

## Les métabolites des acides gras polyinsaturés : de nouveaux marqueurs de la peroxydation lipidique d'avenir dans la recherche clinique

Cinzia Signorini,<sup>1</sup> Claudio De Felice,<sup>2</sup> Thierry Durand,<sup>3</sup> Camille Oger,<sup>3</sup> Valérie Bultel-Poncé,<sup>3</sup> Alexandre Guy,<sup>3</sup> Jean-Marie Galano<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Département de Physiopathologie, Université de Sienne, Italie

<sup>2</sup>Unité Néonatale de Soins Intensifs, Hôpital Universitaire (AOUS) de Sienne, Italie

<sup>3</sup>Equipe Synthèse de lipides bioactifs, Institut des Biomolécules Max Mousseron UMR 5247 CNRS/UM1/UM2, Faculté de pharmacie, Montpellier, France

Contact chercheurs :

Thierry Durand : [Thierry.Durand@univ-montpl.fr](mailto:Thierry.Durand@univ-montpl.fr) tel. : 04 11 75 95 30

Jea-Marie Galano : [jeangalano@yahoo.co.uk](mailto:jeangalano@yahoo.co.uk) tel. : 04 11 75 95 34

Camille Oger : [camille.oger@univ-montpl.fr](mailto:camille.oger@univ-montpl.fr) tel. : 04 11 75 9533

Institut des Biomolécules Max Mousseron  
UMR 5247 CNRS/UM1/UM2  
Equipe Synthèse de lipides bioactifs  
Faculté de Pharmacie – Batiment D 3<sup>ème</sup> étage  
15 avenue Charles Flahault BP14491  
F-34093 Montpellier cedex 05

---

Le syndrome de Rett (RTT) est une maladie génétique rare présentant plusieurs formes cliniques. Dans 95% des cas, elle se caractérise par une anomalie dans le gène MeCP2 situé sur le chromosome X. Elle affecte les filles, dont c'est une des principales causes de retard mental dans le monde avec 1/10000 naissances environ. Un trouble grave et global du développement du système nerveux central en découle et 4 stades ont été décrits. Un nourrisson porteur de la maladie a une croissance normale de sa naissance jusqu'à environ 6 mois, puis entre 6 et 18 mois, il développera les premiers signes cliniques visibles. Ce stade précoce (stade 1) est caractérisé par une régression rapide liée au développement de graves troubles neurologiques, psychomoteurs, gastriques, pulmonaires, une perte de contact avec les proches, et quelques fois des crises d'épilepsie. Les trois autres stades rendent compte du développement des handicaps générés après les effets dévastateurs du stade 1.

Les acides gras polyinsaturés (AGPI) sont une des cibles des attaques oxydantes radicalaires générées par les espèces oxygénées réactives. Notre domaine de compétence est la synthèse totale des métabolites oxygénés cycliques et non cycliques des AGPI. En 2010, nous avons réalisé la première synthèse totale des F<sub>2</sub>-dihomo-Isoprostanes (F<sub>2</sub>-dihomo-IsoP), (ent-7(RS)-F<sub>2</sub>-dihomo-IsoP et 17-F<sub>2</sub>-dihomo-IsoP) en utilisant notre dernière stratégie de synthèse.<sup>1,2</sup> En effet, ces F<sub>2</sub>-dihomo-IsoP sont formées *in vivo*<sup>3</sup> par peroxydation radicalaire de l'acide adrénique (AdA, C22:4 ω6), AGPI majoritaire de la myéline qui sert à isoler et à protéger les fibres nerveuses.

Au cours de nos travaux, menés en collaboration avec l'équipe du neuropédiatre italien spécialiste de cette maladie, Claudio De Felice (Unité néonatale de soins intensifs, Hôpital de Sienne, Italie), ces molécules ont été validées comme marqueurs spécifiques et précoces du syndrome de Rett.<sup>4</sup>

Les F<sub>2</sub>-dihomo-IsoP ont été dosés dans le plasma par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) par ionisation chimique en mode négatif. Après extraction de leur milieu biologique, ces molécules sont dans un premier temps dérivatisées, les 3 fonctions hydroxyles en éther de triméthylsilyle (TMS) et la fonction acide carboxylique en ester pentafluorobenzylique (PFB). Les ions ainsi mesurés sont caractérisés par une valeur de m/z=327. Ils proviennent de la perte de trois groupes TMSOH à partir de l'ion précurseur à m/z=597 [M-181]<sup>-</sup>, correspondant à la perte d'un PFB. Les molécules synthétiques (ent-7-(RS)-F<sub>2t</sub>-dihomo-IsoP et 17-F<sub>2t</sub>-dihomo-IsoP), dérivatisées dans les mêmes conditions opératoires, donnent accès aux mêmes ions (m/z=597 et m/z=327), permettant alors de doser les F<sub>2</sub>-dihomo-IsoP dans le plasma de patients atteints du syndrome de Rett.

Dans le stade 1, le taux plasmatique de F<sub>2</sub>-dihomo-IsoP est de 185,9 pg/ml (par rapport à celui d'un sujet sain de 0,8 à 1,2 pg/ml) pour diminuer au stade 2 à 3,75 ; au stade 3 à 2,65 et enfin au stade 4 à 2,53 pg/ml. Ces métabolites sont présents en quantité plus élevée dans les cas typiques de RTT par rapport aux variantes, avec une augmentation remarquable d'environ deux ordres de grandeur (x100) chez les patients au stade le plus précoce de la maladie (stade 1) suivie d'une baisse régulière au cours de la progression clinique naturelle.

