de recherche sur les maladies à prion à l'Institut du Cerveau, Hôpital Pitié Salpêtrière. *La gazette du laboratoire*. déc 2020;2.
36. Teruya K, Doh-ura K. Insights from Therapeutic Studies for PrP Prion Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. mars 2017;7(3):a024430.
42. Prusiner SB, McKinley MP, Bowman KA, Bolton DC, Bendheim PE, Groth DF, et al. Scrapie prions aggregate to form amyloid-like birefringent rods. *Cell*. déc 1983;35(2 Pt 1):349-58.
43. Caughey B, Race RE. Potent inhibition of scrapie-associated PrP accumulation by congo red. *J Neurochem*. août 1992;59(2):768-71.
44. Ladner-Keay CL, Ross L, Perez-Pineiro R, Zhang L, Bjorndahl TC, Cashman N, et al. A simple in vitro assay for assessing the efficacy, mechanisms and kinetics of anti-prion fibril compounds. *Prion*. 9 oct 2018;12(5-6):280-300.
45. Ishikawa K, Doh-Ura K, Kudo Y, Nishida N, Murakami-Kubo I, Ando Y, et al. Amyloid imaging probes are useful for detection of prion plaques and treatment of transmissible spongiform encephalopathies. *J Gen Virol*. juin 2004;85(Pt 6):1785-90.
46. Korth C, May BCH, Cohen FE, Prusiner SB. Acridine and phenothiazine derivatives as pharmacotherapeutics for prion disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 14 août 2001;98(17):9836-41.
47. Doh-ura K, Iwaki T, Caughey B. Lysosomotropic Agents and Cysteine Protease Inhibitors Inhibit Scrapie-Associated Prion Protein Accumulation. *J Virol*. mai 2000;74(10):4894-7.
48. Barret A, Tagliavini F, Forloni G, Bate C, Salmona M, Colombo L, et al. Evaluation of Quinacrine Treatment for Prion Diseases. *J Virol*. août 2003;77(15):8462-9.
49. Collins SJ, Lewis V, Brazier M, Hill AF, Fletcher A, Masters CL. Quinacrine does not prolong survival in a murine Creutzfeldt-Jakob disease model. *Ann Neurol*. oct 2002;52(4):503-6.
50. Doh-ura K, Ishikawa K, Murakami-Kubo I, Sasaki K, Mohri S, Race R, et al. Treatment of Transmissible Spongiform Encephalopathy by Intraventricular Drug Infusion in Animal Models. *J Virol*. mai 2004;78(10):4999.

51. Josefson D. Drugs for malaria and psychosis may offer hope to people with CJD. *BMJ*. 25 août 2001;323(7310):416.
52. Haïk S, Brandel JP, Salomon D, Sazdovitch V, Delasnerie-Lauprêtre N, Laplanche JL, et al. Compassionate use of quinacrine in Creutzfeldt-Jakob disease fails to show significant effects. *Neurology*. 28 déc 2004;63(12):2413-5.
53. Collinge J, Gorham M, Hudson F, Kennedy A, Keogh G, Pal S, et al. Safety and efficacy of quinacrine in human prion disease (PRION-1 study): a patient-preference trial. *Lancet Neurol*. avr 2009;8(4):334-44.
54. Geschwind MD, Kuo AL, Wong KS, Haman A, Devereux G, Raudabaugh BJ, et al. Quinacrine treatment trial for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology*. 3 déc 2013;81(23):2015-23.
55. Warnock DW. Amphotericin B: an introduction. *J Antimicrob Chemother*. oct 1991;28 Suppl B:27-38.
59. Pocchiari M, Casaccia P, Ladogana A. Amphotericin B: A Novel Class of Antiscrapie Drugs. *J Infect Dis*. 1989;160(5):795-802.
60. Mangé A, Nishida N, Milhavet O, McMahon HEM, Casanova D, Lehmann S. Amphotericin B Inhibits the Generation of the Scrapie Isoform of the Prion Protein in Infected Cultures. *J Virol*. avr 2000;74(7):3135-40.
61. Pocchiari M, Schmittinger S, Masullo C. Amphotericin B delays the incubation period of scrapie in intracerebrally inoculated hamsters. *J Gen Virol*. janv 1987;68 (Pt 1):219-23.
62. Xi YG, Ingrosso L, Ladogana A, Masullo C, Pocchiari M. Amphotericin B treatment dissociates in vivo replication of the scrapie agent from PrP accumulation. *Nature*. 16 avr 1992;356(6370):598-601.
63. Demaimay R, Adjou K, Lasmézas C, Lazarini F, Cherifi K, Seman M, et al. Pharmacological studies of a new derivative of amphotericin B, MS-8209, in mouse and hamster scrapie. *J Gen Virol*. sept 1994;75 (Pt 9):2499-503.
64. McKenzie D, Kaczkowski J, Marsh R, Aiken J. Amphotericin B delays both scrapie agent replication and PrP-res accumulation early in infection. *J Virol*. nov 1994;68(11):7534-6.
65. Adjou KT, Demaimay R, Lasmezas C, Deslys JP, Seman M, Dormont D. MS-8209, a new amphotericin B derivative, provides enhanced efficacy in delaying hamster scrapie. *Antimicrob Agents Chemother*. déc 1995;39(12):2810-2.
66. Demaimay R, Adjou KT, Beringue V, Demart S, Lasmézas CI, Deslys JP, et al. Late treatment with polyene antibiotics can prolong the survival time of scrapie-infected animals. *J Virol*. déc 1997;71(12):9685-9.
67. Adjou KT, Demaimay R, Deslys JP, Lasmézas CI, Beringue V, Demart S, et al. MS-8209, a water-soluble amphotericin B derivative, affects both scrapie agent replication and PrPres accumulation in Syrian hamster scrapie. *J Gen Virol*. avr 1999;80 (Pt 4):1079-85.
68. Adjou KT, Privat N, Demart S, Deslys JP, Seman M, Hauw JJ, et al. MS-8209, an amphotericin B analogue, delays the appearance of spongiosis, astrogliosis and PrPres accumulation in the brain of scrapie-infected hamsters. *J Comp Pathol*. janv 2000;122(1):3-8.

