



# Numéro spécial : Maladies Rares



Janvier 2022

Une maladie est considérée comme rare si elle touche moins d'un individu sur 2 000. A ce jour, la littérature dénombre 7 000 maladies rares (source orphanet). Pour en faciliter la lecture, celles-ci peuvent être regroupées en 4 grandes catégories :

- les maladies auto-immunes - résultant d'un dysfonctionnement du système immunitaire qui conduit ce dernier à s'attaquer à l'organisme du patient;
- les maladies génétiques - résultant de l'altération d'un ou plusieurs gènes du patient. 80 % des maladies rares sont d'origine génétique;
- les maladies infectieuses - résultant de la transmission d'un agent pathogène;
- ou encore certains cancers - pour les tumeurs représentant moins d'1 % des cancers.

Ces maladies sont graves (peu de traitements curatifs existent), souvent chroniques et parfois évolutives. En raison du nombre important de maladies rares et de leur hétérogénéité, les causes de la grande majorité de ces maladies restent inconnues - et ce, malgré les résultats scientifiques obtenus grâce à des travaux de recherche intensifs ces 10 dernières années.

En France, les maladies rares touchent 3 millions de personnes dont une majorité d'enfants. Cette valeur est à prendre avec précaution car un grand nombre de malades n'est pas diagnostiqué. En raison du manque de connaissances médicales et scientifiques, les personnes souffrant de maladies rares éprouvent des difficultés quant à l'obtention d'un diagnostic, l'accès à l'information scientifique et l'orientation vers des professionnels de santé compétents.

Pour ces raisons, nous (équipe Sci-dip) publions aujourd'hui un numéro spécial maladies rares. Nos deux objectifs sont 1) de mettre en lumière une série de travaux scientifiques portant sur plusieurs maladies et 2) de permettre aux patients et aux professionnels de santé d'accéder aux dernières avancées scientifiques mises en avant par ces travaux.

Il nous paraissait également important de mettre en lumière le travail de l'association **carry on** (<https://carry-on.u-bordeaux.fr/>). Elle propose dans le cadre du projet de recherche EMELCARA, porté par le **Pr Eric DUGAS** et financé par le Fond Social Européen (FSE), des ressources et des dispositifs de médiation pour faciliter l'accompagnement et l'inclusion des collégiens, lycéens et étudiants atteints de cancer ou d'une maladie rare.

Nous remercions **Camille Rongier**, doctorante en génétique, (*c.elegans* comme modèle de recherche pour les maladies rares), le **Dr Van-Gils** (syndrome de Rubinstein-Taybi), le **Pr Goizet** (dégénérescences spinocérébelleuses), le **Dr Lasserre** (BPAN), le **Pr Javerzat** (albinisme), le **Pr Rigother** (syndrome néphrotique), **Pr Rigother** et **Dr Pfirmann** (sclérose tubéreuse de Bourneville), le **Dr Zysman** (emphysème pulmonaire) et le **Dr Bouzier-Sore** (hypoxie-ischémie du nouveau-né) pour la réécriture de leurs travaux de recherche afin de les rendre accessibles au plus grand nombre.

Ce numéro a vu le jour grâce au travail exceptionnel de **Camille Rongier** dans le cadre de ses travaux associatifs au sein de l'Association des Doctorants et des Docteurs en Biologie de Bordeaux (2D2B), en qualité de présidente. A l'instar de l'équipe Sci-dip, Camille est animée par la conviction que les connaissances en matière de santé doivent être accessibles à toutes et à tous. Nous la remercions pour son implication sans faille et pour son rôle crucial dans la genèse de ce numéro.

## Articles

- Article #1 - Camille RONGIER
- Article #2 - Pr GOIZET
- Article #3 -Pr JAVERZAT
- Article #4 - Dr LASSERRE
- Article #5 - Dr BOUZIER-SORE
- Article #6 - Dr VAN-GILS
- Article #7 - Dr ZYSMAN
- Article #8 - Pr RIGOTHIER
- Article #9 - Pr RIGOTHIER et Dr PFIRMANN

## Présentation 2D2B

## Présentation Sci-dip

# Utilisation du nématode *C.elegans* (ver) dans l'étude de pathologies humaines (dont la dystrophie musculaire)

Camille RONGIER, INSERM U1212, Bordeaux

## Résumé

L'idée de cet article est de vous dévoiler le type de recherche menée en France avec un modèle animal peu connu du grand public : ver *C.elegans*. Ce dernier est utilisé comme modèle car : d'une part, son génome est parfaitement connu, et d'autre part, il est possible de faire des parallèles entre les gènes humains et ceux du nématode, autrement dit le ver. Par ailleurs, les thèmes abordés dans cet article seront le modèle d'étude *C.elegans*, son importance dans l'étude de certaines pathologies humaines ainsi que l'épissage alternatif.

## Le ver *C.elegans*

*C.elegans* est un ver vivant naturellement dans les sols. En 1974, Dr BRENNER, un généticien, a décidé de cultiver une souche sauvage en laboratoire, qui est aujourd'hui considérée comme la souche de référence. Dans le laboratoire, il est cultivé sur un milieu de culture gélatinifié où il se nourrit de bactéries *Escherichia Coli*. Le ver est utilisé comme modèle d'étude car il possède de très nombreuses caractéristiques que je vais vous présenter de façon non-exhaustive.

- > L'entretien de ces vers est très peu onéreux.
- > Il a un cycle de vie très court, environ trois jours et demi pour passer du stade embryonnaire au stade adulte à 20°C (figure A), ce qui permet de toujours avoir un stock de vers.
- > Il s'agit d'un ver ultra résistant par rapport à d'autres modèles utilisés en recherche tels que la cellule humaine ou encore les plantes. Cette résistance est en partie due à sa capacité de se mettre dans un état d'arrêt appelé *dauer* lorsque l'environnement devient hostile notamment par manque de nourriture. Il peut survivre dans cet état alternatif jusqu'à 4 mois.
- > Un des avantages les plus importants de ce modèle est que chaque division cellulaire est parfaitement cartographiée, c'est-à-dire : que le devenir de chaque cellule embryonnaire est connue de même que la localisation des cellules. De plus, le nombre de cellules est invariable d'un individu à l'autre, ce qui confère à ce modèle une certaine robustesse.
- > Pour clôturer cette liste que je rappelle être non-exhaustive, il s'agit d'un modèle inoffensif pour l'homme car *C.elegans* n'est pas un parasite et n'a pas la capacité de proliférer à la température du corps humain (37°C).

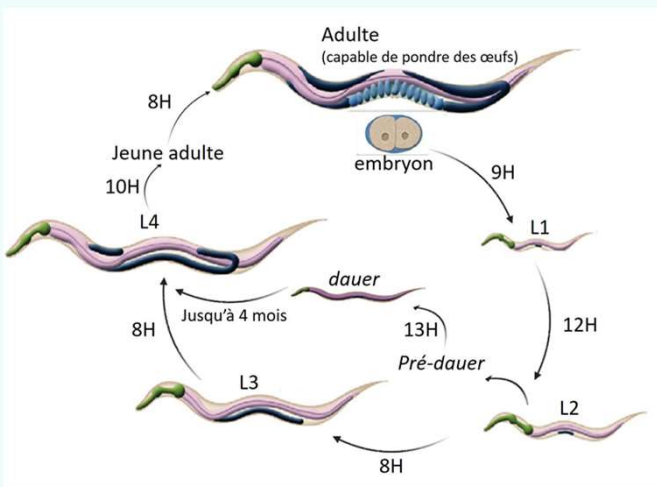


FIGURE A : Cycle de vie de *C.Elegans*. En noir est présentée la durée de chaque stade.

## L'épissage alternatif

L'Homme possède environ 23 000 gènes codant pour approximativement 2 millions de protéines différentes. L'épissage alternatif est un processus biologique visant à augmenter la diversité protéique.

Pour bien comprendre, reprenons au départ, au niveau de l'ADN se situant dans le noyau de la cellule. La molécule d'ADN, support de l'information génétique, est une double hélice constituée de bases azotées nommées Adénine, Thymine, Guanine et

Cytosine. Cette molécule subit une première étape - la transcription - qui permet la synthèse d'ARN pré-messager. Cet ARN est constitué de régions codantes et non codantes nommées respectivement exons et introns. Il faut alors éliminer les introns afin de ne garder que les exons qui sont les régions codantes. Cette deuxième étape est l'épissage. Un même ARN pré-messager peut être épissé de façon différente et donc générer des transcrits d'ARN messagers différents. Ce qui est primordial de savoir c'est que chaque ARN messager engendre - code (en biologie) - une protéine ayant une fonction spécifique via le mécanisme de traduction (figure B). Prenons l'exemple du bâtiment pour illustrer la figure B. L'ARN messager 1 a codé la protéine 1 qui a pour fonction la construction d'un mur. L'ARN messager 2 a codé la protéine 2 qui a pour fonction la destruction d'une partie du mur en cas de malfaçons. Pour terminer, l'ARN messager 3 a codé la protéine 3 qui a pour fonction la coloration du mur. Revenons à la biologie dans une cellule humaine : la protéine 1 a une fonction de structures, qui permet à la cellule de maintenir son organisation dans l'espace. La protéine 2 est une protéine de transport, qui assure le transfert des différentes molécules à l'intérieur et à l'extérieur des cellules. Et la protéine 3 possède quant à elle une fonction immunitaire.

Cet exemple démontre bien l'importance du phénomène d'épissage ainsi que son intérêt dans la diversité protéique.

