

**Centre de référence des maladies lysosomales - CRML
APHP Centre -Université Paris Cité - hôpital Necker Enfants Malades -Paris**

**Futur projet :Déficit en lipase acide lysosomale :
Maladie de Wolman/ CESD**

Anaïs Brassier 19/11/2024

LYSO
CENTRE DE RÉFÉRENCE

Centres de Référence des
Maladies Lysosomales
(CRML)

20
ANS

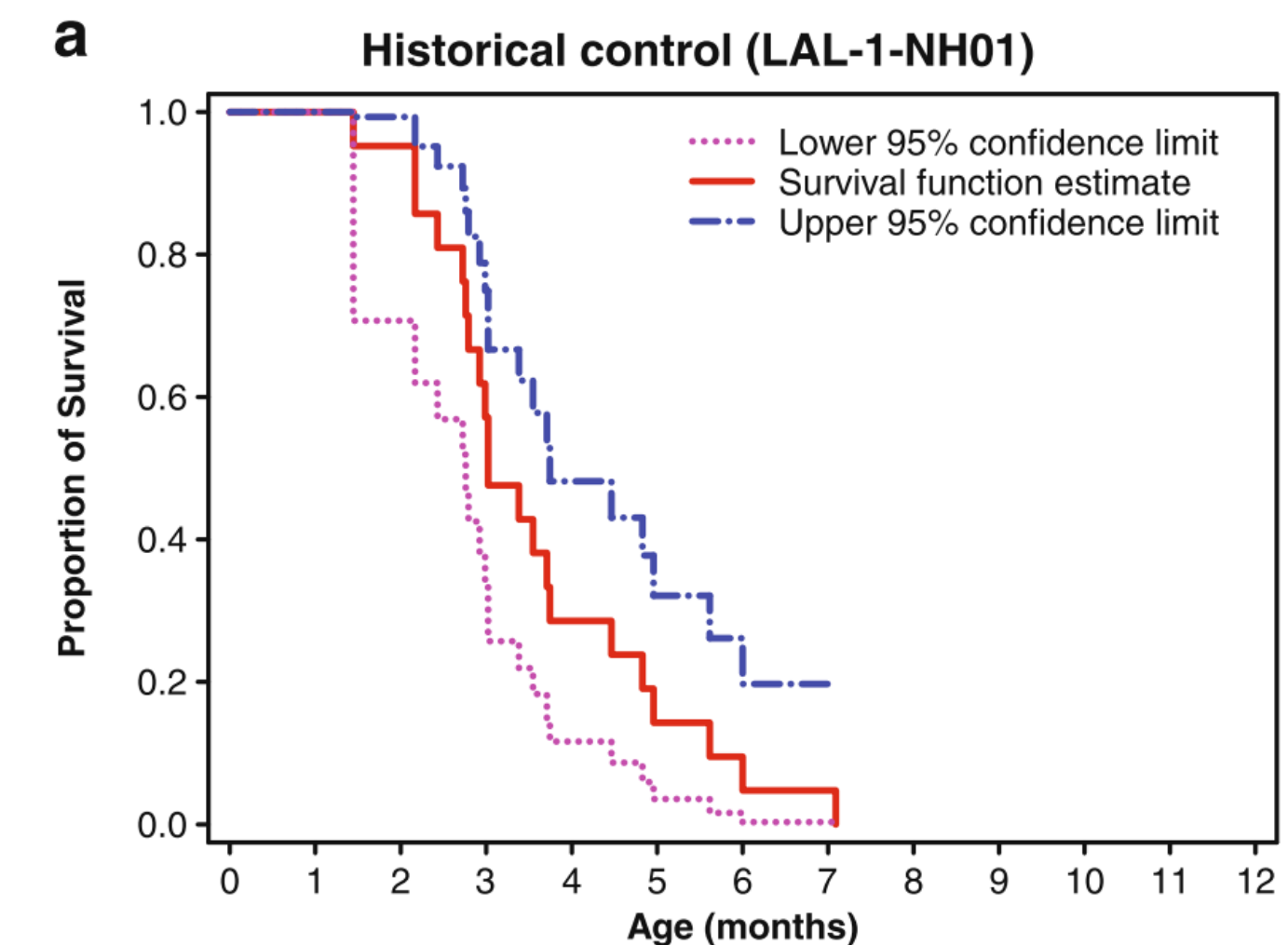
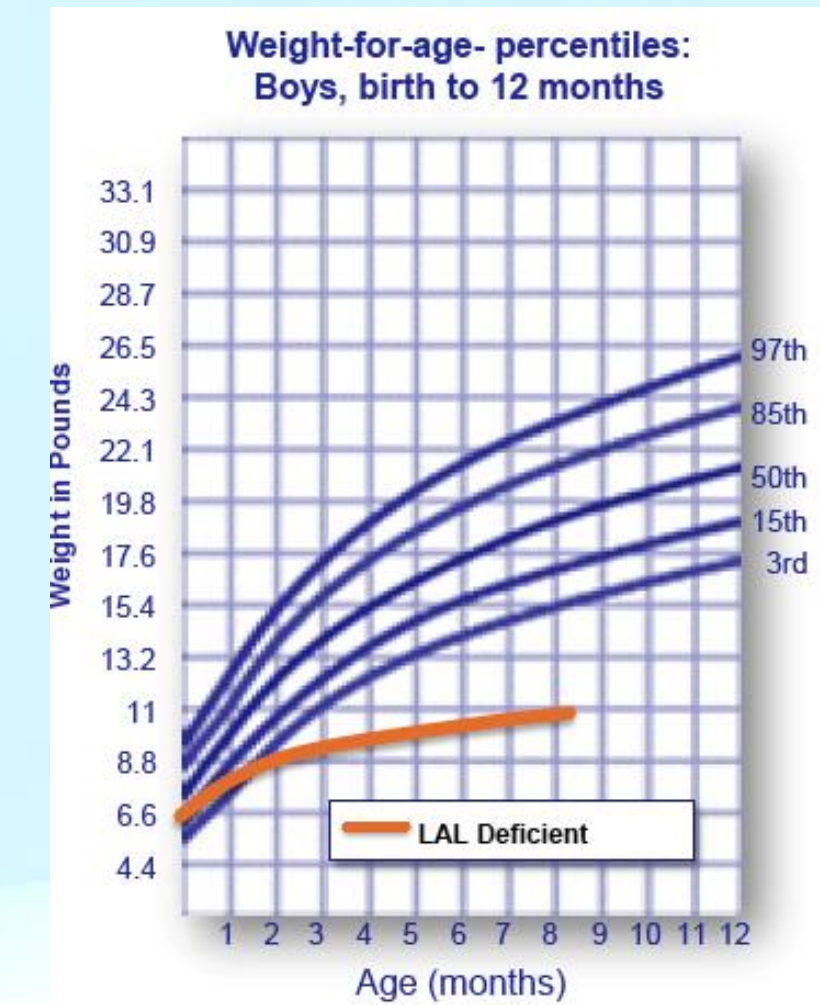
22 NOVEMBRE 2024

Hôpital Européen Georges-Pompidou
PARIS

Centre Coordonnateur : Dr Bénédicte HERON (Paris)
Centres de Référence en Ile de France (Paris, Clichy, Garches) et à Rouen.
Centres de Compétence à Rennes, Nantes, Bordeaux, Toulouse, Montpellier et Marseille
Contact : samira.zebiche@aphp.fr