69. Masullo C, Macchi G, Xi YG, Pocchiari M. Failure to ameliorate Creutzfeldt-Jakob disease with amphotericin B therapy. *J Infect Dis.* avr 1992;165(4):784-5.
71. Tardy-Poncet B, Tardy B, Grelac F, Reynaud J, Mismetti P, Bertrand JC, et al. Pentosan polysulfate-induced thrombocytopenia and thrombosis. *Am J Hematol.* mars 1994;45(3):252-7.
74. Petrosyan R, Patra S, Rezajooei N, Garen CR, Woodside MT. Unfolded and intermediate states of PrP play a key role in the mechanism of action of an antiprion chaperone. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2 mars 2021;118(9):e2010213118.
75. Caughey B, Raymond GJ. Sulfated polyanion inhibition of scrapie-associated PrP accumulation in cultured cells. *J Virol.* févr 1993;67(2):643-50.
76. Ehlers B, Rudolph R, Diringer H. The reticuloendothelial system in scrapie pathogenesis. *J Gen Virol.* févr 1984;65 (Pt 2):423-8.
77. Farquhar CF, Dickinson AG. Prolongation of scrapie incubation period by an injection of dextran sulphate 500 within the month before or after infection. *J Gen Virol.* mars 1986;67 (Pt 3):463-73.
78. Diringer H, Ehlers B. Chemoprophylaxis of scrapie in mice. *J Gen Virol.* févr 1991;72 (Pt 2):457-60.
79. Bone I, Belton L, Walker AS, Darbyshire J. Intraventricular pentosan polysulphate in human prion diseases: an observational study in the UK. *Eur J Neurol.* mai 2008;15(5):458-64.
80. Tsuboi Y, Doh-Ura K, Yamada T. Continuous intraventricular infusion of pentosan polysulfate: clinical trial against prion diseases. *Neuropathol Off J Jpn Soc Neuropathol.* oct 2009;29(5):632-6.
82. Chopra I, Roberts M. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* juin 2001;65(2):232-60.
84. Tagliavini F, Forloni G, Colombo L, Rossi G, Girola L, Canciani B, et al. Tetracycline affects abnormal properties of synthetic PrP peptides and PrP(Sc) in vitro. *J Mol Biol.* 28 juill 2000;300(5):1309-22.
85. Forloni G, Salmona M, Marcon G, Tagliavini F. Tetracyclines and prion infectivity. *Infect Disord Drug Targets.* févr 2009;9(1):23-30.
86. Forloni G, Iussich S, Awan T, Colombo L, Angeretti N, Girola L, et al. Tetracyclines affect prion infectivity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 6 août 2002;99(16):10849-54.
87. De Luigi A, Colombo L, Diomedea L, Capobianco R, Mangieri M, Miccolo C, et al. The Efficacy of Tetracyclines in Peripheral and Intracerebral Prion Infection. *PLoS ONE.* 26 mars 2008;3(3):e1888.
88. Haïk S, Marcon G, Mallet A, Tettamanti M, Welaratne A, Giaccone G, et al. Doxycycline in Creutzfeldt-Jakob disease: a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol.* févr 2014;13(2):150-8.
89. Varges D, Manthey H, Heinemann U, Ponto C, Schmitz M, Schulz-Schaeffer WJ, et al. Doxycycline in early CJD: a double-blinded randomised phase II and observational study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* févr 2017;88(2):119-25.

