

**Résumés des communications orales de la 4<sup>ème</sup> conférence scientifique internationale sur le syndrome d'Angelman (Liverpool Octobre 2015) par Perrine Charles, neurologue et membre du Conseil Scientifique et Médical de l'AFSA.**

**Becky Burdine (Princeton University USA)** a fait une revue très claire de l'histoire du syndrome d'Angelman, des différents mécanismes génétiques et enfin des principales avancées de la recherche scientifique.

Elle a d'abord rappelé le rôle de la protéine traduite (dérivée) du gène UBE3A :

Cette protéine (E3) fait partie d'un complexe avec 2 autres protéines E1 et E2 qui forment « l'Ubiquitin système » dont le rôle est d'ajouter à des protéines cibles d'autres protéines appelées Ubiquitine (le phénomène s'appelle l'Ubiquitination) ce qui va permettre à ces protéines cibles d'être recyclées ou dégradées par un complexe appelé le protéasome.

Elle a ensuite rappelé les faits marquants depuis la description initiale de la maladie par Harry Angelman en 1965 :

1997 : découverte du gène

1998 : 1<sup>er</sup> modèle animal (souris auxquelles on a « invalidé » le gène UBE3A).

2007 : Possibilité de « réverser » le phénotype des souris (les symptômes cliniques) par des techniques génétiques.

2011 : Possibilité de « réverser » le phénotype des souris (les symptômes cliniques) par des stratégies virales.

2011 : Possibilités dans des modèles de cultures (in vitro) ou des modèles animaux (in vivo) d'exprimer UBE3A à partir de l'allèle paternel (la copie paternelle du gène) par un composé pharmaceutique le Topotecan. .

2015 : Possibilités dans des modèles de cultures (in vitro) ou des modèles animaux (in vivo) d'exprimer UBE3A à partir de l'allèle paternel (la copie paternelle du gène) par l'utilisation d'ASO (oligonucléotides antisens : petits fragments d'ADN qui vont pouvoir s'hybrider avec l'ADN paternel).

Elle a énuméré les différents mécanismes génétiques à l'origine du syndrome d'Angelman en rappelant que dans le cerveau le gène UBE3A est soumis à un phénomène appelé empreinte parentale et que seul l'allèle d'origine maternelle est exprimé.

- Délétion du gène UBE3A

- Mutation du gène UBE3A

- Anomalie de l'empreinte (l'allèle maternelle n'est pas reconnu comme devant être exprimé)

- Disomie uniparentale du gène (Présence de 2 allèles d'origine paternelle).

Il n'y a pas eu de grandes avancées scientifiques depuis l'an dernier mais les recherches continuent.

Voici en résumé les principaux axes de recherche développés par les différentes équipes.

**Structural and fonctionnal analysis of UBE3A/E6AP :**

Ben Distel (Academic Medical Center (AMC), Netherlands) :

Ben Distel travaille sur l'identification des protéines cibles de UBE3A.

Il a rappelé le rôle d'UBE3A dans l'ubiquitination des protéines et que ce défaut d'ubiquitination lié à l'absence de « l'ubiquitin proteine ligase E6AP » est à l'origine du syndrome d'Angelman.

Les protéines neuronales cibles d'UBE3A ne sont pas connues à ce jour.

Son équipe a mis au point différents systèmes chez la levure ou la bactérie (E. Coli) qui permettent l'identification et la validation de protéines cibles d'UBE3A et l'identification de la partie minimale (le domaine minimal) de la protéine UBE3A nécessaire à l'interaction avec ces protéines qui correspondrait aux 70 premiers AA.

Parmi les protéines cibles, identification d'une sous unité du protéasome **Rpn 10**.

### **Dissociation of locomotor and cerebellar deficits in UBE3A mice**

Ype Elgersma (Neuroscience Institute, Erasmus University, Netherlands)

Dans le syndrome d'Angelman il existe des troubles moteurs ressemblant aux troubles ataxiques que l'on voit dans les atteintes du cervelet.