Déficit en lipase acide lysosomale

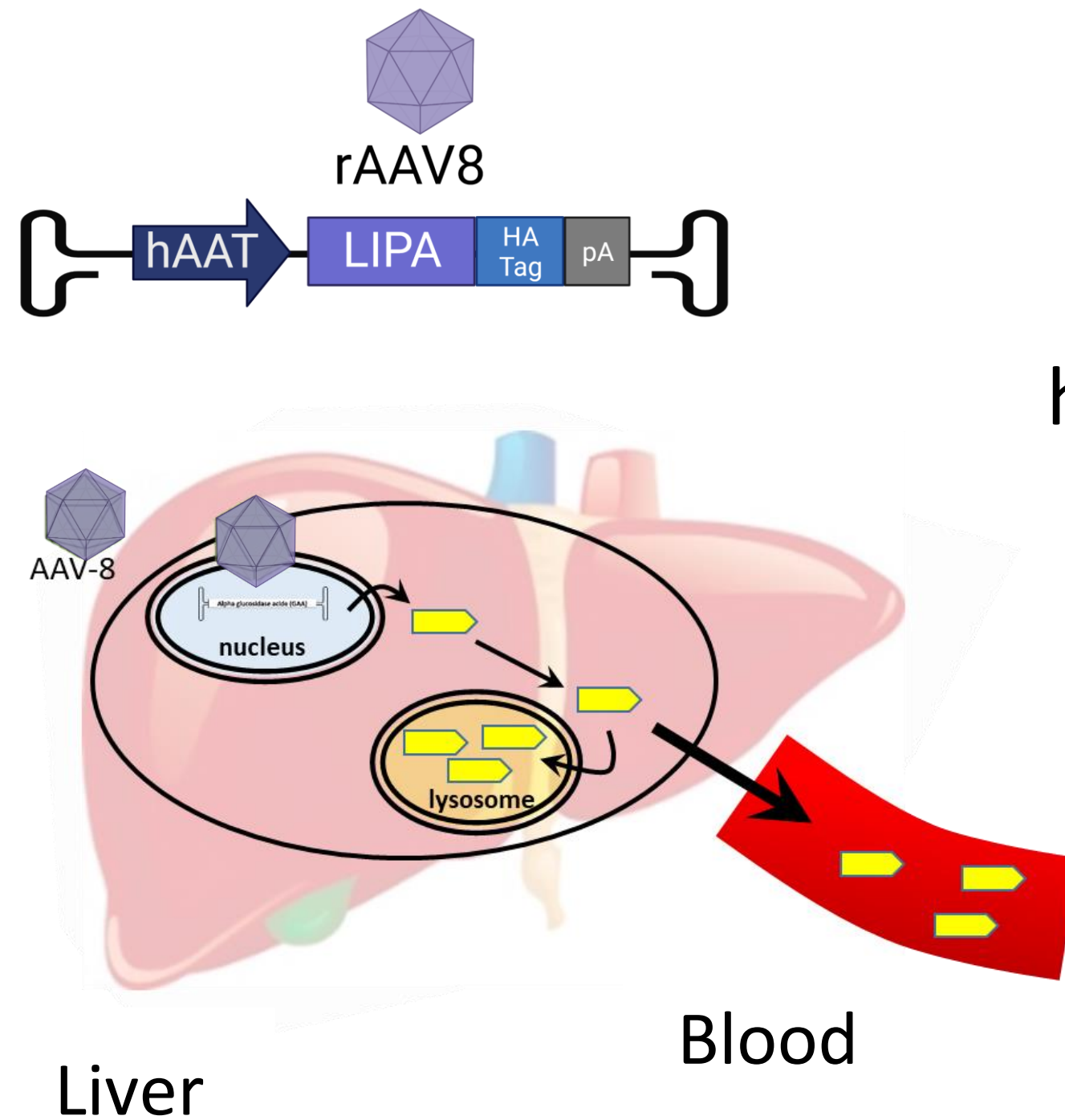
- Maladie rarissime, lipidose viscérale
- Manifestations gastro-intestinales précoces
 - Diarrhées, dénutrition
 - Distension abdominale
 - Hépatomégalie
 - +/- Insuffisance hépato-cellulaire
 - Cassure staturo-pondérale sévère
- Calcifications surrénaliennes caractéristiques fréquentes (> 50 %)
- Pas d'atteinte neurologique
- Maladie rapidement progressive et fatale <12 mois sans traitement spécifique
- Traitements spécifiques actuels : enzymothérapie substitutive IV hebdomadaire (KANUMA) et/ ou greffe de moelle osseuse
- Problèmes:
 - efficacité partielle, autres thérapeutiques ?
 - Développement d'anticorps anti ERT