91. Harish S, Bhuvana K, Bengalorkar GM, Kumar T. Flupirtine: Clinical pharmacology. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*. 2012;28(2):172-7.
94. Perovic S, Schleger C, Pergande G, Iskric S, Ushijima H, Rytik P, et al. The triaminopyridine flupirtine prevents cell death in rat cortical cells induced by N-methyl-d-aspartate and gp120 of HIV-1. *Eur J Pharmacol Mol Pharmacol*. 15 déc 1994;288(1):27-33.
95. Perovic S, Pialoglou P, Schröder HC, Pergande G, Müller WE. Flupirtine increases the levels of glutathione and Bcl-2 in hNT (human Ntera/D1) neurons: mode of action of the drug-mediated anti-apoptotic effect. *Eur J Pharmacol*. 12 déc 1996;317(1):157-64.
96. Perovic S, Schröder HC, Pergande G, Ushijima H, Müller WE. Effect of flupirtine on Bcl-2 and glutathione level in neuronal cells treated in vitro with the prion protein fragment (PrP106-126). *Exp Neurol*. oct 1997;147(2):518-24.
97. Otto M, Cepek L, Ratzka P, Doehlinger S, Boekhoff I, Wiltfang J, et al. Efficacy of flupirtine on cognitive function in patients with CJD: A double-blind study. *Neurology*. 9 mars 2004;62(5):714-8.
99. Bachy V, Carnaud C. Immunothérapie des maladies neurodégénératives: le temps est-il venu de changer de paradigme ? *Bull Académie Vét Fr*. 2011;164(2):105-12.
100. Schenk D, Barbour R, Dunn W, Gordon G, Grajeda H, Guido T, et al. Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature*. 8 juill 1999;400(6740):173-7.
102. Souan L, Tal Y, Felling Y, Cohen IR, Taraboulos A, Mor F. Modulation of proteinase-K resistant prion protein by prion peptide immunization. *Eur J Immunol*. août 2001;31(8):2338-46.
103. Bachy V, Ballerini C, Gourdain P, Prignon A, Iken S, Antoine N, et al. Mouse vaccination with dendritic cells loaded with prion protein peptides overcomes tolerance and delays scrapie. *J Gen Virol*. mars 2010;91(Pt 3):809-20.
104. Koller MF, Grau T, Christen P. Induction of antibodies against murine full-length prion protein in wild-type mice. *J Neuroimmunol*. nov 2002;132(1-2):113-6.
105. Schwarz A, Krätke O, Burwinkel M, Riemer C, Schultz J, Henklein P, et al. Immunisation with a synthetic prion protein-derived peptide prolongs survival times of mice orally exposed to the scrapie agent. *Neurosci Lett*. 30 oct 2003;350(3):187-9.
106. Ishibashi D, Yamanaka H, Yamaguchi N, Yoshikawa D, Nakamura R, Okimura N, et al. Immunization with recombinant bovine but not mouse prion protein delays the onset of disease in mice inoculated with a mouse-adapted prion. *Vaccine*. 22 janv 2007;25(6):985-92.
107. Ishibashi D, Yamanaka H, Mori T, Yamaguchi N, Yamaguchi Y, Nishida N, et al. Antigenic mimicry-mediated anti-prion effects induced by bacterial enzyme succinylarginine dihydrolase in mice. *Vaccine*. 21 nov 2011;29(50):9321-8.
108. Goñi F, Mathiason CK, Yim L, Wong K, Hayes-Klug J, Nalls A, et al. Mucosal Immunization with an Attenuated Salmonella Vaccine Partially Protects White-Tailed Deer from Chronic Wasting Disease. *Vaccine*. 29 janv 2015;33(5):726-33.
109. Sassa Y, Kataoka N, Inoshima Y, Ishiguro N. Anti-PrP antibodies detected at terminal stage of prion-affected mouse. *Cell Immunol*. 2010;263(2):212-8.