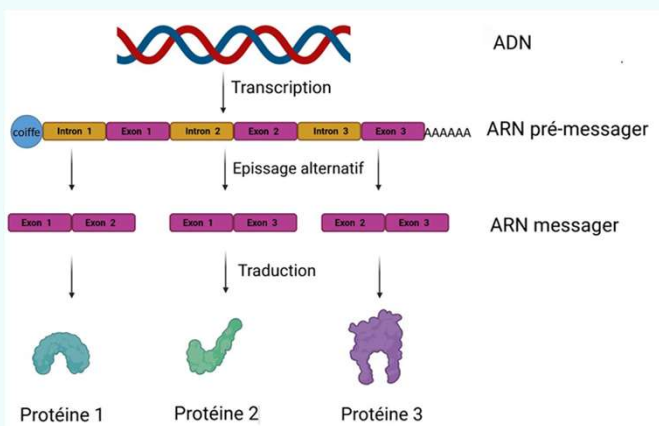


FIGURE B : **Épissage alternatif**. La molécule d'ADN contenue dans le noyau de la cellule est transcrite en ARN pré-messager. Celui-ci est épissé en différents ARN messagers conduisant à la traduction de plusieurs protéines aux fonctions spécifiques. L'épissage alternatif permet une importante diversité protéique à partir d'un seul ARN pré-messager.

## Le ver comme outil de compréhension des pathologies humaines

Chez le nématode, il y a 20 000 gènes codants pour approximativement 27 000 protéines. Il se trouve que 60 à 80% des gènes humains ont un orthologue, c'est-à-dire, un gène similaire dans le génome de *C.elegans* (Kaletta and Hengartner, 2006). De plus, 40% des gènes connus pour être associés à des maladies humaines (dont la dystrophie) ont des orthologues clairement définis dans le génome de *C.elegans* (Culetto, 2000). Toujours en lien avec les maladies humaines, une estimation d'au moins 15 % des maladies héréditaires humaines sont causées par des défauts du traitement post-transcriptionnels (Cáceres and Kornblihtt, 2002).

Dans le cas de la dystrophie musculaire, il y a une atteinte neuromusculaire résultant de la mutation d'un ou de plusieurs gènes destinés à assurer les fonctions et structures musculaires. Chez *C.elegans*, il existe un phénotype similaire appelé *unc* (uncoordinated). Il a été démontré que la protéine SUP-12 a la fonction de se fixer à l'ARN pré-messager et qu'elle est impliquée entre autre dans l'épissage alternatif du gène *unc-60*. SUP-12 est exprimée dans les muscles du ver. En cas de défaut de SUP-12, ses ARN pré-messagers cibles ne sont pas correctement épissés, ce qui engendre une atteinte musculaire chez le ver. Il se trouve que la protéine SUP-12 possède 2 orthologues chez l'Humain. Il est donc possible d'étudier chez le ver les mécanismes moléculaires mis en jeu dans la dystrophie musculaire. L'objectif de nos travaux de recherche est de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans l'optique, demain, d'aboutir à la mise au point de traitements.

Ces similitudes avec le genre humain font de *C.elegans* un modèle solide dans l'étude et la modélisation de maladies humaines telle que la dystrophie musculaire.

## Références

- Cáceres JF, Kornblihtt AR. Alternative splicing: multiple control mechanisms and involvement in human disease. Trends Genet. 2002 Apr;18(4):186-93. doi: 10.1016/s0168-9525(01)02626-9. PMID: 11932019.
- Culetto E, Sattelle DB. A role for *Caenorhabditis elegans* in understanding the function and interactions of human disease genes. Hum Mol Genet. 2000 Apr 12;9(6):869-77. doi: 10.1093/hmg/9.6.869. PMID: 10767309.
- Kaletta T, Hengartner MO. Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism. Nat Rev Drug Discov. 2006 May;5(5):387-98. doi: 10.1038/nrd2031. PMID: 16672925.

# Les dégénérescences spinocérébelleuses

Pr GOIZET, INCIA CNRS UMR5287, Service de Génétique médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux

Les dégénérescences spinocérébelleuses (DSC) constituent un groupe extrêmement hétérogène de maladies neurologiques héréditaires. Elles conduisent à des symptômes cliniques variables d'aggravation lentement progressive (atteinte dite dégénérative) et irréversible du fait de l'absence de traitement préventif ou curatif. Ces symptômes vont aboutir à un handicap, lui aussi d'aggravation progressive, très largement dominé par les troubles moteurs, donc visibles de l'extérieur, mais aussi parfois associé à d'autres déficiences également sources de handicap : déficit visuel, auditif, cognitif ou comportemental.

Les DSC se caractérisent sur le plan clinique par des signes pyramidaux (atteinte des voies motrices centrales dans le cerveau et la moelle épinière engendrant une raideur musculaire ou spasticité [résistance involontaire à un mouvement imposé] et une faiblesse musculaire) et signes cérébelleux (atteinte du cervelet engendrant des troubles de l'équilibre et des troubles de la coordination des mouvements). Trois principaux sous-groupes de DSC sont ainsi distingués sur des critères cliniques :

- Les paraplégies spastiques héréditaires (PSH) lorsque l'atteinte dégénérative prédomine sur le 1er motoneurone (ou motoneurone central, celui-ci se trouve localisé dans le lobe frontal du cerveau et envoie ses projections dans la moelle épinière),
- Les ataxies cérébelleuses héréditaires (ACH), lorsque l'atteinte prédomine sur le cervelet
- Les ataxies spastiques héréditaires (ASH), lorsque les atteintes du 1er motoneurone et du cervelet sont globalement équivalentes.

La transmission de ces différentes formes de DSC peut se faire suivant tous les modes héréditaires : autosomique dominant ou récessif, lié à l'X, ou encore transmission maternelle en lien avec une mutation de l'ADN mitochondrial.

Il est difficile d'identifier précisément les causes des DSC. Les entités composant ce très vaste groupe présentent une grande variabilité d'expression et des chevauchements cliniques, paracliniques et physiopathologiques considérables. Plusieurs voies physiopathologiques communes conduisant à la neurodégénérescence ont été identifiées dans les DSC.

## ASPECTS CLINIQUES DES DSC

En fonction de l'importance de l'atteinte pyramidale et cérébelleuse, les signes et symptômes en découlant vont être plus ou moins sévères. C'est la présence et l'importance des divers signes et symptômes chez une personne malade qui permet de distinguer les 3 sous-groupes des DSC.

### Ataxies cérébelleuses (ACH)

Les ACH, dont la prévalence est faible – de l'ordre de 2 à 5/100 000 –, résultent du dysfonctionnement et de la dégénérescence, à des degrés variables, de structures impliquées dans la coordination des mouvements : le cortex cérébelleux, les noyaux profonds du cervelet, le tronc cérébral, les faisceaux spinocérébelleux et sensitifs spinaux. Les ACH regroupent aujourd'hui plus de 300 entités différentes. L'âge de début est très variable avec néanmoins une très grande proportion de malades dont les 1ers symptômes débentent dans l'enfance ou l'adolescence, en tout cas le plus souvent avant l'âge de 35 ans. Le syndrome cérébelleux correspond à des troubles de la coordination des mouvements engendrant une marche instable, des difficultés d'élocution (ou ataxie statique) et une incoordination des membres (ou ataxie cinétique). Les réflexes ostéo-tendineux sont pendulaires (après la contraction réflexe liée au choc, le muscle se contracte plusieurs fois avant d'être en repos stable). Ces éléments cliniques peuvent être associés à d'autres signes et symptômes, parfois extra-neurologiques. Une atrophie du cervelet est volontiers visualisée sur une Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) cérébrale. La prise en charge thérapeutique est limitée aux traitements symptomatiques (NB: traitant les symptômes et non la pathologie), principalement la kinésithérapie et l'orthophonie.

### Paraplégies spastiques héréditaires (PSH)

La prévalence des PSH chez les caucasiens est faible, estimée entre 1,3 et 9,6 cas /100 000 habitants. Les PSH sont dues à une dégénérescence distale rétrograde et bilatérale des faisceaux cortico-spinaux (pyramidaux) croisés et, à moindre degré, des faisceaux cortico-spinaux directs. Le tableau clinique est dominé par un syndrome pyramidal progressif des membres inférieurs, avec au premier plan une marche spastique, une hypertonie musculaire et une faiblesse musculaire. L'âge de début est extrêmement variable allant de la période néonatale pour les formes les plus précoces à après 70 ans pour les plus tardives.

Le diagnostic de PSH pure repose sur la présence :

- de symptômes et de signes cliniques d'une faiblesse spastique des membres inférieurs, bilatérale et symétrique, d'évolution lentement progressive (mais avec une très grande variabilité d'un individu à l'autre), volontiers associés à des troubles sphinctériens (mictions impérieuses, fuites urinaires) et à des paresthésies des membres inférieurs;

- de signes neurologiques témoignant d'une atteinte du faisceau cortico-spinal limités aux membres inférieurs (spasticité, déficit moteur, hyperréflexie ostéotendineuse et un réflexe cutané plantaire en extension). Les réflexes aux membres supérieurs peuvent être vifs mais le tonus est normal ;
- d'une histoire familiale positive et / ou après l'exclusion des diagnostics différentiels.

En plus de ces éléments, les formes complexes de PSH se singularisent par l'association d'autres symptômes et signes neurologiques ou extra neurologiques.

Il existe une grande hétérogénéité génétique dans les PSH, puisque environ 100 gènes sont actuellement connus dans leur déterminisme. Comme beaucoup de maladies neurodégénératives, les PSH ne disposent d'aucun traitement spécifique. La prise en charge thérapeutique est limitée aux traitements symptomatiques et repose principalement sur les médicaments anti-spasticité et la kinésithérapie.

### Ataxies spastiques (ASH)

Les ASH sont des affections dégénératives associant une PSH et une ataxie d'intensité similaire. Ce sous-groupe de DSC est actuellement en plein développement grâce aux progrès récents de nos connaissances. Si l'hétérogénéité génétique est une nouvelle fois importante, deux entités apparaissent beaucoup plus fréquentes que les autres : la maladie de Friedreich causée par les mutations du gène FRDA, qui correspond à la plus fréquente des ASH et l'ataxie spastique récessive autosomique de Charlevoix-Saguenay causée par les mutations de SACS, qui est la 2ème forme la plus fréquente.