Déficit en lipase acide lysosomale

TG in vivo Souris LAL D - Généthon

In vivo GT for LAL-D



LAL expression by
hepatocytes and secretion
in bloodstream

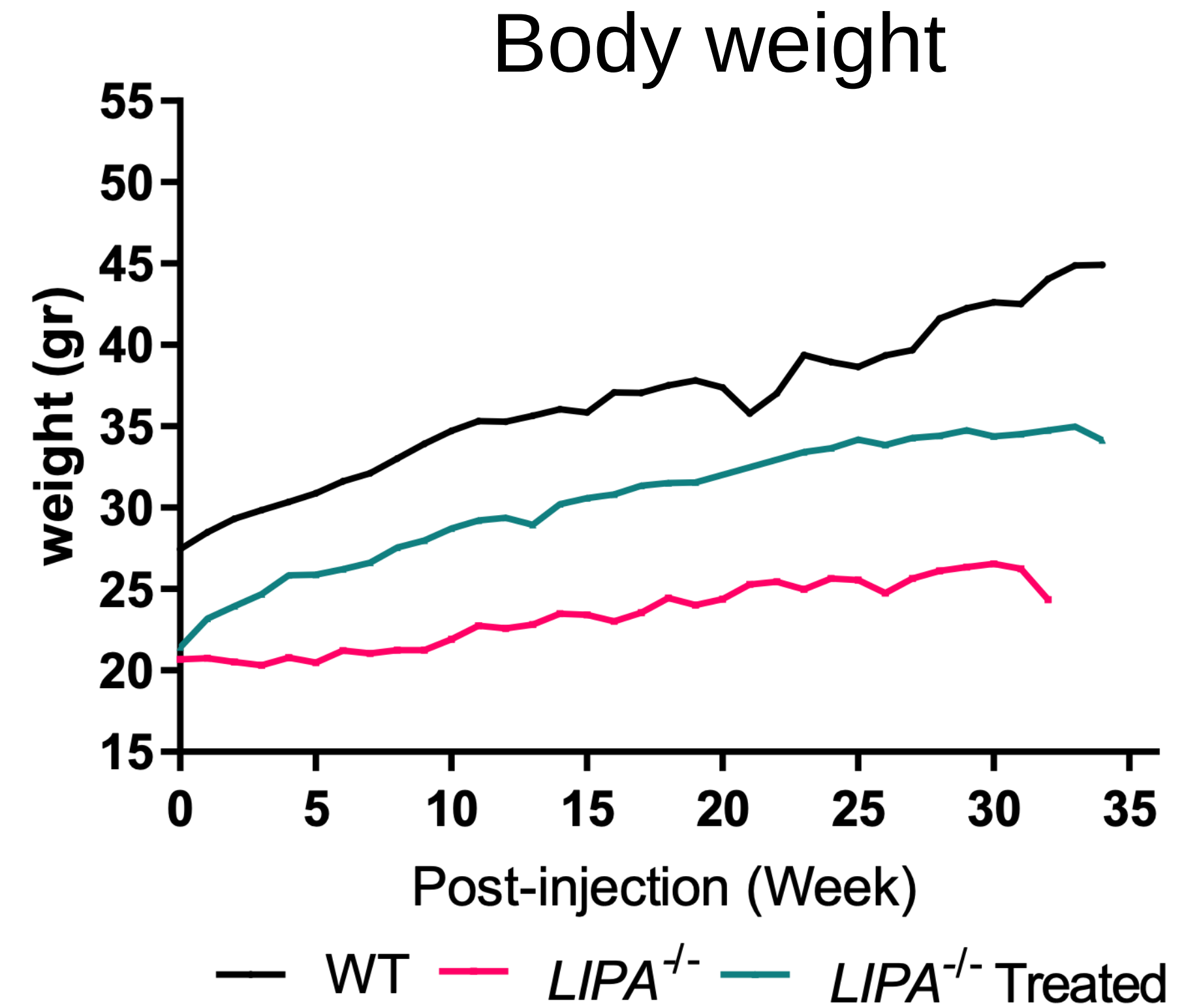
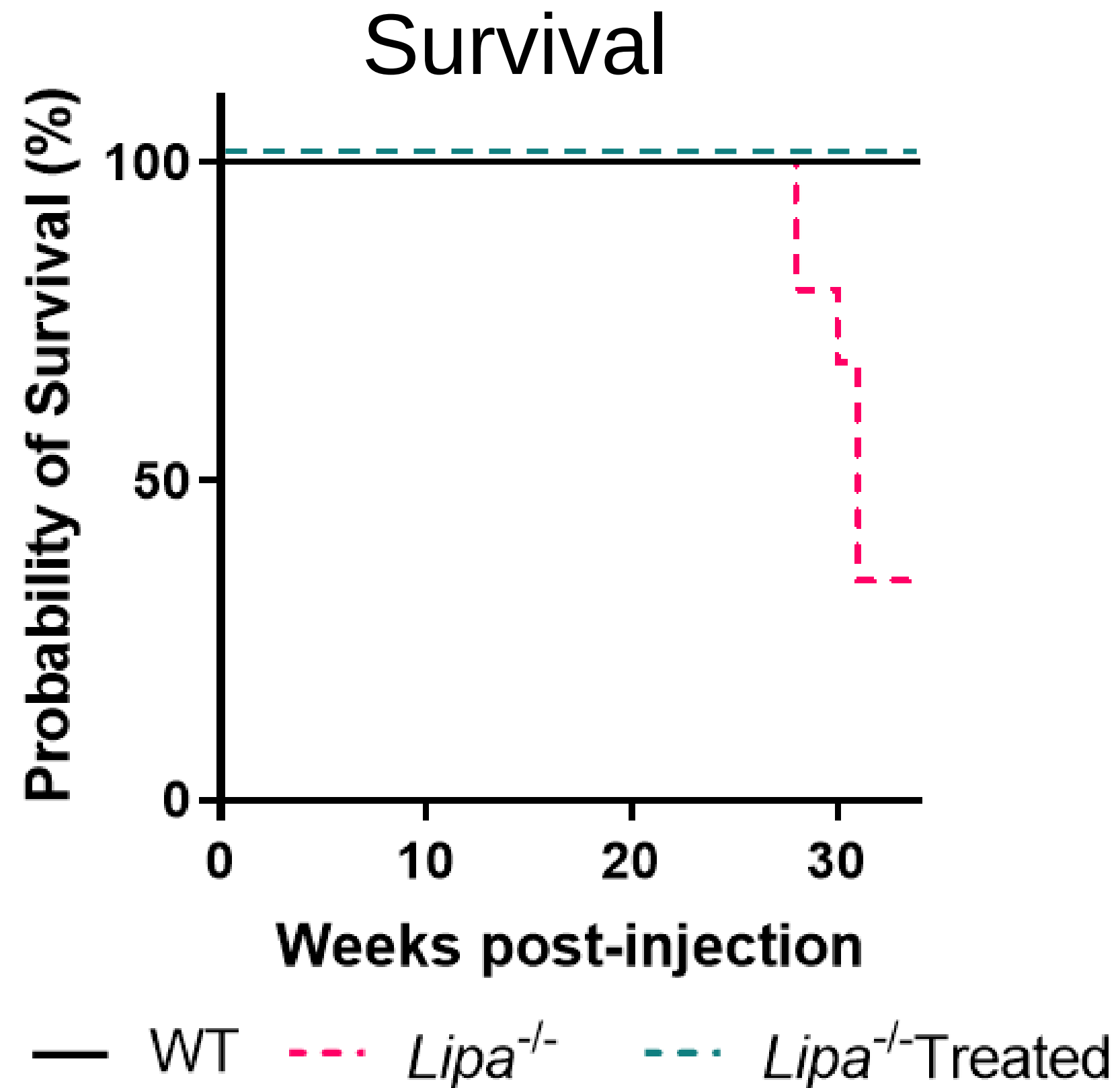


- Evaluation of AAV-8 ($3E+12$ vg/kg) at 4, 12- and 34-weeks post-injection
- Evaluation of different doses of AAV-8 at 12- and 34-weeks post-injection

LAL-D mouse model
Mimic WD for lipid accumulation but CESD for survival



Improvement of survival & body weight

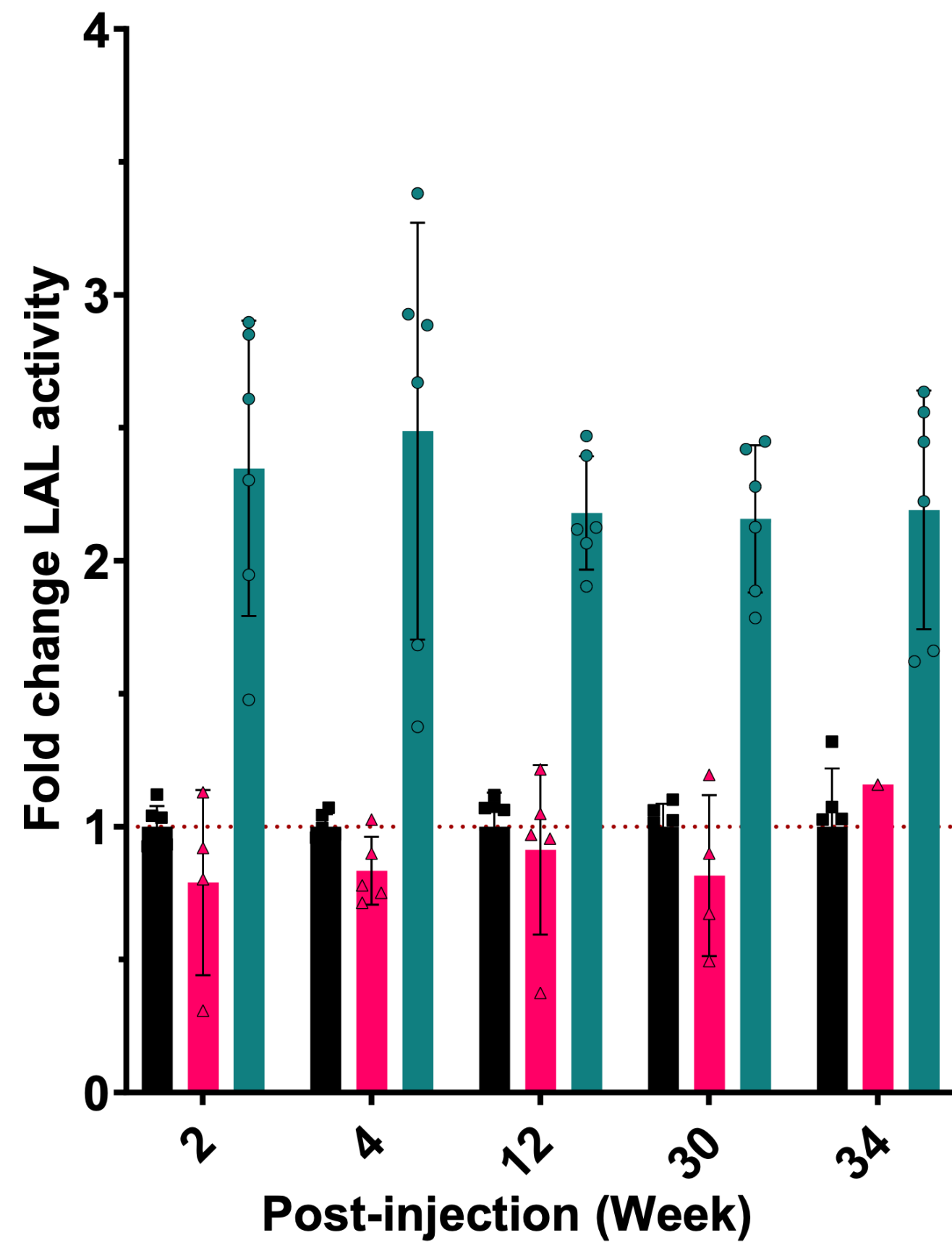


- Reduced lifespan of *LIPA*^{-/-} mice restores upon rAAV8 treatment
- *LIPA*^{-/-} mice are smaller than WT mice & rAAV8 treatment improves over time the body weight