110. Zou WQ, Cashman NR. Acidic pH and detergents enhance in vitro conversion of human brain PrPC to a PrPSc-like form. *J Biol Chem.* 15 nov 2002;277(46):43942-7.
111. Paramithiotis E, Pinard M, Lawton T, LaBoissiere S, Leathers VL, Zou WQ, et al. A prion protein epitope selective for the pathologically misfolded conformation. *Nat Med.* juill 2003;9(7):893-9.
113. Sigurdson CJ, Aguzzi A. Chronic wasting disease. *Biochim Biophys Acta.* juin 2007;1772(6):610-8.
114. Gossert AD, Bonjour S, Lysek DA, Fiorito F, Wüthrich K. Prion protein NMR structures of elk and of mouse/elk hybrids. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 18 janv 2005;102(3):646-50.
115. Soto C. Constraining the loop, releasing prion infectivity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 6 janv 2009;106(1):10-1.
116. Wood ME, Griebel P, Huizenga ML, Lockwood S, Hansen C, Potter A, et al. Accelerated onset of chronic wasting disease in elk (*Cervus canadensis*) vaccinated with a PrPSc-specific vaccine and housed in a prion contaminated environment. *Vaccine.* 29 nov 2018;36(50):7737-43.
117. Taschuk R, Van der Merwe J, Marciniuk K, Potter A, Cashman N, Griebel P, et al. In vitro neutralization of prions with PrPSc-specific antibodies. *Prion.* 18 août 2015;9(4):292-303.
120. Enari M, Flechsig E, Weissmann C. Scrapie prion protein accumulation by scrapie-infected neuroblastoma cells abrogated by exposure to a prion protein antibody. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 31 juill 2001;98(16):9295-9.
121. Pankiewicz J, Prelli F, Sy MS, Kascsak RJ, Kascsak RB, Spinner DS, et al. Clearance and prevention of prion infection in cell culture by anti-PrP antibodies. *Eur J Neurosci.* mai 2006;23(10):2635-47.
122. Peretz D, Williamson RA, Kaneko K, Vergara J, Leclerc E, Schmitt-Ulms G, et al. Antibodies inhibit prion propagation and clear cell cultures of prion infectivity. *Nature.* 16 août 2001;412(6848):739-43.
123. Perrier V, Solassol J, Crozet C, Frobert Y, Mourton-Gilles C, Grassi J, et al. Anti-PrP antibodies block PrPSc replication in prion-infected cell cultures by accelerating PrPC degradation. *J Neurochem.* avr 2004;89(2):454-63.
124. Leucht C, Simoneau S, Rey C, Vana K, Rieger R, Lasmézas CI, et al. The 37 kDa/67 kDa laminin receptor is required for PrPSc propagation in scrapie-infected neuronal cells. *EMBO Rep.* mars 2003;4(3):290-5.
125. Féraudet C, Morel N, Simon S, Volland H, Frobert Y, Créminon C, et al. Screening of 145 anti-PrP monoclonal antibodies for their capacity to inhibit PrPSc replication in infected cells. *J Biol Chem.* 25 mars 2005;280(12):11247-58.
126. White AR, Enever P, Tayebi M, Mushens R, Linehan J, Brandner S, et al. Monoclonal antibodies inhibit prion replication and delay the development of prion disease. *Nature.* 6 mars 2003;422(6927):80-3.
127. Sigurdsson EM, Sy MS, Li R, Scholtzova H, Kascsak RJ, Kascsak R, et al. Anti-prion antibodies for prophylaxis following prion exposure in mice. *Neurosci Lett.* 23 janv 2003;336(3):185-7.

128. Song CH, Furuoka H, Kim CL, Ogino M, Suzuki A, Hasebe R, et al. Effect of intraventricular infusion of anti-prion protein monoclonal antibodies on disease progression in prion-infected mice. *J Gen Virol.* juin 2008;89(Pt 6):1533-44.
129. Wuertzer CA, Sullivan MA, Qiu X, Federoff HJ. CNS delivery of vectored prion-specific single-chain antibodies delays disease onset. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther.* mars 2008;16(3):481-6.
130. Zuber C, Knackmuss S, Rey C, Reusch U, Röttgen P, Fröhlich T, et al. Single chain Fv antibodies directed against the 37 kDa/67 kDa laminin receptor as therapeutic tools in prion diseases. *Mol Immunol.* janv 2008;45(1):144-51.
131. Zuber C, Mitteregger G, Schuhmann N, Rey C, Knackmuss S, Rupprecht W, et al. Delivery of single-chain antibodies (scFvs) directed against the 37/67 kDa laminin receptor into mice via recombinant adeno-associated viral vectors for prion disease gene therapy. *J Gen Virol.* août 2008;89(Pt 8):2055-61.
132. Sadowski MJ, Pankiewicz J, Prelli F, Scholtzova H, Spinner DS, Kascsak RB, et al. Anti-PrP Mab 6D11 suppresses PrPSc replication in prion infected myeloid precursor line FDC-P1/22L and in the lymphoreticular system in vivo. *Neurobiol Dis.* mai 2009;34(2):267-78.
133. Féraudet-Tarisse C, Andréoletti O, Morel N, Simon S, Lacroux C, Mathey J, et al. Immunotherapeutic effect of anti-PrP monoclonal antibodies in transmissible spongiform encephalopathy mouse models: pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis. *J Gen Virol.* juin 2010;91(Pt 6):1635-45.
134. Petsch B, Müller-Schiffmann A, Lehle A, Zirdum E, Prikulis I, Kuhn F, et al. Biological Effects and Use of PrPSc- and PrP-Specific Antibodies Generated by Immunization with Purified Full-Length Native Mouse Prions[▽]. *J Virol.* mai 2011;85(9):4538-46.
135. Moda F, Vimercati C, Campagnani I, Ruggerone M, Giaccone G, Morbin M, et al. Brain delivery of AAV9 expressing an anti-PrP monovalent antibody delays prion disease in mice. *Prion.* 1 sept 2012;6(4):383-90.
136. Mead S, Khalili-Shirazi A, Potter C, Mok T, Nihat A, Hyare H, et al. Prion protein monoclonal antibody (PRN100) therapy for Creutzfeldt-Jakob disease: evaluation of a first-in-human treatment programme. *Lancet Neurol.* avr 2022;21(4):342-54.
137. Ma Y, Ma J. Immunotherapy against Prion Disease. *Pathogens.* 14 mars 2020;9(3):216.
138. Sweeney MD, Sagare AP, Zlokovic BV. Blood–brain barrier breakdown in Alzheimer’s disease and other neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurol.* mars 2018;14(3):133-50.
139. Reimann RR, Sonati T, Hornemann S, Herrmann US, Arand M, Hawke S, et al. Differential Toxicity of Antibodies to the Prion Protein. *PLoS Pathog.* 28 janv 2016;12(1):e1005401.
140. Lefebvre-Roque M, Kremmer E, Gilch S, Zou WQ, Féraudet C, Mourton Gilles C, et al. Toxic Effects of Intracerebral PrP Antibody Administration During the Course of BSE Infection in Mice. *Prion.* 2007;1(3):198-206.
141. Klöhn PC, Farmer M, Linehan JM, O’Malley C, Fernandez de Marco M, Taylor W, et al. PrP antibodies do not trigger mouse hippocampal neuron apoptosis. *Science.* 6 janv 2012;335(6064):52.