## ASPECTS PHYSIOPATHOLOGIQUES DES DSC

L'identification des gènes responsables des DSC et donc des protéines impliquées a permis de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques induisant la dégénérescence neuronale. Il apparaît que l'altération de différents processus moléculaires, pourtant assez éloignés a priori, peut aboutir à une neurodégénérescence relativement sélective. Plusieurs mécanismes physiopathologiques différents non exclusifs ont été progressivement décrits : développement axonal anormal (NB : l'axone est une fibre nerveuse permettant aux neurones de transmettre des signaux), altération du trafic intra-cellulaire, dysfonction mitochondriale, métabolisme anormal des lipides complexes, anomalies de réparation de l'ADN, etc.

Les projets de recherche de notre laboratoire sur les DSC reposent sur l'étude des bases cliniques, génétiques et physiopathologiques des entités pour lesquelles des anomalies du métabolisme mitochondrial, directes ou indirectes, sont suspectées ou prouvées afin de déterminer de nouvelles cibles thérapeutiques et proposer à moyen terme des essais thérapeutiques spécifiques. En effet, les mitochondries sont des organelles intra-cytoplasmiques qui permettent, entre autres, la production d'énergie sous forme d'ATP, utilisable dans la cellule pour tout processus physiologique. Les mitochondries sont donc les véritables centrales énergétiques des cellules. La morphologie des mitochondries est hautement dynamique, se modifiant perpétuellement suivant l'état physiologique de la cellule (apport en nutriments, hypoxie...). On peut distinguer trois états différents d'organisation morphologique mitochondriale :

- un état fusionné tubulaire,
- un état intermédiaire
- un état fissionné ou fragmenté.

L'étude du métabolisme énergétique a connu un essor remarquable au cours des quinze dernières années, tant sur le plan fondamental que pour son lien avec la médecine ou l'industrie pharmaceutique. En dépit des importantes avancées récentes dans le domaine de la biologie mitochondriale et dans la régulation multisites du métabolisme énergétique, il n'existe pas de médicaments actifs sur les mitochondries.

## CONCLUSION

Les DSC sont des maladies neurodégénératives graves à l'origine d'un handicap moteur, visible de l'extérieur et devenant progressivement invalidant au cours de l'évolution. Il n'existe malheureusement pas de traitement préventif ou curatif à l'heure actuelle et seule l'étude approfondie des mécanismes physiopathologiques impliqués dans chaque entité permettra d'envisager un jour des traitements spécifiques efficaces. Nous nous intéressons aux anomalies mitochondriales directes ou indirectes dans les DSC car le métabolisme énergétique revêt une importance majeure dans le fonctionnement normal des cellules constituant le système nerveux. Ces anomalies constituent une cible privilégiée pour développer de futurs traitements dans le domaine.

# Références

## L'albinisme, une maladie pas comme les autres

Pr JAVERZAT, INSERM U1211, Bordeaux

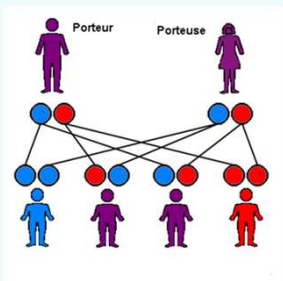
Et oui, l'albinisme est une maladie! L'absence de pigmentation des cheveux, des poils et de la peau, qui n'est pas toujours flagrante chez un albinos (Figure 1) pourrait sembler anecdotique. En réalité, elle est systématiquement accompagnée d'un handicap visuel souvent conséquent, et parfois de pathologies connexes très graves voire fatales, comme des troubles de la coagulation, ainsi qu'un risque surélevé de cancer de la peau.



**Figure 1 :** Spectre de phénotype chez les patients atteints d'albinisme, d'après (1). Chez certains patients, on ne décèle pas d'hypopigmentation cutanéophanéarienne.

L'albinisme est d'origine génétique, il touche environ une personne sur 17000 à l'échelle mondiale. Dans certains pays d'Afrique, comme la Tanzanie, cette fréquence est décuplée. Les conséquences en sont d'autant plus terribles que l'exposition au soleil dès l'enfance rend la prévention de tumeurs cutanées impossible. D'autre part, malgré de nombreuses initiatives politiques et humanitaires, on voit encore aujourd'hui des albinos victimes de mutilations atroces ainsi que de crimes incités par certaines croyances tribales.

Revenons à la génétique. L'albinisme est une maladie dite monogénique à transmission le plus souvent autosomale récessive. Cela signifie que les parents d'un enfant albinos, qui sont eux-mêmes sains, ont un risque de 25% d'avoir un enfant atteint (Figure 2). En effet, dans un tel trio, les parents sont tous deux dits porteurs sains car chez eux, même si l'une des deux versions (allèles) du gène incriminé est altérée, l'autre est fonctionnelle et suffit à produire du pigment en quantité et qualité suffisante. Ils ont cependant chacun, un risque de 50% de transmettre à leur enfant la version défectueuse du gène, et si cela se produit pour l'un et l'autre, alors l'enfant sera malade car il n'aura pas reçu de version fonctionnelle du gène. Ce risque que l'enfant reçoive les allèles défectueux de son père et de sa mère a donc une probabilité de 25%.



**Figure 2 :** Probabilité pour un enfant d'être malade lorsque les deux parents sont porteurs sains. En bleu l'allèle fonctionnel, en rouge l'allèle pathogène, d'après (2).

L'an dernier, notre laboratoire a identifié 2 nouveaux gènes dont la perte de fonction provoque un albinisme, portant ainsi à 21 le nombre total de gènes connus pour cette pathologie. Prenons l'exemple d'un de ces deux nouveaux gènes dont l'acronyme est *DCT*. Comment ce nouveau gène d'albinisme a-t-il été découvert (3) et quel est l'intérêt de cette découverte ?

Nous sommes partis de patients (environ 200) recensés par le service de diagnostic génétique hospitalier, pour lesquels aucune altération dans les gènes connus n'avait pu être détectée. Une partie de leur génome a été séquencé, en ciblant l'analyse sur des gènes dit candidats - c'est à dire dont l'implication dans le contexte de la pigmentation était déjà suggérée par des études, chez l'animal par exemple, mais qui n'avaient pas encore été identifiés chez des patients atteints d'albinisme. Chez 2 patientes présentant le profil ophtalmologique typique des albinos mais pas d'hypopigmentation générale marquée, des altérations de séquence ont ainsi été trouvées dans les deux allèles du gène *DCT*. Nous avons alors conduit des essais de modélisation de la perte de fonction de *DCT* dans des modèles animaux comme l'embryon de poisson zèbre (*Danio rerio*) et la souris. Nous avons ainsi créé des lignées de souris génétiquement modifiées qui présentent les mêmes altérations génétiques que celles détectées chez nos patientes. Comme les patientes, ces souris présentent une hypopigmentation générale peu marquée contrastant avec celle de leurs rétines significativement dépourvues de mélanine.

L'étude détaillée du développement oculaire de ces souris a deux objectifs : mieux comprendre la maladie, mais également découvrir des mécanismes non encore élucidés qui relient la synthèse de pigment (ou mélanogénèse) à la maturation de la rétine neurale, essentielle à la vision. Ces processus sont fascinants. Même si les rétines des souris et de l'Homme comportent des différences (par exemple, seule la rétine humaine comporte une fovéa - zone permettant une vision de précision), les mécanismes moléculaires qui assurent la biosynthèse du pigment d'une part, et régissent le développement d'autre part, sont en grande partie communs. La comparaison de notre modèle avec la souris blanche (albinos) classique d'une part, et la souris de référence pigmentée d'autre part, permettra de mettre en évidence les dénominateurs moléculaires communs qui entraînent des défauts rétinien chez les modèles d'albinisme. Cette étude ouvre la voie vers de possibles pistes thérapeutiques tant attendues par les familles de patients.

L'association Genespoir est un acteur majeur pour ces projets (4). Elle fédère un élan collectif et suscite un enthousiasme des familles pour la recherche. Elle organise des rencontres entre patients et chercheurs, des conférences permettant de faire le point sur les dernières avancées et apporte un soutien financier essentiel aux projets. Nos travaux passés et nos projets en cours ont ainsi récemment fait l'objet d'une conférence grand public donnée par le Pr. Benoît Arveiler qui dirige notre groupe de recherches diagnostiques et fonctionnelles (5).

## Références

- 1- Arveiler et al. 2017 : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0755498217302580?via%3Dihub>
- 2 - <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1027705>
- 3 - Pennamen, Tingaud-Sequeira A, Gazova I, Keighren M, McKie L, Marlin S, Gherbi Halem S, Kaplan J, Delevoye C, Lacombe D, Plaisant C, Michaud V, Lasseaux E, Javerzat S, Jackson I, Arveiler B. Dopachrome tautomerase variants in patients with oculocutaneous albinism. Genet Med. 2021 Mar;23(3):479-487. doi: 10.1038/s41436-020-00997-8. Epub 2020 Oct 26. PMID: 33100333.
- 4 - <https://www.genespoir.org/page/1329134-accueil>
- 5 - <https://www.youtube.com/watch?v=o-i2GuQQoaxg>

# La levure *Saccharomyces cerevisiae* utilisée comme outil et modèle dans la pathologie du BPAN

Dr LASSERRE, INCIA CNRS UMR5287, Bordeaux, Dr DURAND, Dr COUPRY, Pr GOIZET, Pr STEVANIN, Dr FERGELOT

## INTRODUCTION

Le BPAN est une pathologie rare neurodégénérative d'origine génétique causée par des mutations dans le gène WDR45. Elle appartient à la famille des NBIA autrement dit, des neurodégénérescences avec accumulation intracérébrale de fer. Cette maladie se manifeste chez l'enfant par un retard de développement et un déficit intellectuel, des crises d'épilepsie, des troubles du langage et des dysfonctionnements moteurs (bras et jambes). Il n'existe à ce jour aucun traitement. Le diagnostic est posé sur la base des symptômes cliniques, de l'imagerie cérébrale et des analyses génétiques qui mettent en évidence les mutations du gène WDR45. Cependant, il est quelquefois difficile de se prononcer sur la pathogénicité de certaines mutations, c'est-à-dire de savoir si la mutation trouvée est réellement responsable de la maladie. On parle de VSI (Variants de signification inconnue).