L'équipe de Ype Elgersma a alors étudié les fonctions cérébelleuses (du cervelet) en réalisant différents tests évaluant les mouvements des yeux chez les rongeurs (le cervelet intervient dans le contrôle des mouvements conjugués des yeux) (OKR réflexe optokinétique et VOR réflexe oculo vestibulaire).

Ils ont pu montrer que chez des souris UBE3A déficientes les fonctions cérébelleuses n'étaient que légèrement atteintes (réduction de l'inhibition tonique entre les cellules de golgi et les cellulaires granulaires du cervelet) et que les cellules de Purkinje exprimaient normalement UBE3A ce qui suggère l'implication de voies motrices autres que les voies cérébelleuses à l'origine des troubles moteurs dans le syndrome d'Angelman.

### **UBE3A substrate identification past, present and future**

Ugo Mayor (Ikerbasque, Basque, Spain)

La protéine UBE3A est une ubiquitin E3 ligase responsable de l'ajout d'ubiquitine à différentes protéines cibles. Le syndrome d'Angelman peut être lié à la dysrégulation d'une de ces protéines cibles (substrats).

Différents substrats ont été décrits mais n'ont pas été validés à ce jour.

Dans un modèle animal (drosophile) son équipe a identifié et validé un nouveau substrat Rngo...

### **Human Induced Pluripotent Stem Cell Models of Angelman Syndrome. (iPSC)**

Noëlle Germain (University of Connecticut health Center, USA)

Noëlle Germain de l'équipe de Stormy Chamberlain travaille sur des neurones de patients atteints d'un syndrome d'Angelman. Ces neurones ont été obtenus à partir de biopsies cutanées de patients grâce à un système in vitro permettant d'obtenir des cellules très immatures à partir des cellules de la peau, cellules que l'on différencie ensuite en neurones. Ces neurones ont toutes les caractéristiques des neurones matures (activité excitatrice spontanée) et leurs synapses (connections) sont fonctionnelles.

Ils ont ainsi pu obtenir in vitro le développement de « cerebral organoids » qui correspond à du tissu cérébral humain à partir de ces cellules indifférenciées de la peau des patients.

Ces systèmes de cultures in vitro permettent d'étudier et de comprendre les mécanismes à l'origine de l'inactivation de l'allèle maternel, à quel moment survient cette inactivation au cours du développement. Ils ont également pu montrer que l'allèle paternel n'était « silencieux » que dans les neurones matures

Ce système permet également de tester différentes molécules (comme le Topoisomerase) et de voir leur efficacité éventuelle sur la réexpression d'UBE3A sur l'allèle paternel...

### **Impaired neurite contact guidance in Ubiquitin ligase E3a-deficient neurons**

Ilaria Tonazzini (NEST, Istituto Nanoscienze-CNR, Italy)

Le cytosquelette est indispensable à l'adhésion des neurones, leur migration, leur croissance... UBE3A aurait un rôle dans la régulation du cytosquelette, la polymérisation de certaines protéines du cytosquelette (actine) et le déficit en UBE3A serait associé à une modification de l'architecture des neurones dans différentes structures cérébrales.

Pour le montrer l'équipe de Ilaria Tonazzini a développé un système in vitro permettant d'étudier l'alignement des neurones et leur polarité (orientation).

Ils ont ainsi pu montrer dans des neurones de souris UBE3A déficientes en comparant à des neurones de souris contrôles qu'à des stades précoces du développement les neurones des souris déficientes en UBE3A n'étaient pas alignés, mal orientés, avec des connexions aberrantes...

### **UBE3A, a E3 ubiquitin ligase that regulates the circadian clock in mammalian cells and flies.**

Qing-Jun Meng (Manchester University, UK)

Communication très intéressante sur le rôle d'UBE 3A dans la régulation de l'horloge circadienne (l'horloge biologique interne).