142. Heikenwalder M, Polymenidou M, Junt T, Sigurdson C, Wagner H, Akira S, et al. Lymphoid follicle destruction and immunosuppression after repeated CpG oligodeoxynucleotide administration. *Nat Med.* févr 2004;10(2):187-92.
144. Büeler H, Aguzzi A, Sailer A, Greiner RA, Autenried P, Aguet M, et al. Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. *Cell.* 2 juill 1993;73(7):1339-47.
145. Salvesen Ø, Espenes A, Reiten MR, Vuong TT, Malachin G, Tran L, et al. Goats naturally devoid of PrPC are resistant to scrapie. *Vet Res.* 10 janv 2020;51(1):1.
146. Büeler H, Raeber A, Sailer A, Fischer M, Aguzzi A, Weissmann C. High prion and PrP^{Sc} levels but delayed onset of disease in scrapie-inoculated mice heterozygous for a disrupted PrP gene. *Mol Med Camb Mass.* nov 1994;1(1):19-30.
147. Fischer M, Rüllicke T, Raeber A, Sailer A, Moser M, Oesch B, et al. Prion protein (PrP) with amino-proximal deletions restoring susceptibility of PrP knockout mice to scrapie. *EMBO J.* 15 mars 1996;15(6):1255-64.
148. Küffer A, Lakkaraju AKK, Mogha A, Petersen SC, Airich K, Doucerain C, et al. The prion protein is an agonistic ligand of the G protein-coupled receptor Adgrg6. *Nature.* 25 août 2016;536(7617):464-8.
149. Bremer J, Baumann F, Tiberi C, Wessig C, Fischer H, Schwarz P, et al. Axonal prion protein is required for peripheral myelin maintenance. *Nat Neurosci.* mars 2010;13(3):310-8.
150. Skedsmo FS, Malachin G, Våge DI, Hammervold MM, Salvesen Ø, Ersdal C, et al. Demyelinating polyneuropathy in goats lacking prion protein. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* févr 2020;34(2):2359-75.
151. Minikel EV, Vallabh SM, Lek M, Estrada K, Samocha KE, Sathirapongsasuti JF, et al. Quantifying prion disease penetrance using large population control cohorts. *Sci Transl Med.* 20 janv 2016;8(322):322ra9.
152. Minikel EV, Karczewski KJ, Martin HC, Cummings BB, Whiffin N, Rhodes D, et al. Evaluating drug targets through human loss-of-function genetic variation. *Nature.* mai 2020;581(7809):459-64.
155. European Medicines Agency. Refus de l'autorisation de mise sur le marché pour Kynamro (mipomersen). 2013.
158. Aartsma-Rus A, Goemans N. A Sequel to the Eteplirsén Saga: Eteplirsén Is Approved in the United States but Was Not Approved in Europe. *Nucleic Acid Ther.* févr 2019;29(1):13-5.
159. Raymond GJ, Zhao HT, Race B, Raymond LD, Williams K, Swayze EE, et al. Antisense oligonucleotides extend survival of prion-infected mice. *JCI Insight.* 30 juill 2019;4(16):13.
160. Kocisko DA, Vaillant A, Lee KS, Arnold KM, Bertholet N, Race RE, et al. Potent Antiscrapie Activities of Degenerate Phosphorothioate Oligonucleotides. *Antimicrob Agents Chemother.* mars 2006;50(3):1034-44.
161. Karpuj MV, Giles K, Gelibter-Niv S, Scott MR, Lingappa VR, Szoka FC, et al. Phosphorothioate oligonucleotides reduce PrP levels and prion infectivity in cultured cells. *Mol Med Camb Mass.* 2007;13(3-4):190-8.
162. Nazor Friberg K, Hung G, Wancewicz E, Giles K, Black C, Freier S, et al.