Stable LAL secretion in circulation

LAL Activity in plasma



➤ rAAV8 treatment results in a stable 2.5 -fold secretion of LAL in plasma

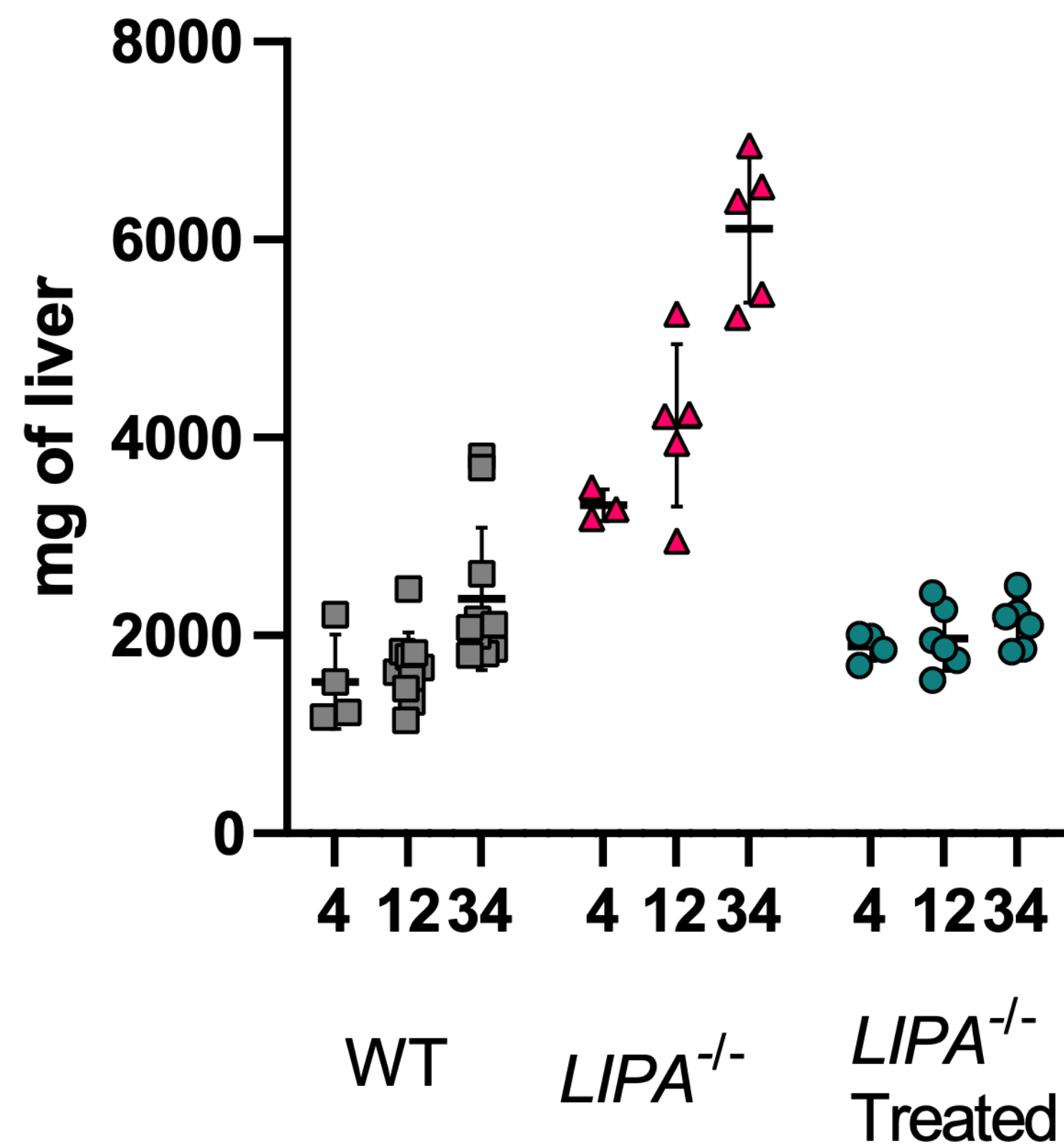
■ WT ■ *Lipa*^{-/-} ■ *Lipa*^{-/-}Treated

All data of LIPA^{-/-} treated mice were significant different from WT & LIPA^{-/-} mice