En effet certaines protéines responsables du maintien de l'horloge biologique comme BMAL1 sont ubiquitinées. On ne sait pas quelle ubiquitine ligase est impliquée dans l'ubiquitination de BMAL1 mais il a été montré que UBE3A pouvait se fixer sur BMAL1 et induire sa dégradation...

Chez la drosophile, UBE3A est nécessaire à l'établissement de l'horloge circadienne.

Ces résultats pourraient expliquer les troubles du sommeil observés chez les patients Angelman.

Qing-Jun Meng conclue sur certaines règles hygiéno diététiques qui pourraient améliorer la qualité du sommeil des patients Angelman comme :

- La luminothérapie bleue
- L'activité physique contrôlée
- Une alimentation à heures fixes
- Un traitement par la Mélatonine (hormone naturelle secrétée par l'organisme (la glande pinéale) et qui induit le sommeil).

### **OV 101 : enhancing tonic inhibition as a therapeutic approach to AS.**

**Matthew During (Ovid Therapeutics, USA)**

Ovid Therapeutics est une compagnie privée dont un des objectifs est de développer des traitements pour les maladies neurologiques orphelines

Ils se sont intéressés à un composé : OV 101 / THIP / Gaboxadol dérivé de l'Amanita muscaria (champignon !) source de Muscimol qui agit comme un analogue GABA et qui pourrait être efficace dans le syndrome d'Angelman où il existe une perte d'inhibition tonique des neurones, le Gaboxadol agissant sur les neurones extra synaptiques Gabaergiques (sous unité alpha delta) en restaurant l'inhibition tonique.

L'objectif de leur étude est de montrer que ce composé est bien toléré chez les patients atteints de syndrome d'Angelman sans effets indésirables.

3000 individus ont été exposés au Gaboxadol (doses moyenne de 160mg) sans aucun effet secondaire respiratoire, cardio vasculaire, métabolique ou hématologique.

Les paramètres pharmaco cinétiques de ce composé sont compatibles avec une bonne diffusion cérébrale : hydro soluble, excellent passage à travers la barrière hémato encéphalique, bonne biodisponibilité.

Il ne présente pas d'interaction avec l'alcool et il n'y a pas de phénomène d'addiction, ni d'effet rebond à l'arrêt.

L'hypothèse est que ce composé pourrait améliorer les troubles attentionnels dans le syndrome d'Angelman mais également dans le syndrome de l'X fragile (on peut alors s'interroger sur sa spécificité...).

Un essai thérapeutique multicentrique devrait débuter aux USA courant 2016 chez 60 patients âgés de plus de 16 ans, essai randomisé en double aveugle contre placebo de durée 12 semaines pour évaluer la tolérance et les effets secondaires (essai de safety et tolerability).

### **Birdsong communication and learning. A song bird model for AS research ?**

David Clayton (Queen Mary, University of London, UK)

David Clayton travaille sur un modèle d'oiseau le Zebra Finch, dont la particularité est de communiquer par des vocalisations apprises dans l'enfance à un moment très précis de leur développement.

Il existe de nombreux parallèles entre les circuits impliqués dans l'apprentissage vocal chez le Zebra Finch et l'homme et cet exemple d'apprentissage verbal chez l'animal pourrait représenter un modèle de développement du langage chez l'homme.

L'apprentissage vocal est très rare dans le monde animal, il est présent chez certains mammifères comme les dauphins, les éléphants, les chauves souris et certains oiseaux comme les perroquets et donc le Zebra Finch.

Ces oiseaux vivent en communauté et communiquent grâce à ces vocalisations apprises. Ils sont monogames. Seuls les mâles chantent et apprennent à partir d'un tuteur (généralement le père). Ils n'apprennent qu'un seul chant avec une fenêtre très étroite de l'apprentissage pendant l'enfance : entre P25 et P65 (phase sociale) et P35 et P90 (phase sensori motrice).

Il existe un modèle de Zebra Finch avec une mutation dans le gène Fox P2 qui est incapable de chanter.