Pour répondre à cette question et aider au diagnostic de la maladie, mais également pour mieux comprendre les mécanismes pathologiques à l'origine du BPAN afin de proposer de nouveaux traitements, il est crucial de disposer d'un modèle d'étude simple de la maladie.

Pour ce faire, la bien connue levure du boulanger (*Saccharomyces cerevisiae* sous son appellation scientifique) est une bonne candidate. Bien qu'il s'agisse d'un organisme physiologiquement éloigné de l'Homme, ce petit champignon constitué d'une seule cellule, a déjà amélioré notre compréhension de certaines pathologies<sup>1</sup>, y compris celles affectant le système nerveux. La conservation des gènes entre la levure et l'humain permet notamment de transposer l'étude de certaines pathologies humaines sur un modèle de levure. C'est le cas du BPAN, pour lequel le gène humain WDR45 à un homologue chez la levure *S. cerevisiae* (ATG18). De plus, il s'agit d'un organisme facile à cultiver en grandes quantités, peu coûteux, et grâce auquel on peut tester rapidement l'effet de potentiels médicaments.

## OBJECTIFS

Le projet du laboratoire (financé par l'association Autour du BPAN et la Fondation Maladies Rares) doit répondre aux objectifs suivants :

- Définir parmi les mutations trouvées chez les patients celles qui sont pathogènes ;
- Trouver de nouvelles molécules ayant un intérêt thérapeutique pour la pathologie en réalisant un repositionnement de molécules possédant une autorisation de mise sur le marché (AMM), c'est-à-dire des molécules déjà utilisées dans des traitements pour d'autres maladies ;
- Mieux comprendre les dysfonctionnements cellulaires liés à la perte de fonction de WDR45, en particulier les anomalies de l'autophagie/mitophagie, processus cellulaire qui permet le recyclage de déchets et de tout ce qui dysfonctionne dans une cellule.

## PRINCIPAUX RESULTATS

Les travaux de recherche de l'équipe ont permis tout d'abord de créer un modèle de levure qui reproduit certains dysfonctionnements observés dans le BPAN (anomalies de croissance). Sur ce modèle, il a pu être testé plus de 1500 molécules parmi lesquelles 21 (soit environ 1,3%) améliorent les anomalies constatées chez la levure (Les résultats indiquent que ces 21 composés ont des efficacités différentes (amélioration partielle ou totale des anomalies)). Seuls les candidats les plus prometteurs pourront potentiellement être testés chez les patients atteints du BPAN. À cette fin, le composé doit respecter les critères suivants :

- être administrable oralement ;

- pouvoir être administré de manière chronique sans toxicité ;
- être biodisponible ;
- être peu toxique notamment pour les organes déjà touchés dans cette maladie. Pour ces travaux, la consultation d'un pharmacologue est nécessaire.

Suite à ces travaux approfondis, seules une dizaine de molécules (sur les 21 initiales) ont un fort potentiel pour traiter cette pathologie. A savoir qu'elles ont une action directe sur la mitochondrie (la mitochondrie est une petite structure qui produit l'énergie de notre corps et qui est atteinte dans cette pathologie) et/ou sur le fer (le fer s'accumule dans les cellules atteintes) et sont administrables par voie orale. L'action de ces composés doit alors être confirmée de manière individuelle avant que ces molécules puissent être testées sur des modèles plus proches de l'Homme, tels que la souris ou des cellules de patients.

En ce qui concerne l'aide au diagnostic, nous avons montré, pour la première fois, que le gène de la levure (ATG18) pouvait être remplacé par le gène humain (WDR45). Ce résultat signifie que la protéine humaine et la protéine de levure sont des homologues fonctionnels (elles ont le même rôle au sein de la cellule). Actuellement, nous introduisons dans la levure BPAN le gène humain normal ou portant des mutations trouvées chez les patients. Nous testons plusieurs types de mutations pour identifier celles qui sont pathogènes. L'introduction du gène humain normal permet de restaurer une croissance normale de la levure BPAN. Par conséquent, si le gène muté a les mêmes effets, alors la mutation est considérée comme probablement non pathogène. A l'inverse, si le gène muté n'améliore pas les anomalies de croissance, c'est que la mutation peut être considérée comme pathogène, et un diagnostic de BPAN peut être confirmé.

Pour les processus d'autophagie/mitophagie, nos travaux ont montré que les levures modélisant la pathologie avaient bien un défaut dans le fonctionnement de ces processus. Dans une prochaine étape, nous allons étudier plus finement les mécanismes moléculaires associés à ces dysfonctionnements et les potentielles vertus "réparatrices" des molécules thérapeutiques pré-identifiées.

## CONCLUSIONS

L'ensemble de ces résultats permet de poser les bases de nouveaux projets de recherche dont les grandes lignes sont les suivantes :

- Compréhension des mécanismes moléculaires du mutant de levure ;
- Détermination de la pathogénicité des VSI ;
- Etude des effets cellulaires des molécules trouvées pour identifier de nouvelles cibles thérapeutiques ;
- Validation des cibles sur les cellules de patients.

Comme évoqué en introduction, le BPAN appartient à la famille de maladies appelée NBIA. Il est important de savoir que certaines de ces pathologies ne sont pas modélisables chez la levure car le gène humain impacté n'a pas d'équivalent chez la levure. Il est donc extrêmement difficile d'effectuer des travaux similaires à ceux présentés dans cet article pour tous les gènes de NBIA (10 au minimum). Toutefois, la proximité des symptômes entre les différentes NBIA, nous laisse penser que les molécules efficaces pour traiter le BPAN pourraient être des candidates thérapeutiques aux autres pathologies de la famille.

Remerciements : Ce travail a été soutenu par l'association Autour du BPAN et la Fondation des maladies rares.

## Références

- 1- Lasserre, J.-P. *et al.* Yeast as a system for modeling mitochondrial disease mechanisms and discovering therapies. *Dis Model Mech* 2015 Jun;8(6):509-26. doi: 10.1242/dmm.020438.

# Le lactate : une piste dans le traitement de l'hypoxie-ischémie du nouveau-né ?

Dr BOUZIER-SORE, CNRS UMR5536, Bordeaux

Bien qu'étant une des premières causes de mortalité et de lourds handicaps du nouveau-né, l'hypoxie-ischémie néonatale (cordon autour du cou, etc ...) est considérée comme une maladie rare (ORPHA:137577), pour laquelle aucun traitement pharmacologique n'existe. Des données récentes obtenues chez le raton indiquent que l'injection de lactate (considéré par beaucoup comme un déchet de l'organisme et un signe de mauvais pronostic en clinique) permet de réduire les lésions cérébrales après un accident d'hypoxie-ischémie néonatale. Grâce à l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), technique non invasive, un suivi longitudinal des lésions cérébrales a été possible et a permis de montrer une diminution importante des volumes lésionnels. Cela a également permis de réaliser des tests de comportement sur les mêmes animaux et de mettre en évidence une récupération fonctionnelle (motrice et cognitive) en parallèle<sup>1</sup>.

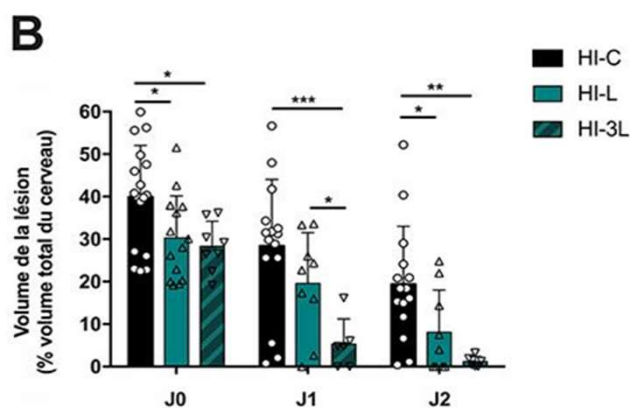
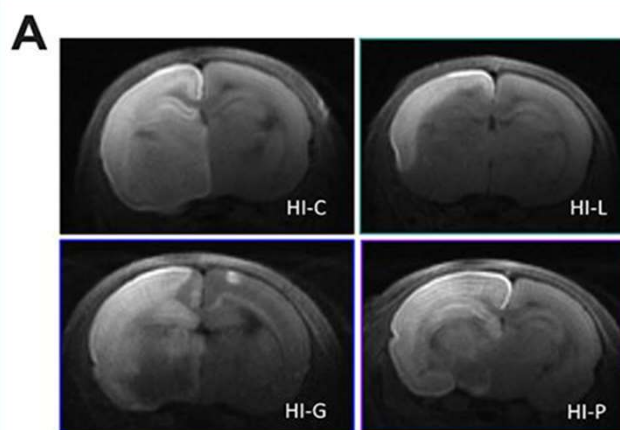
Si le cerveau ne représente que 2% du poids total du corps humain, il consomme un quart de l'énergie totale de l'organisme sous forme de glucose. Les cellules les plus « énergivores » sont les neurones, et ce sont les cellules qui attirent le plus d'attention puisqu'elles sont à l'origine de l'activité cérébrale. Les cellules gliales, dont font partie les astrocytes, ont également un rôle capital à jouer dans le cerveau. En 1994, Pellerin et Magistretti ont proposé que le glucose, principale source d'énergie du cerveau, est en partie capté par les astrocytes où il serait transformé en lactate lors de l'activation cérébrale puis transféré aux neurones. Ce lactate y serait alors utilisé comme substrat oxydatif pour fournir un supplément d'énergie. Cet échange métabolique entre neurones et astrocytes fut appelé ANLSH (Astrocyte-Neuron Lactate Shuttle Hypothesis)<sup>2</sup>.