- Intracerebral Infusion of Antisense Oligonucleotides Into Prion-infected Mice. *Mol Ther Nucleic Acids*. févr 2012;1(2):e9.
163. Rana TM. Illuminating the silence: understanding the structure and function of small RNAs. *Nat Rev Mol Cell Biol*. janv 2007;8(1):23-36.
166. Bouvenot G. Les traitements par ARN interférents et par oligonucléotides antisens actuellement disponibles en France : une mise au point. *Bull Acad Natl Med*. avr 2022;206(4):554-8.
167. Tilly G, Chapuis J, Vilette D, Laude H, Vilotte JL. Efficient and specific down-regulation of prion protein expression by RNAi. *Biochem Biophys Res Commun*. 6 juin 2003;305(3):548-51.
168. Pfeifer A, Eigenbrod S, Al-Khadra S, Hofmann A, Mitteregger G, Moser M, et al. Lentivector-mediated RNAi efficiently suppresses prion protein and prolongs survival of scrapie-infected mice. *J Clin Invest*. déc 2006;116(12):3204-10.
169. Daude N, Marella M, Chabry J. Specific inhibition of pathological prion protein accumulation by small interfering RNAs. *J Cell Sci*. 1 juill 2003;116(Pt 13):2775-9.
170. White MD, Farmer M, Mirabile I, Brandner S, Collinge J, Mallucci GR. Single treatment with RNAi against prion protein rescues early neuronal dysfunction and prolongs survival in mice with prion disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 22 juill 2008;105(29):10238-43.
171. White MD, Mallucci GR. Therapy for prion diseases. *Prion*. 2009;3(3):121-8.
172. Kong Q. RNAi: a novel strategy for the treatment of prion diseases. *J Clin Invest*. 1 déc 2006;116(12):3101-3.

SITOGRAPHIE

5. The Nobel Prize [Internet]. [cité 30 nov 2023]. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1976. Disponible sur:
<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1976/gajdusek/facts/>
7. The Nobel Prize [Internet]. [cité 30 nov 2023]. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1997. Disponible sur:
<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1997/prusiner/facts/>
8. Ragagnin A. Mort neuronale et maladies à prions [Internet]. [Strasbourg]: Université de Strasbourg; 2014 [cité 2 juin 2023]. Disponible sur:
https://www.google.com/url?q=https://www.theses.fr/2014STRAJ094.pdf&sa=D&source=docs&ust=1701384625947595&usq=AOvVaw1ogvQ_nwIGQ5C_I4lscRVk
11. Hopitaux Universitaires Pitié Salpêtrière Charles Foix. Le Diagnostic de MCJ [Internet]. [cité 12 mai 2023]. Disponible sur:
https://pitieosalpetriere.aphp.fr/wp-content/blogs.dir/58/files/2017/11/diag_criteres_neuropathologiques_pro_.pdf
13. Hopitaux Universitaires Pitié Salpêtrière Charles Foix. Les prions ; La nature de l'agent [Internet]. [cité 15 mai 2023]. Disponible sur:
https://pitieosalpetriere.aphp.fr/wp-content/blogs.dir/58/files/2017/11/les_prions_nature_agent_pro_.pdf
15. Hopitaux Universitaires Pitié Salpêtrière Charles Foix. Les 3 formes de la maladie de Creutzfeldt-Jakob et leurs symptômes [Internet]. [cité 28 mai 2023]. Disponible sur:
https://pitieosalpetriere.aphp.fr/wp-content/blogs.dir/58/files/2017/11/les_3_formes_mcj_gp.pdf
17. Memory and Aging Center [Internet]. [cité 30 nov 2023]. Familial Prion Disease. Disponible sur:
<https://memory.ucsf.edu/genetics/familial-prion-disease>
18. Inserm. Inserm. 2017 [cité 30 nov 2023]. Maladies à prions / Maladie de Creutzfeldt-Jakob · Inserm, La science pour la santé. Disponible sur:
<https://www.inserm.fr/dossier/maladies-prions-maladie-creutzfeldt-jakob/>
22. Institut du Cerveau [Internet]. [cité 30 nov 2023]. Quels sont les symptômes des maladies à prions ? Disponible sur:
<https://institutducerveau-icm.org/fr/maladie-prion-creutzfeldt-jakob/symptome-diagnostic/>
23. CEA. CEA/Institut de biologie François Jacob. CEA; 2020 [cité 30 nov 2023]. Un nouveau mode de transmission de la variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob mis en évidence. Disponible sur:
<https://www.cea.fr/drf/francoisjacob/Pages/Actualites/Actus-scientifiques/2020/nouveau-mode-transmission-variante-Creutzfeldt-Jakob.aspx>
25. Alpérovitch A, Delasnerie-Laupêtre N, Brandel JP, Salomon D. La maladie de Creutzfeldt-Jakob en France, 1992 - 2002 [Internet]. Inserm; 2004 déc [cité 29 mai 2023] p. 28. Disponible sur:
<https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-infectieuses-d-origine-alimentaire/maladie-de-creutzfeldt-jakob/documents/rapport-synthese/la-maladie-de-creutz>