Une famille a été décrite avec une mutation dominante du gène FoxP2 dont les membres atteints présentent une dyspraxie verbale (difficultés à prononcer les syllabes et les noms).

Le gène UBE3A est présent chez le Zebra Finch.

Des questions restent ouvertes : quel est le rôle d'UBE3A chez le Zebra Finch ?

Est ce que cette capacité à apprendre à chanter peut être réactivée chez le Zebra Finch adulte ?

Quel est le mécanisme de l'absence de langage dans le syndrome d'Angelman ?

Un défaut d'attention au tuteur ? Un défaut de feed back ? Une perte des capacités à moduler et définir l'activité vocale motrice ? Un défaut d'apprentissage ou un défaut de production ?

## **Using newer genetic technologies to diagnose Angelman like disorders**

Jill Clayton-Smith (Manchester University, UK)

Jill Clayton-Smith rappelle tout d'abord les principales dates dans l'avancée des découvertes des différents mécanismes génétiques à l'origine du syndrome d'Angelman.

1987 15q11-13 deletion

1991 uniparental disomy

1992 methylation

1997 UBE3A Analysis

Son équipe s'est intéressée aux patients présentant un phénotype clinique compatible avec un syndrome d'Angelman et pour lesquels aucun des mécanismes sus décrits n'a pu être mis en évidence (patients « quadruple non ») avec le problème de l'absence de conseil génétique possible ou de possibilités d'appréciation du pronostic...

Différentes explications sont possibles : la mutation n'est pas détectable, il existe un autre gène responsable du phénotype, existence d'un mosaïcisme, il s'agit d'un autre mécanisme génétique... ou il ne s'agit pas d'un syndrome d'Angelman...

Son équipe a ainsi étudié chez 130 patients un panel de 60 gènes (parmi lesquels FOXP1, STXB1, MECP2, SLC2A1, WDR45, MED13L, SYNGAP1) impliqués dans les difficultés d'apprentissage grâce aux nouvelles techniques de séquençage à haut débit et a pu porter un diagnostic certain chez 35 patients...

## **Medical problems and provision of care for patients with AS**

Rosie Conroy UK research and Dyscerne update.

En 2010 ont été publiées les « Dyscerne Angelman Syndrome guidelines » : recommandations sur la prise en charge des patients Angelman.

Ces recommandations n'ont pas été réévaluées depuis.

Les objectifs de l'étude de l'équipe de Rosie Conroy étaient d'évaluer la compliance des familles et des soignants à propos de ces recommandations. Une étude a donc été réalisée aux Royaume Uni à partir de questionnaires online anonymes destinés aux parents ou aux caregivers de patients atteints d'un syndrome d'Angelman.

Les 12 chapitres des recommandations ont ainsi été « audités ». La compliance était notée mauvaise (< 50%), satisfaisante (50-80%) et bonne (> 80%).

117 réponses ont été obtenues : 51 % avec une mauvaise compliance, 17% avec une compliance correcte et 32% avec une bonne compliance.

Les caractéristiques de la cohorte de patients sont les suivantes :

66% de délétions.

67% marche conservée.

Continence le jour 30%, la nuit 17%.

Kinésithérapie chez l'adulte 20%

Toxine botulique 27%.  
Thérapie occupationnelle 29%.  
Crises d'épilepsie 78% (Age moyen de début 2 ans et 5 mois).  
70% traités par Dépakine  
17% par Tégrétol (mais 53% d'effets secondaires)  
35% par Levetiracetam  
3,5% par régime cétogène  
Durée de sommeil : 7H en moyenne (2,5-14).  
87% réveils nocturnes... mais seulement 43% suivent les recommandations (température de la chambre, rituels du coucher, pas de jeux vidéo ou TV avant le coucher...).  
Strabisme 44%.  
Les troubles du comportement diminuent avec l'âge.  
SLT (speech and language therapy) 89%.  
Pictogrammes ++ 65% (PECS 63%, puis MAKATON).  
Strabisme 44%  
Hypersalivation 65% mais seulement 16% des parents suivent les conseils... comme encourager la fermeture de la bouche...  
Scoliose 20% des enfants, 50% des adultes.