Dans la longue quête visant à démontrer le rôle majeur de cette navette lactate entre astrocytes et neurones ainsi que son existence *in vivo*, les résultats de cette recherche fondamentale ont permis de fournir une nouvelle piste pour la recherche appliquée et la thérapie : si le lactate est un bon substrat énergétique pour les neurones, pourrait-il être neuroprotecteur après un accident d'hypoxie-ischémie néonatale ? L'hypothèse posée est que le lactate, administré après l'hypoxie-ischémie, et donc en condition de reperfusion, serait utilisé comme substrat énergétique préférentiel par les neurones. Le glucose serait alors « économisé » et utilisé dans la voie des pentoses phosphates, voie métabolique très importante dans la lutte contre les espèces réactives de l'oxygène (ou ROS), très délétères pour la cellule.

Cette hypothèse a été testée sur un modèle d'hypoxie-ischémie chez le raton. Un suivi longitudinal par IRM a permis de montrer que trois injections de lactate (une par jour, la première étant administrée juste après l'accident d'hypoxie-ischémie) étaient suffisantes pour réduire de façon très importante le volume de la lésion cérébrale (Figures A et B). L'efficacité de ces injections a également été testée sur le long terme sur les fonctions sensorielles, motrices et cognitives grâce à différents tests de comportement. Les résultats indiquent une récupération des fonctions évaluées, notamment la mémoire. Étonnamment, des injections de glucose ou de pyruvate (un autre substrat énergétique) ne sont pas neuroprotectrices. L'étude a aussi pu mettre en évidence que l'effet neuroprotecteur du lactate passait bien par son utilisation métabolique.

L'équipe travaille également sur une approche préventive intergénérationnelle et nutritionnelle (via une supplémentation maternelle en polyphénols à dose nutritionnelle) pour réduire les lésions causées par l'hypoxie-ischémie néonatale. Les résultats obtenus sur les ratons ayant eu un accident d'hypoxie-ischémie et dont la mère a été supplémentée, pendant la gestation et/ou la lactation, sont très prometteurs. De façon intéressante, les polyphénols moduleraient le métabolisme énergétique cérébral et notamment les gènes liés à la navette lactate<sup>3</sup>.

Ces travaux pourraient ouvrir des pistes de thérapies potentielles dans le cadre de l'hypoxie-ischémie néonatale.



Figures :

A : IRM de diffusion (4,7T, Bruker) permettant de visualiser la lésion cérébrale (hypersignal "clair" lié à l'œdème), 3 h après le début de l'hypoxie-ischémie chez le raton. L'injection de lactate (HI-L) permet de réduire le volume lésionnel (à comparer avec les animaux n'ayant pas reçu de lactate - HI-C, ou ceux ayant reçu du glucose - HI-G ou du pyruvate - HI-P).

B : Quantification des volumes lésionnels au cours des 48 h (J0, J1 et J2) qui suivent l'accident d'hypoxie-ischémie chez les animaux n'ayant reçu aucun traitement, une (HI-L) ou 3 (HI-3L, une injection par jour) injections de lactate.



Lactate Power : une BD qui illustre ces résultats : <https://www.rmsb.u-bordeaux.fr/wp-content/uploads/2020/03/lactate-BD.pdf>

## Références

- 1- Dumont U, Sanchez S, Repond C, Beauvieux MC, Chateil JF, Pellerin L, Bouzier-Sore AK, Roumes H. Neuroprotective Effect of Maternal Resveratrol Supplementation in a Rat Model of Neonatal Hypoxia-Ischemia. *Front Neurosci.* 2021 Jan 15;14:616824. doi: 10.3389/fnins.2020.616824. PMID: 33519368; PMCID: PMC7844160.
- 2- Pellerin L, Magistretti PJ. Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994 Oct 25;91(22):10625-9. doi: 10.1073/pnas.91.22.10625. PMID: 7938003; PMCID: PMC45074.
- 3- Roumes H, Dumont U, Sanchez S, Mazuel L, Blanc J, Raffard G, Chateil JF, Pellerin L, Bouzier-Sore AK. Neuroprotective role of lactate in rat neonatal hypoxia-ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2021 Feb;41(2):342-358. doi: 10.1177/0271678X20908355. Epub 2020 Mar 24. PMID: 32208801; PMCID: PMC7812521.



# Le syndrome de Rubinstein-Taybi : de la description clinique à la définition épigénétique

Dr VAN-GILS, INSERM U1211, Service de Génétique médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux

Le syndrome de Rubinstein-Taybi (SRT), anciennement appelé syndrome des pouces et hallux larges, est une anomalie génétique rare du neurodéveloppement dont l'incidence est actuellement estimée entre 1/100 000 et 1/125 000 naissances<sup>1</sup>. La transmission se fait selon un mode autosomique dominant et la survenue est sporadique par mutation *de novo* (absente chez les parents) dans la grande majorité des cas (~99%) bien que quelques cas familiaux aient été rapportés<sup>2-4</sup>.

Ce syndrome se caractérise principalement par un retard de croissance post-natal, une dysmorphie faciale caractéristique, des pouces et hallux larges associés à un déficit intellectuel<sup>5,6</sup>. Il n'y a pas de critères spécifiques mais il existe un large spectre de symptômes associé à ces signes cardinaux. De multiples malformations sont associées, notamment cardiaques, génito-urinaires, digestives, ORL et cutanées. Les patients présentent également un risque accru de développer des tumeurs bénignes<sup>1,5,7-11</sup>.

Deux gènes hautement conservés au cours de l'évolution ont été impliqués dans l'origine de la maladie :

- le gène *CREBBP* (*CAMP response element-binding protein (CREB) binding protein*) (NM\_600140) situé dans la région 16p13.3<sup>12</sup>
- le gène *EP300* (*EA1-associated protein p300*) (NM\_602700) situé en 22q13<sup>13</sup>.

Le syndrome a ainsi été subdivisé en type 1 associé à des variants pathogènes de *CREBBP* et le type 2 associé à des variants pathogènes de *EP300*. Les anomalies associées à *CREBBP* représente environ 55-75 % des cas<sup>2,12-21</sup>. A ce jour, 500 variants pathogènes dans ce gène ont été référencés comme causant le SRT de type 1<sup>22,23</sup>. Les anomalies du gène *EP300* sont responsables d'environ 8 à 11 % des cas<sup>2,13,21,24-33</sup>. A ce jour, 118 variants pathogènes dans ce gène ont été référencés comme causant le SRT de type 2<sup>22,23</sup>.

Ces deux gènes codent pour des acétyltransférases jouant un rôle majeur dans l'acétylation des histones et le remodelage de la chromatine (structure contenant l'ADN), impliqués notamment dans la plasticité neuronale et la cognition<sup>13,34</sup>. Le syndrome de Rubinstein-Taybi est un trouble du développement dont la physiopathologie repose donc principalement sur un mécanisme épigénétique, c'est-à-dire l'ensemble des mécanismes modifiant de façon réversible l'expression des gènes. Le SRT appartient ainsi au groupe des "chromatinopathies" définies comme des troubles mendéliens de la machinerie épigénétique<sup>35</sup>.

À ce jour, 82 « chromatinopathies » issues de mutations dans 70 gènes codant pour des enzymes modifiant la chromatine ont été identifiées et répertoriées<sup>35</sup>. Ces gènes codent pour :

- des "writers" responsables de l'établissement d'une marque soit sur l'ADN ou les queues d'histone
- des "erasers" responsables de la suppression ou modification des marques écrites)
- des "readers" qui médient l'interaction entre la marque et un complexe protéique pour améliorer l'expression génique
- ou des "remodelers" qui modifient l'accessibilité de la chromatine

Par ailleurs, le caractère réversible des marques épigénétiques apporte de réelles perspectives pour le traitement des chromatinopathies, notamment concernant la déficience intellectuelle. Un déficit en acétyl transférase peut ainsi être compensé par l'inhibition des protéines Histone Déacétylases (HDAC)<sup>36,37</sup>. L'approche thérapeutique par inhibiteurs d'HDAC (HDACi) semble donc particulièrement intéressante dans le SRT. Les HDACi appartiennent à différentes classes pharmacologiques :

- les acides hydroxamiques (acide hydroxamique de suberoylanilide (SAHA) et trichostatine A (TSA))
- les benzamides (tiapride ou Tiapridal®)
- et les acides carboxyliques (butyrate de sodium (NaR), phénylbutyrate et valproate de sodium)<sup>38,39</sup>.

De nombreuses études ont montré l'implication de ces traitements dans la formation de la mémoire et la stabilisation de certaines tâches hippocampiques (structure cérébrale impliquée dans le stockage et l'encodage de la mémoire) telles que le réflexe de peur conditionnée ou la reconnaissance d'objets<sup>40-42</sup>.

Ces résultats devraient être confirmés par un essai thérapeutique avec une grande cohorte de patients car les HDACi représentent une réelle perspective thérapeutique pour les patients atteints du SRT.