[feldt-jakob-en-france-1992-2002#:~:text=L'incidence%20annuelle%20de%20la.'%C3%A2ges%2080%2D89%20ans.](#)

30. Ap-HP. Nord Université Paris-Cité [Internet]. 2022 [cité 1 déc 2023]. Manuel de Prélèvement Fiche Analyse. Disponible sur:
<https://ghparis10.manuelprelevement.fr/DetailNew.aspx?id=A2630&redirect=home>
32. Panel d'analyse du liquide céphalorachidien (LCR) [Internet]. [cité 30 juin 2023]. Disponible sur:
<https://rcrsp.canada.ca/gts/tests-diagnostiques-de-reference/4462?labId=1025>
37. NCIthesaurus [Internet]. [cité 1 déc 2023]. NCI Thesaurus. Disponible sur:
https://ncithesaurus.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI_Thesaurus&ns=ncit&code=C81102
38. Fiche technique - Rouge Congo ammoniacal, Rouge Congo aqueux, Rouge Congo SDS [Internet]. [cité 1 déc 2023]. Disponible sur:
http://www.champignons-passion.be/tech_34.htm
39. Haz-Map [Internet]. [cité 1 déc 2023]. Congo Red. Disponible sur:
<https://haz-map.com/Agents/2433>
40. INRS [Internet]. [cité 1 déc 2023]. Benzidine. Disponible sur:
https://www.inrs.fr/cmrr/publigen_cmrr_v2.nsf/allDocRechercheVisu/D61CACA2F35FDD84C12572FE002F2463?opendocument
41. PubChem. PubChem. [cité 1 déc 2023]. Congo red. Disponible sur:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/11313>
56. Noor A, Preuss CV. StatPearls. 2023 [cité 1 déc 2023]. Amphotericin B. Disponible sur:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482327/>
57. PHARMACOMédicale.org [Internet]. 2018 [cité 1 déc 2023]. Amphotéricine B. Disponible sur:
<https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/amphotericine-b>
58. PubChem. PubChem. [cité 1 déc 2023]. Amphotericin B. Disponible sur:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280965>
70. Food and Drug Administration. ELMIRON®-100 MG (PENTOSAN POLYSULFATE SODIUM) CAPSULES PRESCRIBING INFORMATION [Internet]. 2021 [cité 7 juill 2023]. Disponible sur:
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2008/020193s009lbl.pdf
72. Selleck [Internet]. [cité 4 déc 2023]. Pentosan Polysulfate Sodium. Disponible sur:
<https://www.selleckchem.com/products/pentosan-polysulfate-sodium.html>
73. Minikel E. CureFFI.org. 2012 [cité 4 déc 2023]. The rise and fall of pentosan polysulfate in prion disease. Disponible sur:
<https://www.cureffi.org/2012/12/13/the-rise-and-fall-of-pentosan-polysulfate-in-prion-disease/>
81. Shutter MC, Akhondi H. Tetracycline. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [cité 4 déc 2023]. Disponible sur:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549905/>

83. PubChem. PubChem. [cité 4 déc 2023]. Doxycycline. Disponible sur:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54671203>
90. European Medicines Agency. Assessment report for flupirtine containing medicinal products [Internet]. United Kingdom: European Medicines Agency; 2013 juin [cité 15 juill 2023] p. 34. Report No.: EMEA/H/A-107i/1363. Disponible sur:
https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/flupirtine-containing-medicines-article-107-i-procedure-prac-assessment-report_en.pdf
92. Restrictions de l'utilisation des médicaments contenant de la flupirtine [Internet]. European Medicines Agency; 2013 sept [cité 15 juill 2023] p. 3. Report No.: EMA/563900/2013. Disponible sur:
https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/flupirtine-containing-medicines-article-107-i-procedure-restrictions-use-flupirtine-containing_fr.pdf
93. PubChem. PubChem. [cité 4 déc 2023]. Flupirtine. Disponible sur:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/53276>
98. European Medicines Agency. Annexe II : Conclusions scientifiques et motifs de la modification des termes des autorisations de mise sur le marché soumises à conditions et explication détaillée des différences par rapport à la recommandation du PRAC [Internet]. European Medicines Agency; [cité 18 juill 2023]. Disponible sur:
https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/flupirtine-containing-medicines-article-107-i-procedure-annex-ii_fr.pdf
101. Académie Nationale de Médecine [Internet]. [cité 4 déc 2023]. Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine. Disponible sur:
<https://www.academie-medecine.fr/le-dictionnaire/index.php?q=immunisation%20active>
112. Cashman NR. Antibodies and epitopes specific to misfolded prion protein [Internet]. US20120107321A1, 2012 [cité 19 juill 2023]. p. 27. Disponible sur:
<https://patentimages.storage.googleapis.com/61/0c/4d/12f9f7a3028086/US20120107321A1.pdf>
118. Académie Nationale de Médecine [Internet]. [cité 4 déc 2023]. Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine. Disponible sur:
<https://www.academie-medecine.fr/le-dictionnaire/index.php?q=immunisation%20passive>
119. Alexandrenne-Durieux C. Apports de l'immunisation génique à l'obtention d'anticorps à visée thérapeutique : vers une immunothérapie des maladies à prions. [Internet]. [Faculté de Médecine Paris-Sud]: Université Paris XI; 2007 [cité 18 juill 2023]. Disponible sur:
https://theses.hal.science/tel-00351080/file/These_Alexandrenne_Coralie_2007_CEA-iBiTec-S.pdf.pdf
143. Académie Nationale de Médecine [Internet]. [cité 29 nov 2023]. La thérapie génique : bilan et perspectives – Académie nationale de médecine | Une institution dans son temps. Disponible sur:
<https://www.academie-medecine.fr/la-therapie-genique-bilan-et-perspectives/>
153. Creutzfeldt-Jakob Disease Foundation [Internet]. [cité 4 déc 2023]. Clinical Trials. Disponible sur:
<https://cjd.foundation.org/clinical-trials>
154. Bonnaire S. Les oligonucléotides antisens en thérapie : cas du Kynamro® [Internet].