Une réévaluation et une actualisation de ces recommandations seraient nécessaires.

### **A multidisciplinary expertise center for Angelman syndrome:**

### **Clinical features and genotype-phenotype correlation in a large cohort of children with Angelman Syndrome.**

Karen Bindels-de Heus, Marie-Claire de Wit (ENCORE Expertise Centre for Angelman Syndrome, Erasmus MC, Sophia Children's Hospital, Rotterdam, the Netherlands)

Karen Bindels-de Heus rapporte les caractéristiques épidémiologiques, les corrélations génotype/phénotype et l'évolution naturelle d'une cohorte de 90 patients porteurs d'un syndrome d'Angelman évalués par une équipe multidisciplinaire.

Ces 90 patients dont 48 garçons âgés de 1 à 19 ans ont été suivis aux âges suivants : 1, 2, 3, 4, 7, 11, 15 et 18 ans

L'âge au diagnostic est en moyenne de 28 mois (plus tôt pour les délétions)

Délétion > 60%, UPD/ID (uniparental disomy/imprinting defect) 18% et mutations 18%.

Microcéphalie plus fréquente si délétion.

Epilepsie 73% 1<sup>ère</sup> crise à 30 mois (plus fréquent si délétion 88%)

Marche acquise 63% (en moyenne > 2 ans) âge moyen 3,2 ans (20-108 mois). Absence d'acquisition de la marche surtout dans le groupe des délétions.

Apparition d'une flexion des genoux à la puberté : 50%

Troubles du sommeil : 85% (corrélations épilepsie et troubles du sommeil), réveils nocturnes 54%.

Surpoids >1SD 30%, obésité > 2SD 15%, 36% hyperphagie (le poids semble augmenter avec l'âge).

6 patients portent une sonde d'alimentation

Il existe un risque d'ostéoporose.

Mise en place en 2016 d'une étude dont l'objectif est d'évaluer l'efficacité de l'intervention d'une prise en charge des troubles du comportement par une psychologue durant 10 semaines avec une évaluation à 3 et 6 mois.

**Dietary therapy of children with Angelman Syndrome and refractory epilepsy; design of a randomized controlled trial. Iles van der Louw (ENCORE Expertise Centre for Angelman Syndrome, Erasmus MC, Sophia Children's Hospital, Rotterdam, the Netherlands)**

90% des patients porteurs d'un syndrome d'Angelman présente une épilepsie <4 ans, difficile à traiter chez 27-77% selon les séries.

Le régime cétoène (riche en graisses et pauvre en hydrates de Carbone) aurait montré un bénéfice sur la réduction des crises mais le mécanisme physiopathologique exact n'est pas connu.

2 études rapportent sur quelques patients (case report) une efficacité du régime cétoène sur les crises d'épilepsie et les troubles du comportement :

5/6 : 80% réduction des crises à 4 mois.

5 : 90% réduction des crises à 1 an

L'équipe a comparé l'efficacité de la LGID (Low glycemic index diet) par rapport au régime cétoène. En effet la LGID est moins restrictive en hydrates de carbone et la compliance plus facile...

Ils ont adapté un régime dérivé de celui d'Atkins (MAD) intermédiaire entre les 2 précédents avec 10-30g carbohydrates /j et une quantité libre de graisses et protéines plus adaptée aux habitudes de vie en Hollande pour lequel ils espèrent une meilleure compliance.

Une étude pilote chez 4 enfants suivant le régime LGID a montré chez 3 une diminution modérée des crises ...