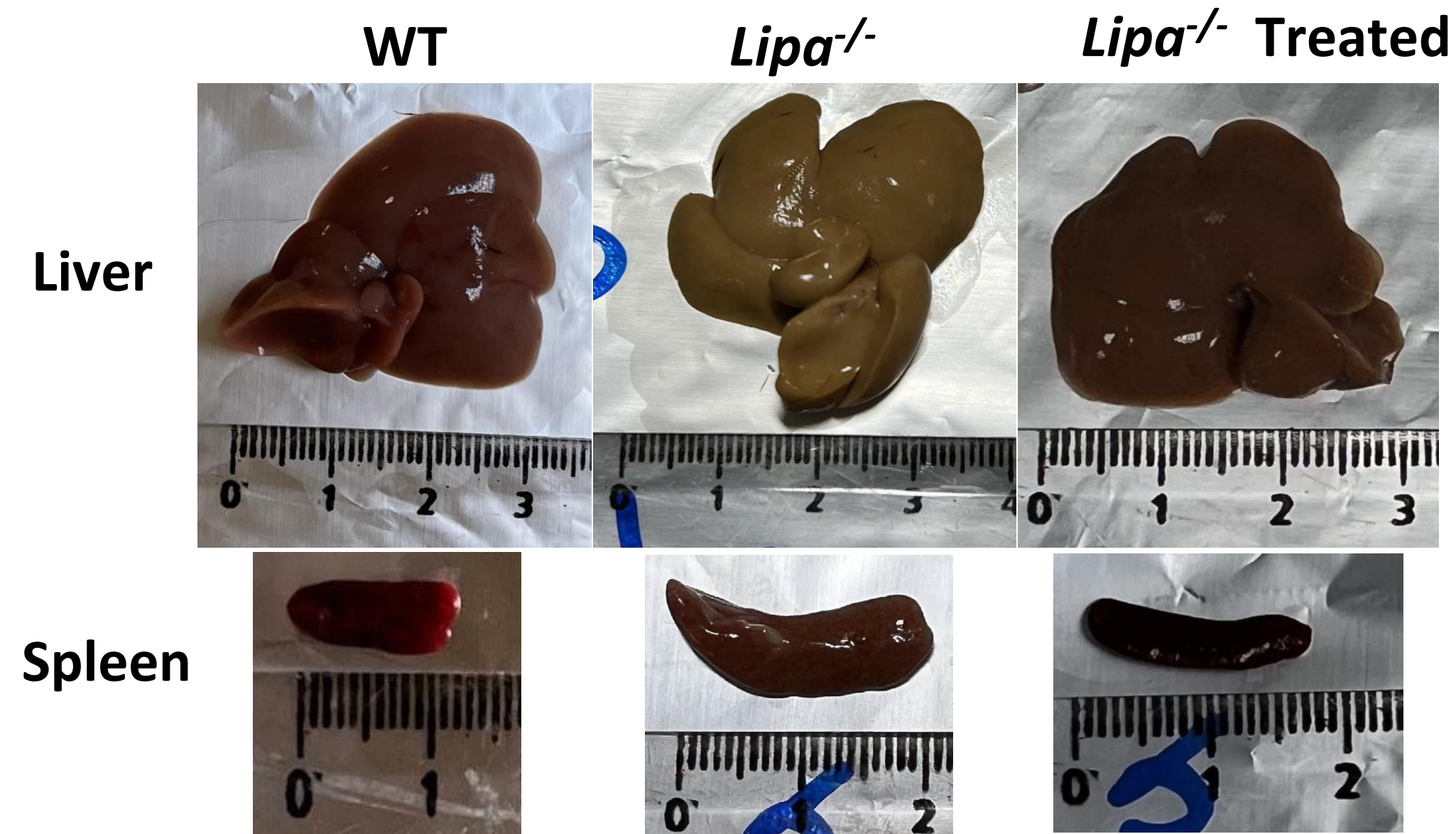
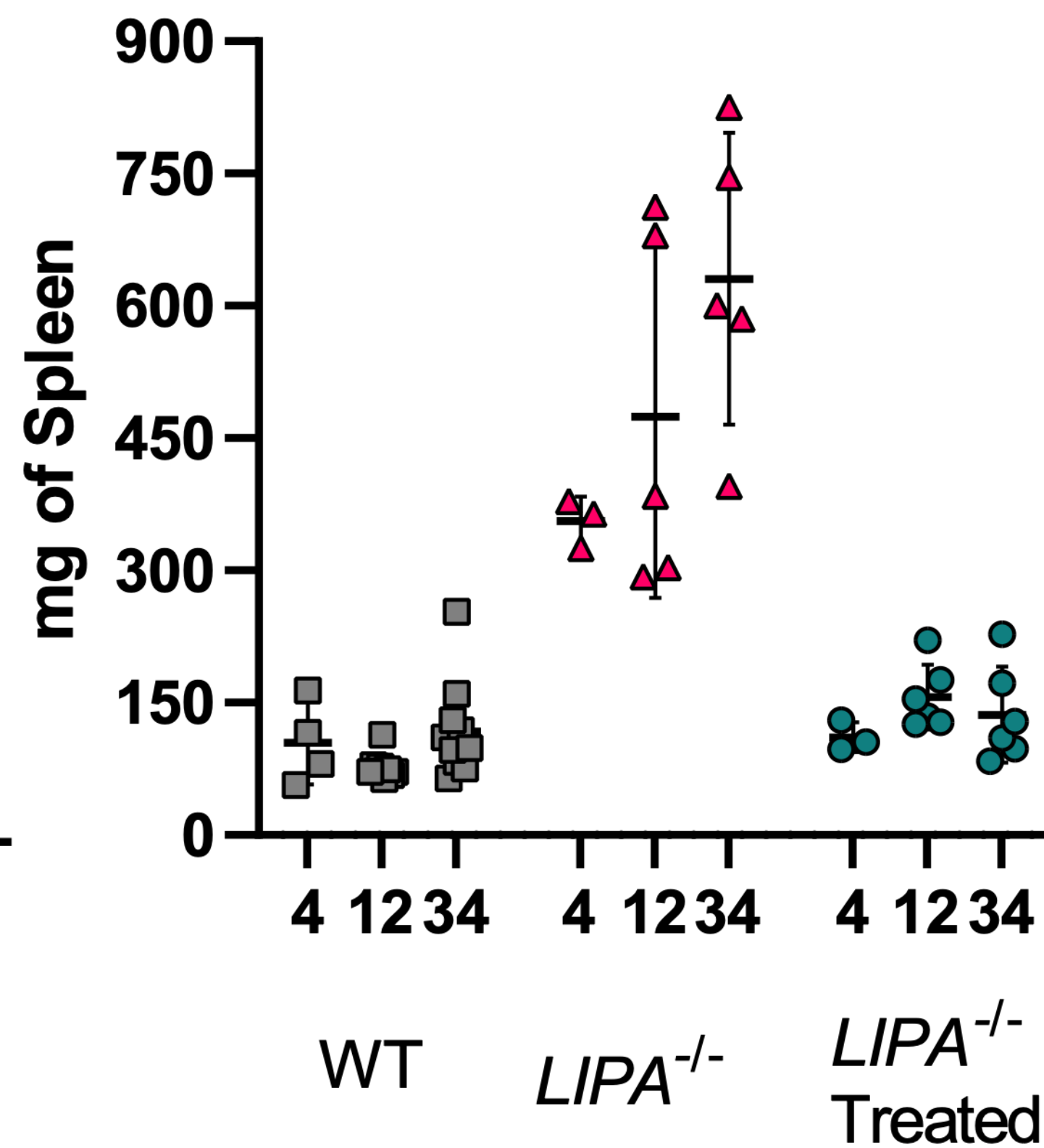