- [Faculté de Pharmacie de Rennes]: Université de Rennes; 2016 [cité 4 déc 2023].
Disponible sur:
<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01758772>
156. European Medicines Agency. Annexe I: Résumé des caractéristiques du produit [Internet]. [cité 19 juill 2023]. Disponible sur:
https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/1999/199907293331/anx_3331_fr.pdf
157. European Medicines Agency. Annexe I: Résumé des caractéristiques du produit [Internet]. [cité 18 juill 2023]. Disponible sur:
https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/spinraza-epar-product-information_fr.pdf
164. Marlin F. Vectorisation d'oligonucleotides par la vitamine B2 [Internet]. [Faculté de Médecine Paris-Sud]: Université Paris XI; 2011 [cité 17 oct 2023]. Disponible sur:
<https://www.theses.fr/2011PA11T074>
165. medportal [Internet]. 2023 [cité 4 déc 2023]. Comprendre le fonctionnement des thérapies basées sur l'ARN. Disponible sur:
<https://www.medportal.ch/fr/domaines-therapeutiques/cardiologie/hypercholesterolemie/therapie-par-arn/comprendre-le>

Serment de Galien

*Université Grenoble Alpes
UFR de Pharmacie de Grenoble*



Serment de Galien



« En présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples, je jure :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque ».

MALADIE DE CREUTZFELDT-JAKOB : EXPLORATION DES PISTES THÉRAPEUTIQUES & PERSPECTIVES D'AVENIR

RÉSUMÉ : Ce travail constitue une revue critique des essais précliniques et cliniques significatifs ayant été conduits sur la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) depuis la caractérisation de l'agent causal, et a également pour but de mettre en lumière les perspectives actuelles dans le traitement de cette maladie encore mal comprise. La MCJ est une maladie neurodégénérative rapidement évolutive et invariablement fatale, ayant pour cause le prion, une protéine mal repliée. Dans la grande majorité des cas, la maladie trouve une origine intrinsèque liée à la mutation du gène responsable de l'expression de cette protéine, mais peut également avoir une origine extrinsèque iatrogène ou à travers la consommation de viande animale infectée. Il s'agit néanmoins d'une maladie rare touchant environ une à deux personnes sur un million par année.

La nature peu commune de cet agent ainsi que la rareté de la maladie constituent les principaux obstacles dans la recherche d'un traitement. Depuis les années 80, de nombreux essais pré-cliniques ont montré une efficacité chez le rongeur dans le prolongement de la survie et dans la réduction des taux de prion chez les sujets infectés mais cette efficacité n'a malheureusement jamais pu être observée dans les études conduites chez l'homme. Toutefois, depuis les années 2000, de nouvelles perspectives ont émergé avec l'essor des biotechnologies notamment l'immunothérapie ou la thérapie génique qui ont montré des résultats encourageants *in vitro* et chez le rongeur. Ces nouvelles stratégies commencent seulement à être expérimentées chez l'homme et nécessitent de la patience avant d'obtenir le recul nécessaire à l'interprétation de leurs résultats. Un autre obstacle à la conception d'un traitement repose sur sa capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique. Cette capacité est suffisamment rare pour exclure bon nombre de médicaments candidats ou nécessite une administration intracérébrale directe, impliquant un risque non négligeable pour le patient. En somme, cette thèse offre un aperçu critique des avancées actuelles et des défis persistants dans le domaine des traitements de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, soulignant l'importance capitale de poursuivre les efforts de recherche afin d'apporter un espoir concret aux patients et à leurs familles confrontés à cette maladie.

MOTS CLÉS : Creutzfeldt-Jakob, traitement, prions, thérapie génique, immunothérapie, quinacrine, tetracycline, pentosan polysulfate, amphotéricine B, flupirtine, antisens

SPÉCIALITÉ : Industrie