Une étude randomisée visant à comparer l'efficacité du régime cétoène versus le régime adapté d'Atkins (MAD) sur 20 patients âgés de 2 à 18 ans, devrait débuter prochainement. Son objectif est d'obtenir 50% de réduction des crises après 3 mois. Un des critères d'inclusion est l'existence d'au moins 10 crises par mois.

Les patients seront évalués tous les 3 mois avec évaluation des paramètres suivants : nombre de crises, EEG, échelles de qualité de vie, troubles du comportement, croissance, effets secondaires, stress des parents...

**Toward therapy for AS by targeting a long non coding RNA**

Art Beaudet (Baylor College of Medicine, USA) & Frank Rigo (ISIS Pharmaceuticals)

L'hypothèse émise par Art Beaudet est que tous les patients Angelman ont une copie paternelle du gène UBE3A mais non exprimé en raison d'un ARN antisens et l'objectif d'Art Beaudet est de réactiver l'allèle paternel.

L'activation de la copie paternelle est possible chez les souris par l'utilisation d'oligonucléotides antisens (ASO) comprenant entre 15 et 25 bases d'un ADN simple brin pouvant s'hybrider spécifiquement avec l'ARN antisens sur l'allèle paternel.

Des tests réalisés in vitro sur des cultures primaires de neurones ou in vivo sur un modèle de souris UBE3A déficientes sont encourageants avec en utilisant la technique sus décrite une

expression d'UBE3A d'origine paternelle dans différentes régions cérébrales (cortex, cervelet, amygdale, gyrus denté, hippocampe et moelle épinière) après une injection intra ventriculaire unique pour les études réalisées in vivo. Les résultats ont été évalués 4 semaines après l'injection et montrent un maintien de la réexpression d'UBE3A jusqu'à la 16ème semaine avec une diminution à 20 semaines et la correction du phénotype des souris...

Qu'en est il chez l'homme ? La question est restée en suspens ...

### **Strategies and support for children with complexe communications needs.**

Mary-Louise Bertram

Communication très intéressante sur la prise en charge et la rééducation du langage, difficile à retranscrire du fait de nombreux cas concrets présentés en vidéo...

En résumé Mary-Louise Bertram insiste sur 4 points :

LOUD Voices : language opportunity, understanding, determination.

Elle insiste sur l'existence de compétences présumées chez un patient porteur d'un syndrome d'Angelman et que chaque action est surement liée à une bonne raison d'où la nécessité absolue de développer un moyen de communication non verbal : AAC alternative communications:/symbols/POOD communication book (pragmatic organisation dynamic display), pictogrammes. Mais surtout quelle soit le méthode choisie, elle insiste sur le caractère interactif et ludique !!!

Se rendre sur le site [Angelman.org](http://Angelman.org) communication training

Ne pas hésiter à montrer beaucoup de photos ou images et ne pas laisser uniquement un choix binaire trop restrictif même chez les tous petits.

Surtout être patient et prendre le temps. Si l'on fait un parallèle avec le temps nécessaire à l'apprentissage du langage chez un enfant non porteur d'un syndrome d'Angelman vu le nombre de mots et de phrases entendues depuis sa naissance il faudrait 82 ans !!! à un enfant Angelman pour apprendre un langage à l'aide de pictogrammes s'il ne bénéficie que de 2 séances de rééducation orthophonique d'1/2 heure chacune par semaine...

### **Pour finir :**

La soirée du samedi, occasion de fêter le cinquantenaire de la description initiale du syndrome a été marquée par la présence de Liz Huglin, nièce de Harry Angelman (pédiatre Anglais qui a donné son nom au syndrome puisqu'il a été le premier à décrire la maladie en 1965 à propos de 3 cas), discours émouvant lorsqu'elle a évoqué l'arrivée de sa famille, originaire de Pologne en Grande Bretagne où lorsque l'on a demandé son nom à son grand père, l'officier de police n'ayant pas compris le nom en Polonais, a regardé le petit garçon qui accompagnait ses parents et lui a dit tu as une tête d'ange, nous allons vous donner le nom de « Angelman »...