Normalization of hepatosplenomegaly

Liver weight



Spleen weight

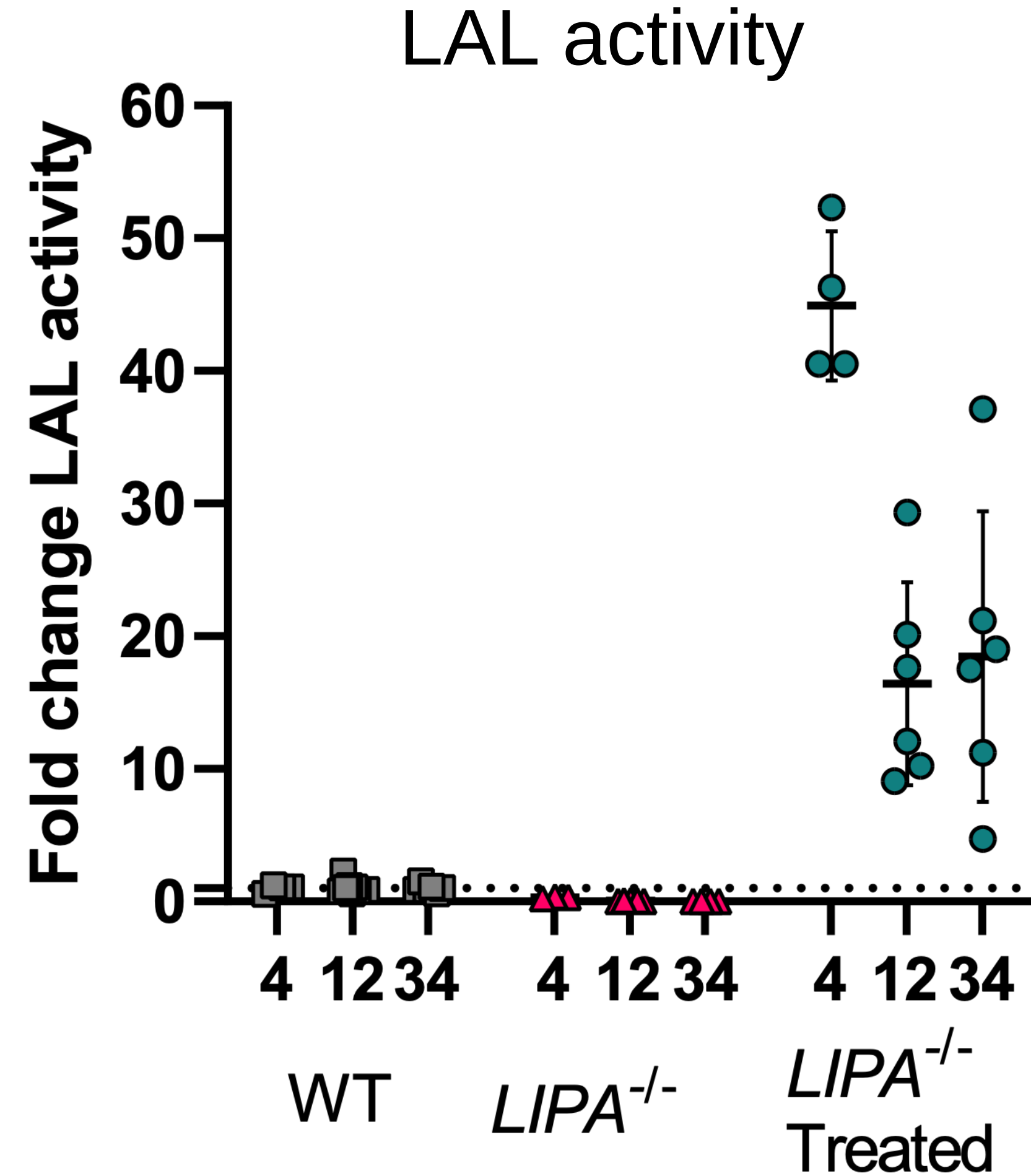
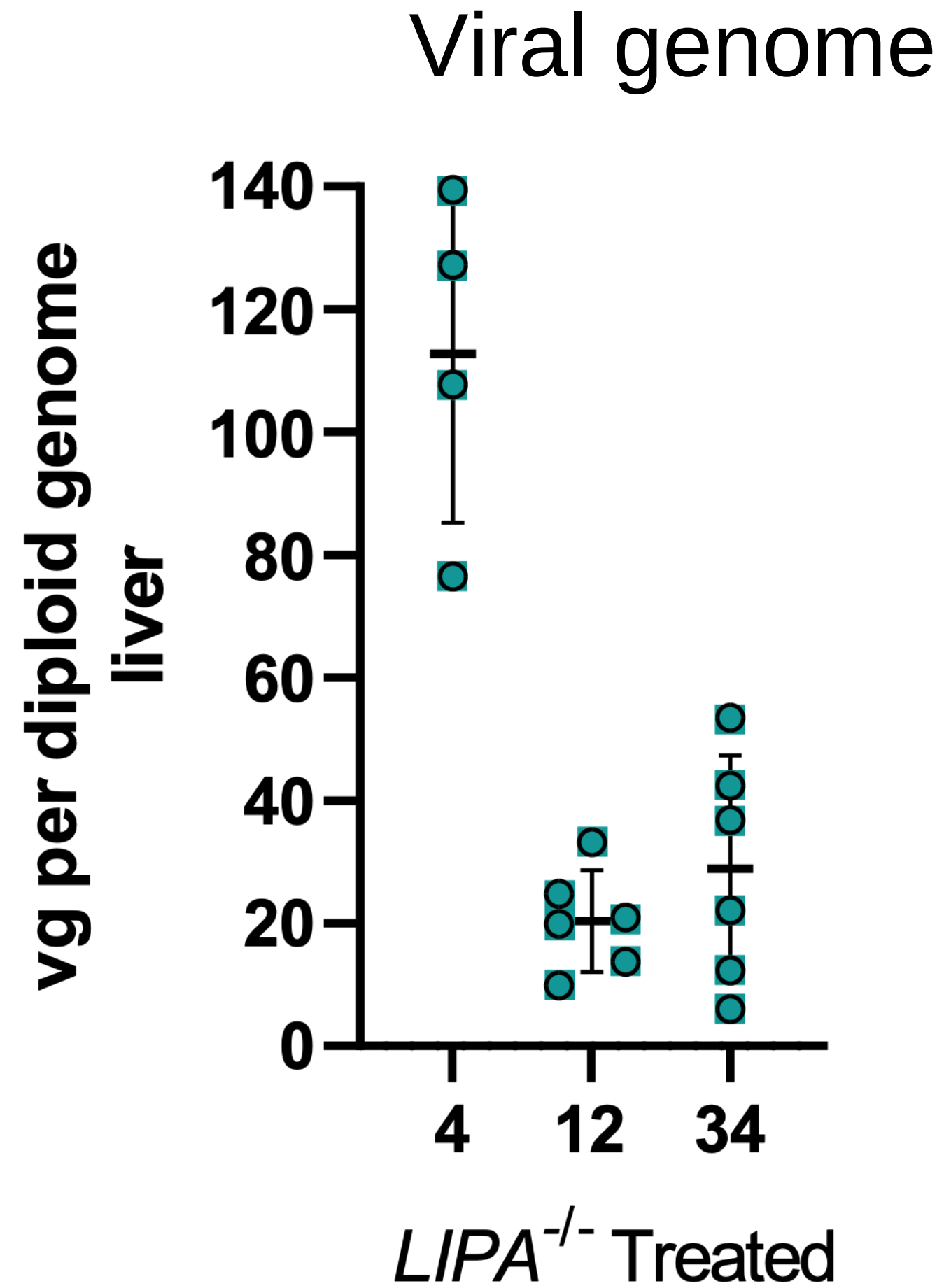


All data of $LIPA^{-/-}$ treated mice were significant different from $LIPA^{-/-}$ mice

➤ Hepatosplenomegaly and discoloration of $LIPA^{-/-}$ mice that are restored 4-weeks post-injection



Hepatic expression of LAL

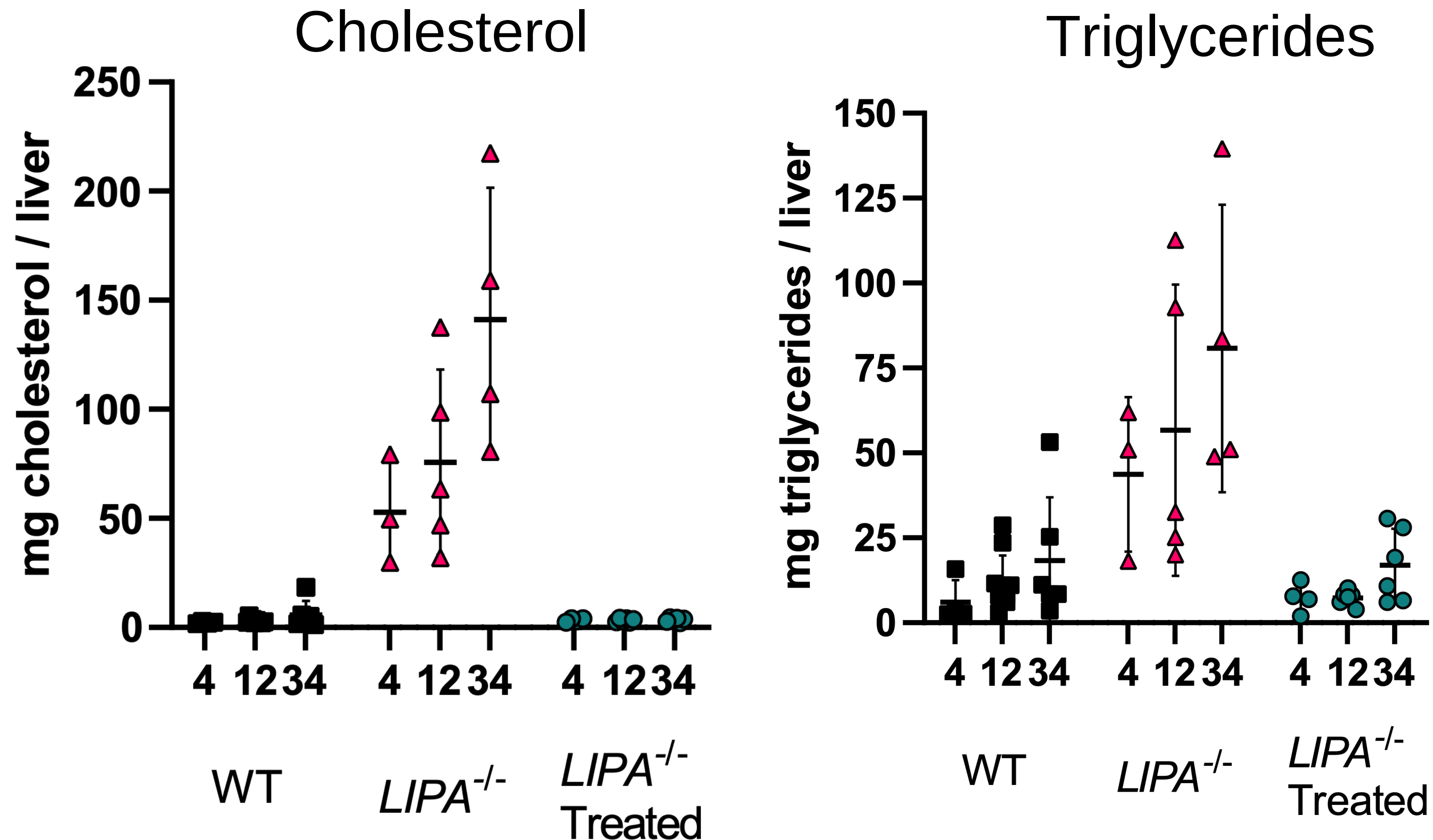


*All data of *LIPA*^{-/-} treated mice were significant different from WT & *LIPA*^{-/-} mice*