## Références

1. Hennekam, R. C. M. Rubinstein-Taybi syndrome. *Eur. J. Hum. Genet.* 14, 981-985 (2006).
2. Bartsch, O. et al. Inheritance and variable expression in Rubinstein-Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet. A* 152A, 2254-2261 (2010).
3. López, M. et al. First case report of inherited Rubinstein-Taybi syndrome associated with a novel EP300 variant. *BMC Med. Genet.* 17, 1-5 (2016).
4. Hennekam, R. C., Lommen, E. J., Strengers, J. L., Van Spijker, H. G. & Jansen-Kokx, T. M. Rubinstein-Taybi syndrome in a mother and son. *Eur. J. Pediatr.* 148, 439-441 (1989).
5. Rubinstein, J. H. Broad thumb-hallux (Rubinstein-Taybi) syndrome 1957-1988. *Am. J. Med. Genet.* 37, 3-16 (1990).
6. Rubinstein, J. H. & Taybi, H. Broad thumbs and toes and facial abnormalities. A possible mental retardation syndrome. *Am. J. Dis. Child.* 1960 105, 588-608 (1963).
7. Hennekam, R. C. M., Van Den Boogaard, M.-J., Sibbles, B. J. & Van Spijker, H. G. Rubinstein-Taybi syndrome in the Netherlands. *Am. J. Med. Genet.* 37, 17-29 (1990).
8. Wiley, S., Swayne, S., Rubinstein, J. H., Langhear, N. E. & Stevens, C. A. Rubinstein-Taybi syndrome medical guidelines. *Am. J. Med. Genet. A* 119A, 101-110 (2003).
9. Stevens, C. A., Carey, J. C. & Blackburn, B. L. Rubinstein-Taybi syndrome: A natural history study. *Am. J. Med. Genet.* 37, 30-37 (1990).
10. Milani, D. et al. Rubinstein-Taybi syndrome: clinical features, genetic basis, diagnosis, and management. *Ital. J. Pediatr.* 41, 4 (2015).
11. Boot, M. V. et al. Benign and malignant tumors in Rubinstein-Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet. A* 176, 597-608 (2018).
12. Petrif, F. et al. Rubinstein-Taybi syndrome caused by mutations in the transcriptional co-activator CBP. *Nature* 376, 348-351 (1995).
13. Roelfsema, J. H. et al. Genetic Heterogeneity in Rubinstein-Taybi Syndrome: Mutations in Both the CBP and EP300 Genes Cause Disease. *Am. J. Hum. Genet.* 76, 572-580 (2005).
14. Pérez-Grijalba, V. et al. New insights into genetic variant spectrum and genotype-phenotype correlations of Rubinstein-Taybi syndrome in 39 CREBBP-positive patients. *Mol. Genet. Genomic Med.* 7, e972 (2019).
15. Naik, J. M., Naik, M. N. & Ali, M. J. Lacrimal drainage anomalies in Rubinstein-Taybi syndrome: case report and review of literature. *Orbit* 38, 335-337 (2019).
16. Bartsch, O. et al. DNA sequencing of CREBBP demonstrates mutations in 56% of patients with Rubinstein-Taybi syndrome (RSTS) and in another patient with incomplete RSTS. *Hum. Genet.* 117, 485-493 (2005).
17. Kalkhoven, E. et al. Loss of CBP acetyltransferase activity by PHD finger mutations in Rubinstein-Taybi syndrome. *Hum. Mol. Genet.* 12, 441-450 (2003).
18. Coupry, I. et al. Molecular analysis of the CBP gene in 60 patients with Rubinstein-Taybi syndrome. *J. Med. Genet.* 39, 415-421 (2002).
19. Murata, T. et al. Defect of histone acetyltransferase activity of the nuclear transcriptional coactivator CBP in Rubinstein-Taybi syndrome. *Hum. Mol. Genet.* 10, 1071-1076 (2001).
20. Udaka, T. et al. Comprehensive screening of CREB-binding protein gene mutations among patients with Rubinstein-Taybi syndrome using denaturing high-performance liquid chromatography. *Congenit. Anom.* 45, 125-131 (2005).
21. Cross, E. et al. Screening of a large Rubinstein-Taybi cohort identified many novel variants and emphasizes the importance of the CREBBP histone acetyltransferase domain. *Am. J. Med. Genet. A* 182, 2508-2520 (2020).
22. Base HGMD <https://portal.biobase-international.com/hgmd/pro/start.php>.
23. Home - LOVD - An Open Source DNA variation database system. <http://www.lovd.nl/3.0/home>.
24. Fergelot Patricia et al. Phenotype and genotype in 52 patients with Rubinstein-Taybi syndrome caused by EP300 mutations. *Am. J. Med. Genet. A* 170, 3069-3082 (2016).
25. Bartholdi, D. et al. Genetic heterogeneity in Rubinstein-Taybi syndrome: delineation of the phenotype of the first patients carrying mutations in EP300. *J. Med. Genet.* 44, 327-333 (2007).
26. Foley, P., Bunyan, D., Stratton, J., Dillon, M. & Lynch, S. A. Further case of Rubinstein-Taybi syndrome due to a deletion in EP300. *Am. J. Med. Genet. A* 149A, 997-1000 (2009).
27. Negri, G. et al. Clinical and molecular characterization of Rubinstein-Taybi syndrome patients carrying distinct novel mutations of the EP300 gene. *Clin. Genet.* 87, 148-154 (2015).
28. Cohen, J. L. et al. EP300-related Rubinstein-Taybi syndrome: Highlighted rare phenotypic findings and a genotype-phenotype meta-analysis of 74 patients. *Am. J. Med. Genet. A* 182, 2926-2938 (2020).
29. Negri, G. et al. From Whole Gene Deletion to Point Mutations of EP300-Positive Rubinstein-Taybi Patients: New Insights into the Mutational Spectrum and Peculiar Clinical Hallmarks. *Hum. Mutat.* 37, 175-183 (2016).
30. López, M. et al. Rubinstein-Taybi 2 associated to novel EP300 mutations: deepening the clinical and genetic spectrum. *BMC Med. Genet.* 19, 36 (2018).
31. Tsai, A. C.-H. et al. Exon deletions of the EP300 and CREBBP genes in two children with Rubinstein-Taybi syndrome detected by aCGH. *Eur. J. Hum. Genet.* 19, 43-49 (2011).
32. Wincint, J. et al. CREBBP and EP300 mutational spectrum and clinical presentations in a cohort of Swedish patients with Rubinstein-Taybi syndrome. *Mol. Genet. Genomic Med.* 4, 39-45 (2016).
33. Zimmermann, N., Acosta, A. M. B. F., Kohlhase, J. & Bartsch, O. Confirmation of EP300 gene mutations as a rare cause of Rubinstein-Taybi syndrome. *Eur. J. Hum. Genet.* 15, 837-842 (2007).
34. Lopez-Atalaya, J. P. et al. Histone acetylation deficits in lymphoblastoid cell lines from patients with Rubinstein-Taybi syndrome. *J. Med. Genet.* 49, 66-74 (2012).
35. Fahrner, J. A. & Björnsson, H. T. Mendelian disorders of the epigenetic machinery: postnatal malleability and therapeutic prospects. *Hum. Mol. Genet.* 28, R254-R264 (2019).
36. Wang, Z. et al. Genome-wide Mapping of HATs and HDACs Reveals Distinct Functions in Active and Inactive Genes. *Cell* 138, 1019-1031 (2009).
37. Broide, R. S. et al. Distribution of histone deacetylase 1-11 in the rat brain. *J. Mol. Neurosci.* MN 31, 47-58 (2007).
38. Bolden, J. E., Peart, M. J. & Johnstone, R. W. Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. *Nat. Rev. Drug Discov.* 5, 769-784 (2006).
39. Gräff, J. & Tsai, L.-H. The Potential of HDAC Inhibitors as Cognitive Enhancers. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 53, 311-330 (2013).
40. Levenson, J. M. et al. Regulation of Histone Acetylation during Memory Formation in the Hippocampus. *J. Biol. Chem.* 279, 40545-40559 (2004).
41. Bredy, T. W. et al. Histone modifications around individual BDNF gene promoters in prefrontal cortex are associated with extinction of conditioned fear. *Learn. Mem.* 14, 268-276 (2007).
42. Vecsey, C. G. et al. Histone deacetylase inhibitors enhance memory and synaptic plasticity via CREB:CBP-dependent transcriptional activation. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 6128-6140 (2007).

# Etude des mécanismes menant au développement de l'emphysème dans la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) grâce à un modèle 3D d'alvéoles pulmonaires humaines in vitro

Dr ZYSMAN, INSERM U1045, Bordeaux

La thématique de ce projet porte sur les mécanismes physiopathologiques de l'emphysème, caractérisé par une destruction des alvéoles pulmonaires, en se concentrant sur le rôle de l'interaction entre les cellules épithéliales alvéolaires, les cellules mésenchymateuses fibroblastiques et les fibrocytes.

## La BPCO/l'emphysème

La Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive (BPCO) est une maladie respiratoire chronique fréquente et grave. Principalement liée à l'usage prolongé du tabac, elle se caractérise par une obstruction bronchique non réversible qui entraîne un essoufflement croissant et des infections respiratoires répétées. La BPCO se complique souvent avec une destruction des parois alvéolaires pulmonaires. De par la méconnaissance des causes de ce phénomène nommé l'emphysème, il n'existe aucun traitement curatif.

## Les alvéoles et leurs constituants cellulaires majoritaires, les cellules épithéliales alvéolaires

Les alvéoles pulmonaires constituent les extrémités des dernières bronchioles. Celles-ci forment la barrière alvéolo-capillaire, qui est directement responsable des échanges gazeux entre le système vasculaire et les poumons. Au cours du développement pulmonaire, la formation de septa (cloisons entre les alvéoles) au sein des alvéoles primitives permet la formation et la maturation des alvéoles pulmonaires d'un diamètre approximatif de 0.1 à 0.3 mm<sup>3</sup>. L'épithélium respiratoire bordant ces alvéoles est constitué de deux types de cellules, les cellules alvéolaires de types I (AEC1), cellules différenciées majoritaires, et les cellules alvéolaires de type II (AEC2), cellules souches pneumocytaires possédant un rôle majeur dans le maintien de l'homéostasie alvéolaire (nécessité d'un équilibre entre réparation et destruction). Ces 2 types de cellules expriment le marqueur de surface EpCAM (Barkauskas et al., JCI 2013).