Ces résultats montrent que les F<sub>2</sub>-dihomo-IsoP sont des marqueurs spécifiques de la dégradation de la myéline dans le stade 1 (0 à 18 mois) du syndrome de Rett.

Avec l'apparition des premiers signes cliniques, l'analyse du taux plasmatique en F<sub>2</sub>-dihomo-IsoP devrait permettre de confirmer très tôt la suspicion de RTT, alors que le diagnostic définitif prendrait plusieurs mois durant lesquels les effets délétères de la maladie continuent d'évoluer. Pouvoir agir dès le début du stade 1 donnera sans nul doute la possibilité de limiter les dégradations neurologiques irréversibles. De plus tant donné qu'aucun traitement efficace pour prévenir ou arrêter la maladie dans ses différentes variantes cliniques n'est disponible, ces F<sub>2</sub>-dihomo-IsoP peuvent fournir une meilleure compréhension des mécanismes pathogéniques de la régression neurologique chez les patients atteints de RTT.

Encouragés par ces résultats prometteurs, les effets thérapeutiques potentiels des AGPI  $\omega$ -3 ont été testés, et leurs propriétés d'antioxydants ont été démontrées avec des effets multiples, sur les symptômes cliniques et sur les taux de biomarqueurs du stress oxydant dans le premier stade du syndrome de Rett.

Un total de 20 patients (n=10 patients) ont reçu soit une supplémentation orale avec des AGPI  $\omega$ -3 d'huile de poisson (DHA C22:6  $\omega$ 3: 72,9  $\pm$  8,1 mg/kg/ jour ; EPA C22:5  $\omega$ 3: 117,1  $\pm$  13,1 mg / kg / jour; quantité totale en  $\omega$ -3 polyinsaturés : 246.0  $\pm$  27.5 mg / kg / jour) pendant six mois, ou aucun traitement (n=10 patients).

Les résultats observés sont des changements dans les symptômes cliniques, ainsi qu'une variation de cinq marqueurs du stress oxydant plasmatique, (F<sub>2</sub>-dihomo-IsoP, F<sub>3</sub>-IsoP, F<sub>4</sub>-NeuroP, et F<sub>2</sub>-IsoP) et/ou intra-érythrocytaire (NPBI Fer non lié aux protéines).

Une réduction significative de la manifestation des signes cliniques et du taux de tous les marqueurs du stress oxydant, a été observée dans le groupe de patients supplémentés en AGPI  $\omega$ -3, alors qu'aucun changement significatif n'a été mis en évidence dans le groupe non traité.<sup>5</sup>

Pour la première fois, ces résultats suggèrent fortement qu'une intervention diététique dans cette maladie génétique à un stade précoce de son histoire naturelle peut conduire à une restauration partielle des signes cliniques et biochimiques.

Grâce à la synthèse organique de ces F<sub>2</sub>-dihomo-IsoP, réalisée au sein de l'Institut des Biomolécules Max Mousseron, le Professeur Claudio De Felice a montré que ces métabolites de l'AdA, peuvent être détectés dans le plasma des malades atteints du syndrome de Rett. Cette collaboration entre chimiste, biochimistes et cliniciens a permis d'obtenir des résultats directement exploitables en clinique : d'une part, l'utilisation pertinente et significative des F<sub>2</sub>-dihomo-IsoP comme marqueurs précoces et d'autre part la diminution des troubles neurologiques observés au stade 1 du syndrome de Rett après supplémentation en AGPI ω-3 d'huile de poisson.

Ces travaux ont fait l'objet de publications dans *Journal of Lipid Research ; Genes and Nutrition* et *European Journal of Organic Chemistry*.

#### Références:

1- Stereocontrolled access to isoprostanes via a bicyclo[3.3.0]octane framework

C. Oger, Y. Brinkmann, S. Bouazzaoui, T. Durand, J.-M. Galano.

Org. Lett. 2008, **10**, 5087-5090.

2- Total syntheses of isoprostanes derived from AdA and EPA

C. Oger, V. Bultel-Poncé, A. Guy, T. Durand, J.-M. Galano.

Euro. J. Org. Chem. 2012, sous presse.

3- F<sub>2</sub>-Dihomo-isoprostanes arise from free radical attack on adrenic acid

M. VanRollins, R. L. Woltjer, H. Yin, J. D. Morrow, T. J. Montine.

Journal of Lipid Research, 2008, **49**, 995-1005.

4- F<sub>2</sub>-Dihomo-isoprostanes as potential early biomarkers of lipid oxidative damage in Rett syndrome

C. De Felice, C. Signorini, T. Durand, C. Oger, A. Guy, V. Bultel-Poncé, J.-M. Galano, L. Ciccoli, S. Leoncini, M. D'Esposito, S. Filosa, A. Pecorelli, G. Valacchi, J. Hayek.

Journal of Lipid Research, 2011, **52**, 2287-2297.

5- Partial rescue of Rett syndrome by ω-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) oil.

C. De Felice, C. Signorini, T. Durand, L. Ciccoli, S. Leoncini, M. D'Esposito, S. Filosa, C. Oger, A. Guy, V. Bultel-Poncé, J.-M. Galano, A. Pecorelli, L. De Felice, G. Valacchi, J. Hayek.

Genes and Nutrition, 2012, sous presse.