➤ 20 copies of vector in hepatocytes triggering LAL expression in liver



Decrease of lipid accumulation in liver



All data of $LIPA^{-/-}$ treated mice were significant different from $LIPA^{-/-}$ mice

➤ rAAV8 treatment decreases amount of accumulated lipids liver as well as in spleen, jejunum and thymus

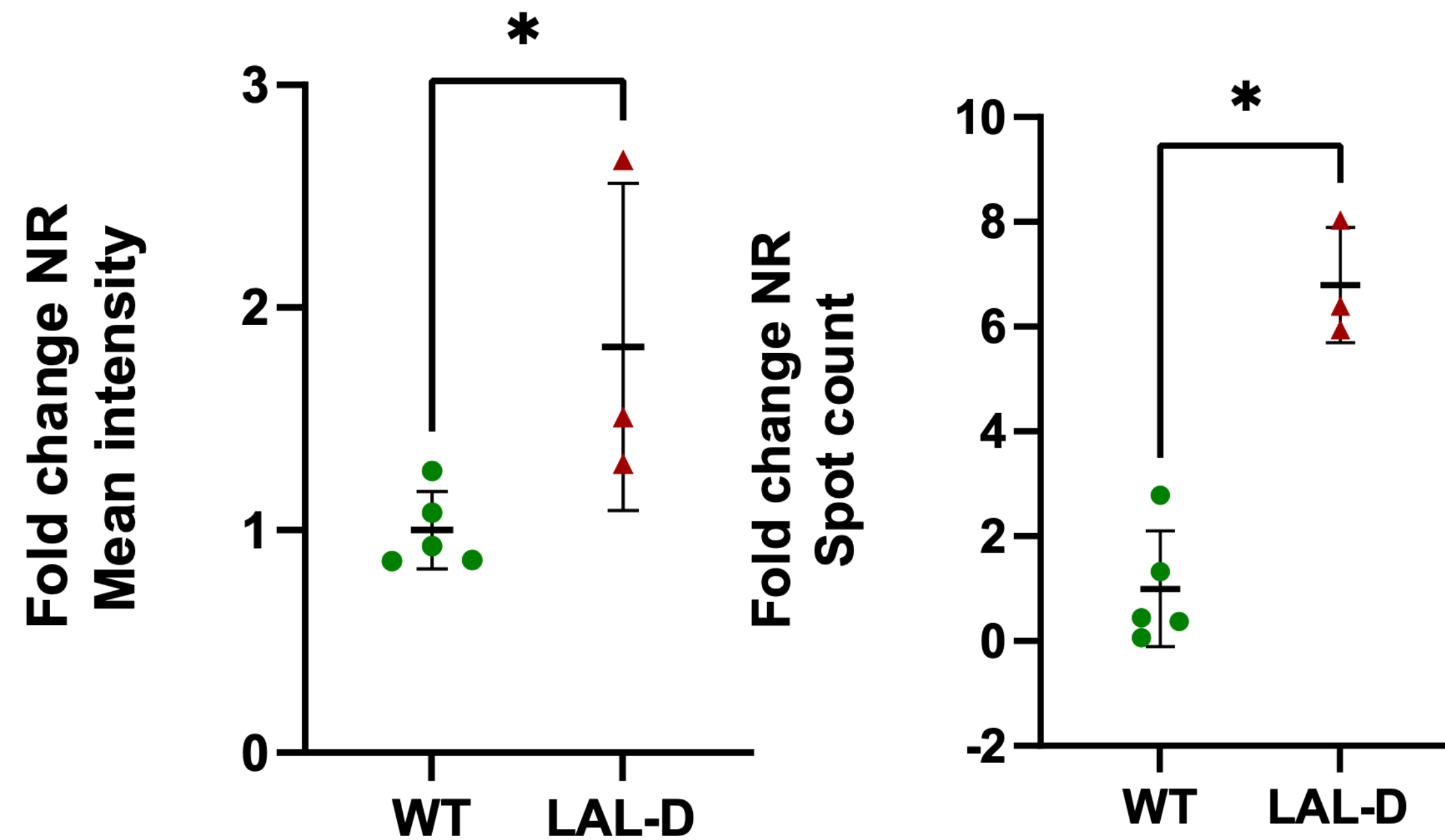
Déficit en lipase acide lysosomale

Étude GNT-019 Promoteur Généthon



- Étude non interventionnelle : évaluation des biomarqueurs lipidiques dans les cellules de sang de patients LAL-D
- Cytométrie de flux
- Objectif principal : Evaluer et comparer l'accumulation de vésicules lipidiques dans PBMC de patients LAL-D et de témoins
- Futur biomarqueur ? Intérêt suivi sous traitement , échappement thérapeutique

Nile Red analysis

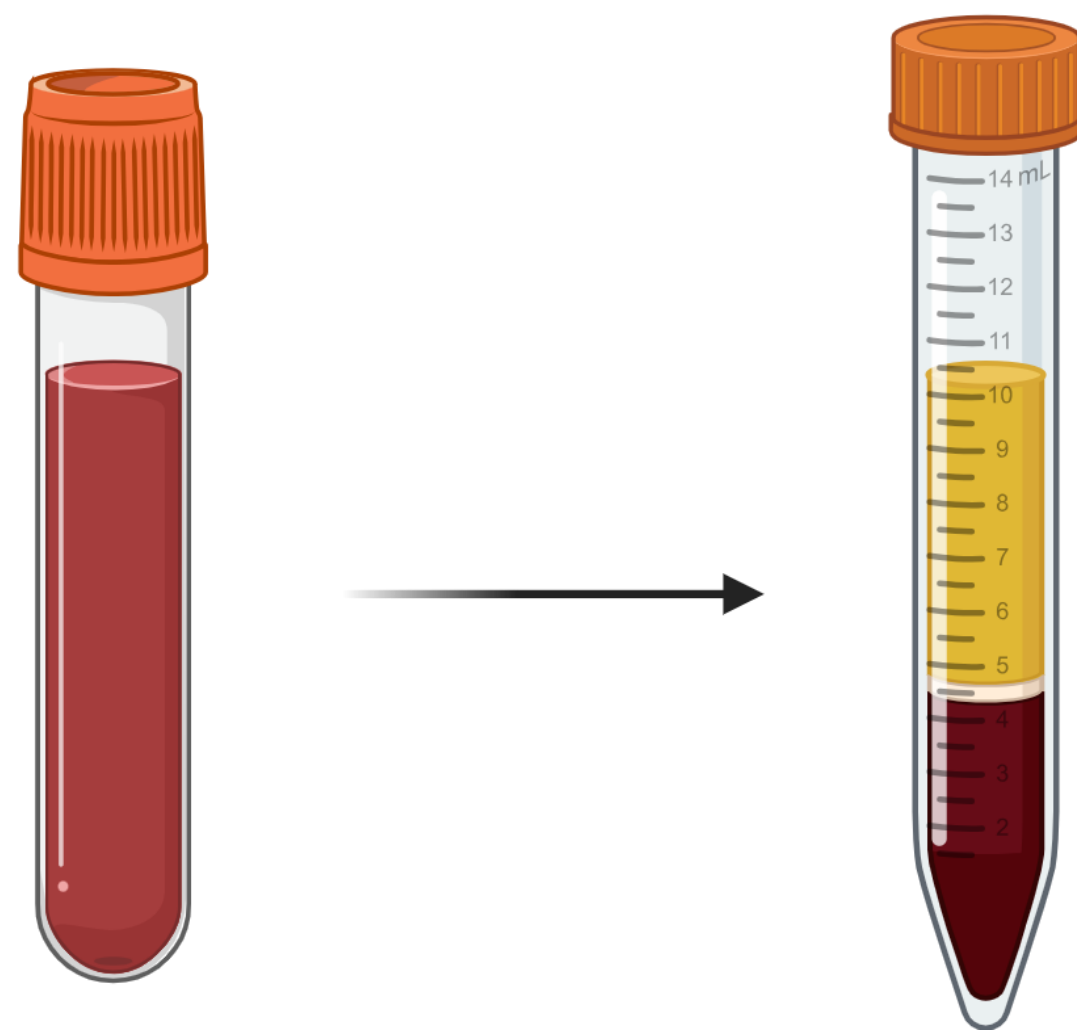


- Les souris LAL-D présentent une teneur en lipides plus élevée dans les PBMCs par rapport aux souris WT
- L'accumulation de gras augmente la granulosité des PBMCs