## La physiopathologie de l'emphysème

La physiopathologie (étude des mécanismes qui conduisent à l'apparition d'une maladie) de l'emphysème pulmonaire est complexe et implique différents mécanismes:

- une réaction inflammatoire excessive et chronique, caractérisée par le recrutement accru de cellules dédiées telles que les macrophages, les neutrophiles et les lymphocytes T
- une apoptose (ou mort cellulaire programmée) accrue des différents contingents cellulaires dont les cellules alvéolaires (AEC1 et AEC2)
- une sénescence accrue
- un stress oxydatif accru
- une perturbation de l'équilibre protéases/anti-protéases (NB: les protéases sont des "ciseaux protéiques" qui coupent les protéines) en faveur des protéases (Demedts et al., Respir Res 2006, Tsuji et al., AJRCCM 2006).

Ces processus lésionnels s'auto-entretiennent, par l'intermédiaire de voies de signalisation communes ("système de communication" des cellules, avec elles-mêmes et entre elles), et entraînent la mort des cellules alvéolaires. Les mécanismes physiopathologiques précis de l'emphysème restent cependant mal connus.

L'importance des cellules mésenchymateuses dans la physiopathologie de la BPCO fait l'objet d'une attention croissante (Zepp et al., Cell 2017, Zysman et al., AJRCCM 2020). Parmi celles-ci, les fibrocytes, cellules d'origine monocyttaire, issues de la moelle osseuse et capables de migrer vers différents organes pour y exercer des fonctions pro-fibrosantes et/ou pro-inflammatoires pourraient être d'un grand intérêt (Dupin et al., AJRCCM 2018, Bucala et al., Mol Med 1994). Notre équipe a montré une augmentation de leur nombre dans le sang des patients BPCO en période d'exacerbation (lors d'une infection respiratoire) (Dupin et al., JACI 2016). Nous avons également observé que leur présence dans les poumons en zone péri-bronchique est associée à une fonction respiratoire dégradée (Dupin et al., ERJ 2019). Il est probable qu'ils jouent aussi un rôle dans l'emphysème pulmonaire, de par leurs fonctions de régulation de la matrice extra-cellulaire (sorte de ciment entre les cellules). En effet, les fibrocytes produisent du collagène (constituant essentiel de matrice extra-cellulaire), et sont également capables de l'endocyter (de "l'absorber") (Blanchetti et al., J Cell Mol Med 2012).

## Modèle innovant 3D in vitro/alvéolosphère

Pour ce projet, nous construisons un modèle 3D fiable et standardisé d'alvéoles pulmonaires humaines, appelées couramment alvéolosphères. Nous reproduisons, in vitro, les contraintes mécaniques régissant l'organisation cellulaire in vivo. Dans ce cadre, nous ensemencerons des cellules épithéliales (pneumocytes) et mésenchymateuses (fibroblastes) pulmonaires humaines dans des micropuits (mimant les alvéoles et leurs septa) et observerons leur auto-organisation. Nous créerons ensuite un modèle d'emphysème en exposant les alvéolosphères (issues de patients avec ou sans emphysème) à différentes conditions :

extrait de fumée de cigarette

culture en hypoxie (avec un apport d'oxygène réduit)

Nous pourrions également contrôler la taille des micropuits ainsi que leur rigidité, ce qui permettra de caractériser le rôle de l'environnement dans le développement de l'emphysème. Avec ce modèle, nous disséquons le rôle des fibrocytes dans le développement de l'emphysème.

## Références

- Barkauskas CE, Cronce MJ, Rackley CR, Bowie EJ, Keene DR, Stripp BR, Randell SH, Noble PW, Hogan BL. Type 2 alveolar cells are stem cells in adult lung. J Clin Invest. 2013 Jul;123(7):3025-36. doi: 10.1172/JCI68782. Epub 2013 Jun 10. PMID: 23921127; PMCID: PMC3696553.
- Blanchetti L, Barczyk M, Cardoso J, Schmidt M, Bellini A, Mattoli S. Extracellular matrix remodelling properties of human fibrocytes. J Cell Mol Med. 2012 Mar;16(3):483-95. doi: 10.1111/j.1582-4934.2011.01344.x. PMID: 21595824; PMCID: PMC3822925.
- Bucala R, Spiegel LA, Chesney J, Hogan M, Cerami A. Circulating fibrocytes define a new leukocyte subpopulation that mediates tissue repair. Mol Med. 1994 Nov;1(1):71-81. PMID: 8790603; PMCID: PMC2229929.
- Demedts IK, Demoor T, Bracke KR, Joos GF, Brusselle GG. Role of apoptosis in the pathogenesis of COPD and pulmonary emphysema. Respir Res. 2006 Mar 30;7(1):53. doi: 10.1186/1465-9921-7-53. PMID: 16571143; PMCID: PMC1501017.
- Dupin I, Allard B, Ozier A, Maurat E, Ousova O, Delbrel E, Trian T, Bui HN, Dromer C, Guisset O, Blanchard E, Hilbert G, Vargas F, Thumerel M, Marthan R, Girodet PO, Berger P. Blood fibrocytes are recruited during acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease through a CXCR4-dependent pathway. J Allergy Clin Immunol. 2016 Apr;137(4):1036-1042.e7. doi: 10.1016/j.jaci.2015.08.043. Epub 2015 Oct 23. PMID: 26602164.
- Dupin I, Contain-Bordes C, Berger P. Fibrocytes in Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Variations on the Same Theme. Am J Respir Cell Mol Biol. 2018 Mar;58(3):288-298. doi: 10.1165/rcmb.2017-0301PS. PMID: 29087726.
- Dupin C, Fernandes V, Hernandez-Gonzalez F, Torrisi SE, Alfaro TM, Kreuter M, Wijsenbeek MS, Renzoni EA, Bargagli E, Nunes H, Spagnolo P, Bonella F, Molina-Molina M, Antoniou K, Poletti V. ERS International Congress, Madrid, 2019: highlights from the Interstitial Lung Diseases Assembly. ERJ Open Res. 2020 Oct 5;6(4):00143-2020. doi: 10.1183/23120541.00143-2020. PMID: 33043043; PMCID: PMC7533302.
- Tsuji T, Aoshihba K, Nagai A. Alveolar cell senescence in patients with pulmonary emphysema. Am J Respir Crit Care Med. 2006 Oct 15;174(8):886-93. doi: 10.1164/rccm.200509-1374OC. Epub 2006 Aug 3. PMID: 16888288.
- Zepp JA, Zacharias WJ, Frank DB, Cavanaugh CA, Zhou S, Morley MP, Morrissey EE. Distinct Mesenchymal Lineages and Niches Promote Epithelial Self-Renewal and Myofibroblastogenesis in the Lung. Cell. 2017 Sep 7;170(6):1134-1148.e10. doi: 10.1016/j.cell.2017.07.034. PMID: 28886382; PMCID: PMC5718193.
- Zysman M, Baptista BR, Essari LA, Taghizadeh S, Thibault de Ménonville C, Giffard C, Issa A, Franco-Montoya ML, Breau M, Souktani R, Aissat A, Caeymaex L, Lizé M, Van Nhieu JT, Jung C, Rottier R, Cruzeiro MD, Adnot S, Epaud R, Chabot F, Lanone S, Boczkowski J, Boyer L. Targeting p16INK4a Promotes Lipofibroblasts and Alveolar Regeneration after Early-Life Injury. Am J Respir Crit Care Med. 2020 Oct 15;202(8):1088-1104. doi: 10.1164/rccm.201908-1573OC. PMID: 32628504.

## Syndrome néphrotique de l'adulte

Pr RIGOTHIER, INSERM U1026, Service Néphrologie, Transplantation et Dialyse, CHU Bordeaux, Bordeaux

Le syndrome néphrotique de l'adulte est une maladie rare. Le syndrome néphrotique se définit par une concentration en protéine dans les urines supérieure à la normale associée à une concentration d'albumine dans le sang anormalement basse. On identifie 2 entités : le syndrome néphrotique idiopathique sans cause identifiée et le syndrome néphrotique secondaire à d'autres pathologies (maladie de système, infection, médicaments, cancer, obésité ou mutation génétique). Le syndrome néphrotique idiopathique, dont le mécanisme reste encore à élucider, semble lier à un conflit entre deux types cellulaires du système immunitaire, les lymphocytes B et T, associé à l'implication d'un facteur circulant dans le sang de nature indéterminée. Le syndrome néphrotique se caractérise par une modification de la barrière de filtration au niveau des reins. Cette barrière de filtration, interface entre le sang et les urines, est en condition normale imperméable au passage de protéines, laissant passer uniquement l'eau et les petites molécules comme les ions. Une analogie serait une passoire avec des mailles très fines. La modification de la perméabilité de cette barrière, via l'altération de son architecture (comme au cours du syndrome néphrotique), est à l'origine du passage de protéines dans les urines. Si nous poursuivons avec notre analogie, les trous de la passoire s'agrandissent laissant fuir des molécules ne devant pas y figurer.

Les signes cliniques évocateurs de syndrome néphrotique associent la présence d'un gonflement des jambes (pouvant également toucher le ventre et le visage) en lien avec une rétention d'eau que l'on appelle des œdèmes. On observe alors une prise de poids importante. Le passage de protéines dans les urines est mis en évidence à la bandelette urinaire. La suspicion de syndrome néphrotique est confirmée par les résultats d'un bilan biologique avec une baisse des protéines dans le sang et la détection d'un fort taux de protéines dans les urines. Le passage de protéines dans les urines peut également être associé à une altération du fonctionnement des reins (avec une augmentation de la créatinine, déchet normalement éliminé par les reins, sur la prise de sang), une augmentation de la tension artérielle et/ou la présence de sang dans les urines.

Afin de connaître la cause du syndrome néphrotique chez l'adulte, et après la prise en charge par le néphrologue (médecin spécialisé dans les maladies du fonctionnement des reins), il sera nécessaire de réaliser des examens complémentaires et une biopsie rénale. Il s'agit du prélèvement d'une petite quantité de tissu rénal permettant de faire le diagnostic de la maladie rénale touchant les reins et de guider le traitement spécifique de la maladie.