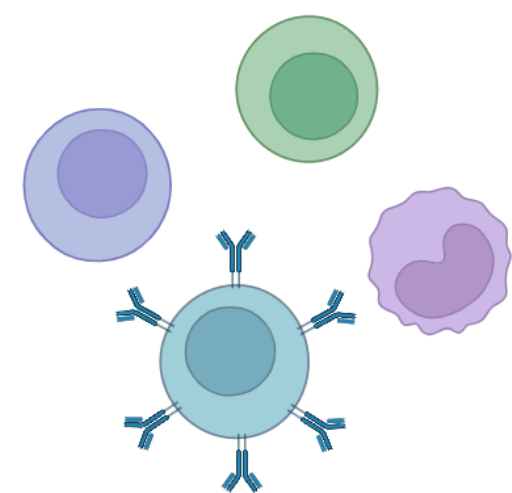


Plan expérimental

Marqueur de surface cellulaire : CD45



Blood from healthy donor (EFS) and WD/CESD patient EDTA tube



Nile Red

➤ Marqueur des lipides neutres : TG, CHOL & CE



Nile Blue

➤ Marqueur des acides gras libre insaturés (Boumelhem et al., 2022)

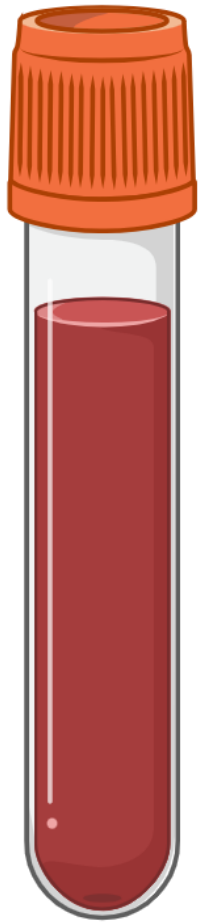


Bodipy

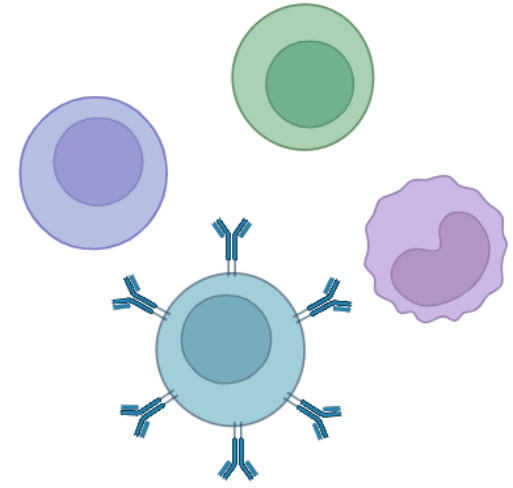
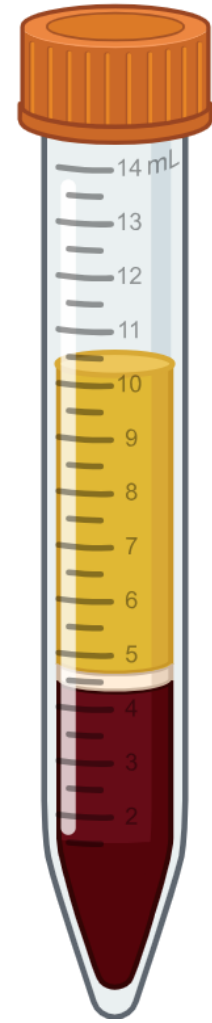
➤ Marqueur des lipides neutres : TG, CHOL & TG



Plan expérimental



Blood from healthy donor (EFS) and WD/CESD patient
EDTA tube



Nile red seul
CD45+ Nile Bleu
CD45+ Bodipy

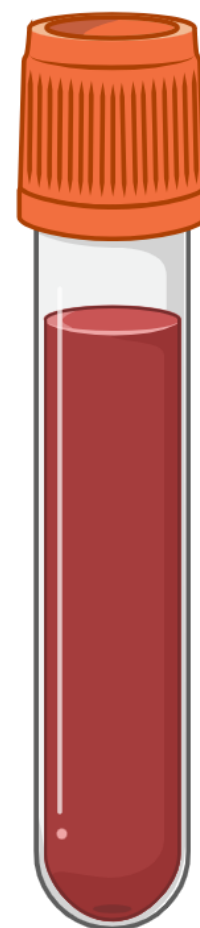


Intensité de fluorescence
Comptage des vesicules lipidiques



Prélèvement sang WD & CESD

WT donor from EFS



Patients :

WD01_2010 (n=3)

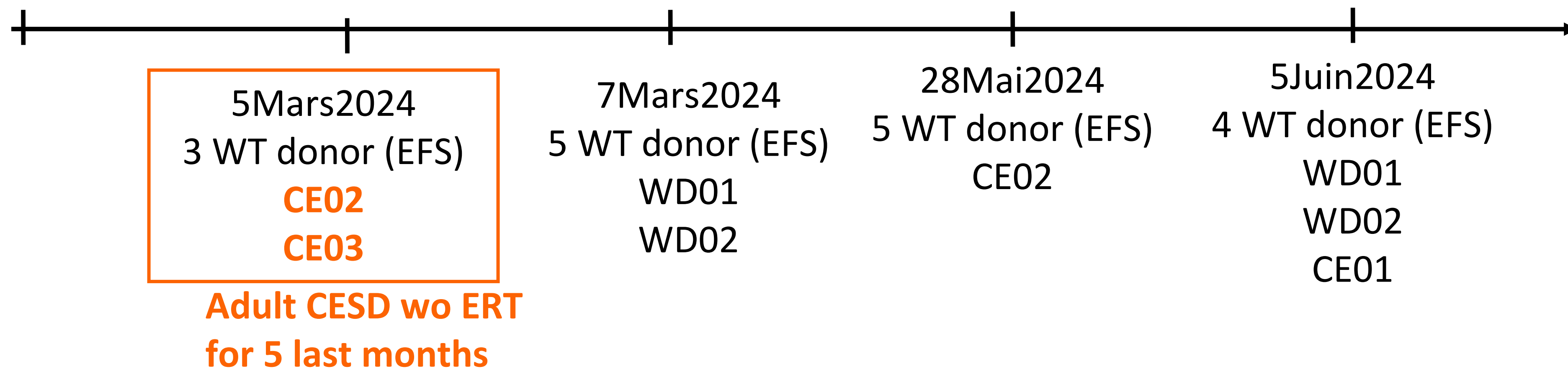
WD02_2019 (n=2)

CE01_2012 (n=2)

CE02_1991 (n=2)

CE03_1993 (n=1)

Prochains prélèvements en décembre 2024
Premières analyses Septembre 2024



Merci pour votre attention

Remerciements :

Généthon: Dr Mario Amendola et Dr Marine Laurent
Patients et familles
Aude Pion infirmière de coordination
Delphine Genevaz VML
Samira Zebiche