Pour mieux comprendre la cause d'un syndrome néphrotique d'un patient adulte, il est nécessaire d'effectuer des examens complémentaires et une biopsie rénale. Il s'agit d'un prélèvement d'une petite quantité de tissu rénal permettant de préciser le diagnostic de la maladie rénale touchant les reins et de guider le traitement spécifique de la maladie.

La prise en charge des patients repose sur un traitement spécifique dans les formes idiopathiques à base de traitements diminuant les défenses de l'organisme (traitements par corticoïdes ou autres immunosuppresseurs). Pour les causes secondaires, le traitement de la maladie à l'origine du syndrome néphrotique (maladie de système, infection, médicaments, cancer, obésité) est instauré ou optimisé.

Parallèlement et quelle qu'en soit la cause, il est nécessaire de mettre en place un traitement symptomatique (càd agissant sur les symptômes et pas directement sur la pathologie) et de prévenir les complications du syndrome néphrotique.

Le traitement symptomatique axé sur la réduction des œdèmes, dus à la rétention d'eau et de sels, repose sur la diminution de la consommation de sel et la mise en place de traitement(s) diurétique(s).

Il est également nécessaire de prévenir et de traiter les complications du syndrome néphrotique. Les spécialistes des reins (néphrologues) ont pour objectifs :

- La prévention du risque de thromboses dans les vaisseaux (dans certains cas) avec indication à un traitement anticoagulant pour fluidifier le sang,
- La prévention du risque d'infections par perte des anticorps dans les urines et l'utilisation de traitements réduisant les défenses immunitaires de l'organisme. Les vaccinations contre la grippe, le pneumocoque, l'haemophilus et le COVID sont à conseiller. La corticothérapie et les immunosuppresseurs contre-indiquent les vaccins vivants (version vivante mais affaiblie du virus ou version très similaire),
- Un traitement de l'hypercholestérolémie par statines, en cas de syndrome néphrotique résistant à 6 mois de traitement,
- Un traitement de l'hypertension artérielle avec un traitement médicamenteux par bloqueurs du système rénine-angiotensine (IEC ou ARA2).

Le syndrome néphrotique évolue le plus souvent par poussées avec un risque important de progression vers la maladie rénale chronique, ce qui entraîne un mauvais fonctionnement des reins. Un suivi néphrologique est fondamental avec la poursuite des traitements néphroprotecteurs sur le long cours.

## Références

## Sclérose tubéreuse de Bourneville

Pr RIGOTHIER et Dr PFIRMANN, Service Néphrologie, Transplantation et Dialyse, CHU Bordeaux, Bordeaux

La sclérose tubéreuse de Bourneville (STB) est une maladie génétique autosomique dominante (ce mode de transmission signifie que 50% de la descendance est susceptible d'être affectée) pouvant affecter différents organes. On estime qu'1 naissance sur 6 000 à 10 000 sera atteinte par la maladie. La STB est causée par des anomalies dans l'un des deux gènes : TSC1 ou TSC2. Ces gènes sont normalement à l'origine de protéines (hamartine et tubérine) régulant une voie de signalisation très importante (voie mTOR). Les modifications (mutations) des gènes TSC1 ou TSC2 entraînent une absence ou un dysfonctionnement de ces protéines. Ces modifications entraînent une augmentation de la prolifération ou multiplication des cellules à l'origine de l'apparition de tumeurs le plus souvent bénignes (notamment des hamartomes) et parfois malignes dans l'ensemble de l'organisme. Les traitements dont on dispose dans cette pathologie bloquent le développement des tumeurs.

Le diagnostic de cette maladie peut être réalisé chez les enfants et chez les adultes. La STB est une maladie évolutive avec l'âge. Ainsi, certaines lésions apparaissent à des moments différents selon de l'âge des patients. Chaque patient présente ainsi une évolution naturelle différente ainsi que des phénotypes très variables allant du phénotype peu sévère avec un patient asymptomatique au phénotype beaucoup plus sévère, avec des patients dépendant dans les actes de la vie quotidienne.

En 2012, une conférence d'experts a défini les 2 axes pour diagnostiquer la STB :

- soit à l'aide de l'examen clinique et d'examens complémentaires. Il a été défini des critères majeurs (par exemple les angiofibromes de la face, les tumeurs de Koënen, les tubers, les angiomyolipomes rénaux) et des critères mineurs (les anomalies de l'émail dentaire, les tâches confettis). Le diagnostic de STB est basé sur l'association de plusieurs critères ;
- soit une analyse génétique sur un prélèvement sanguin, pour rechercher des anomalies sur les gènes TSC1 ou TSC2.

Les principales atteintes sont neurologiques, rénales, cutanées, pulmonaire et cardiaque. L'atteinte neurologique se manifeste principalement par des tumeurs cérébrales bénignes (tubers) mais à localisation délétère. En effet, ces lésions peuvent se situer dans des zones du cerveau avec une activité importante induisant alors de l'épilepsie. L'épilepsie lorsqu'elle survient dans les phases de développement de l'enfant peut induire des retards des acquisitions et des apprentissages allant malheureusement jusqu'aux troubles neuropsychiatriques incluant des troubles du spectre autistique ou un retard mental. D'autres tumeurs bénignes du cerveau (astrocytomes à cellules géantes (SEGA)) peuvent empêcher l'écoulement du liquide entourant le cerveau.

L'atteinte cutanée qui conduit le plus souvent au diagnostic se caractérise par les angiofibromes de la face, les tumeurs de Koënen, les tâches confettis, les taches hypopigmentées et les plaques fibreuses.

Concernant l'atteinte rénale, les angiomyolipomes rénaux, tumeurs bénignes, sont la principale source de complication à l'âge adulte avec des risques de saignements.

Enfin, l'atteinte respiratoire secondaire à une lymphangioloïomyomatose est une des atteintes fréquemment observées dans la STB, pouvant entraîner des difficultés respiratoires dans l'atteinte très évoluée.

La prise en charge de cette maladie génétique a considérablement été améliorée ces dernières années. Des essais cliniques ont mis en évidence l'efficacité de certains inhibiteurs mTOR (l'évérolimus et le sirolimus) pour atténuer les atteintes précédemment citées. Ces inhibiteurs de mTOR permettent d'arrêter la prolifération anarchique des cellules chez les patients STB. En ce qui concerne les atteintes cutanées, des crèmes pour le visage ciblent les angiofibromes.

Le Groupe de Consensus International de la STB a proposé des recommandations pour le diagnostic, la surveillance et la prise en charge des patients. Une prise en charge pluridisciplinaire et personnalisée est requise pour chaque patient avec le dépistage systématique de l'ensemble des atteintes d'organes et la surveillance des atteintes au cours de sa vie.

## Références

# Présentation 2D2B

L'association des Doctorants et Docteurs en Biologie de Bordeaux (2D2B) a été créée en 1994. L'association a fait depuis peu avec un nouveau logo, et chaque année sont organisés un nouveau bureau et de nouveaux événements (soirées, événements scientifiques, sportifs et culturels).

L'objectif principal est de favoriser la communication entre tous les doctorants de l'École doctorale Sciences de la Vie et de la Santé (SVS), entre les étudiants, les enseignants-chercheurs, les chercheurs, les responsables de l'École Doctorale, l'Université de Bordeaux et le monde de l'entreprise. Elle tend à participer à l'amélioration de la qualité du doctorat et aider à la recherche des solutions les plus adaptées en cas de difficultés. L'association participe activement à la vie de l'École Doctorale SVS à travers l'organisation de 2 événements majeurs :

- La journée des doctorants de l'École Doctorale SVS à laquelle tous les doctorants sont conviés à venir présenter et échanger sur leur recherche sous la forme de communications orales ou posters avec des prix à la clé. La pluridisciplinarité de cette journée offre un panorama exhaustif des différents sujets de recherche explorés sur Bordeaux par les doctorants.
- La préparation au concours de l'école doctorale pour les étudiants de Master 2 afin d'aider et d'informer ceux qui le demandent en ce qui concerne les modalités du concours et la préparation de leur oral au travers de sessions d'entraînements organisées quotidiennement dès la sortie des sujets.

Notre rôle est aussi d'aider et d'informer les étudiants dans leur recherche d'un laboratoire d'accueil, sur la thèse et l'après-thèse et de servir d'intermédiaire aux autres associations.

## Nos contacts :

Email : [assos2d2b@gmail.com](mailto:assos2d2b@gmail.com)

LinkedIn : <https://www.linkedin.com/in/association-2d2b-83b412aa>

Facebook : <https://www.facebook.com/assos2d2b>

Twitter : <https://twitter.com/Association2D2B>

Instagram: @Asso2D2B

# Présentation Sci-dip

Sci-dip est une plateforme de santé numérique fiable qui vise à mettre les dernières recherches scientifiques à la portée de tous.

Notre initiative s'inscrit dans le mouvement de l'open science et a l'ambition de rendre la science réellement ouverte à tous. Elle part du constat que, si la recherche devrait être utile à tous, elle est aujourd'hui restreinte à un public expert. Nous cherchons à trouver le ton juste pour rendre l'information plus accessible, de nos collègues scientifiques au grand public. Le modèle est simple : chaque article que nous publions sur notre plateforme est une réécriture accessible d'un ou plusieurs articles académiques déjà publiés dans une revue scientifique en peer-review. Nous allons encore plus loin en donnant aux lecteurs la possibilité de demander des articles sur des maladies spécifiques ou même de poser des questions à des experts santé.

## Contactez-nous



**Laura-Joy BOULOS**  
PhD & Co-founder  
[laurajoy@sci-dip.com](mailto:laurajoy@sci-dip.com)



**Alexandre MENDES**  
PhD & Co-founder  
[alexandre@sci-dip.com](mailto:alexandre@sci-dip.com)



[sci-dip.com](https://www.sci-dip.com)



<https://www.linkedin.com/company/dip-sci>



[@dip\\_sci](https://twitter.com/dip_sci)



[sci\\_dip](https://www.instagram.com/sci_dip)