Aspects Génétiques des Maladies Neuromusculaires

On commence par un petit rappel sur les différents types de mutations :

- **Ponctuelle:** variation sur **un** nucléotide => faux-sens ; non-sens
- **Délétion :** variation sur un ou plusieurs nucléotides voir plusieurs exons en phase ou non => décalage du cadre de lecture amenant à un codon stop prématuré

I) Les différents modes de transmission

Tous les gènes sont en deux copies (sauf ceux sur les chromosomes X et Y) = 2 allèles d'un gène. Chaque parent va transmettre une copie à son enfant ce qui fait 4 combinaisons possibles (++), en fonction du caractère récessif ou dominant, les risques ne seront pas les mêmes.

A) Maladies de transmission autosomiques dominantes

Pour ces maladies, il suffit qu'une copie des deux gènes soit porteuse d'une mutation pour que la maladie s'exprime. C'est le cas pour la Maladie de Steinert, Maladie de Charcot-Marie IA, Dystrophie Facio-Scapulo-Humérale (maladie avec une répétition et un délétion sur cette même répétition).

On a ici un mode de transmission vertical avec un risque sur deux à chaque génération, et pour ces pathologies dominantes, les femmes sont autant touchées que les hommes.

Il y a cependant quelques nuances avec des notions tel que la : Pénétrance incomplète, une expressivité variable, le phénomène d'anticipation, les mutations de Novo, ainsi que le mosaïcisme germinale.

La Pénétrance :

Quand elle est **complète :** Tous les patients porteurs de la mutation développeront la maladie.
Quand elle est **incomplète :** il peut y avoir des patients qui portent la mutation et ne jamais exprimer la maladie.

Cela peut se voir dans les maladies comme les paraparésies spastiques ou plus rarement les ataxies cérébelleuses. Exemple de maladie à la pénétrance devenant complète tardivement : la maladie de Huntington. Dans les maladies NM il y a certaines myopathies dominantes où il y a des patients qui sont asymptomatiques (rare !!). Tant que l'on n'a pas fait l'analyse génétique, on a une impression de « saut de génération » (la clinique a elle seule ne permet pas un diagnostic certain).

L'Expressivité Variable :

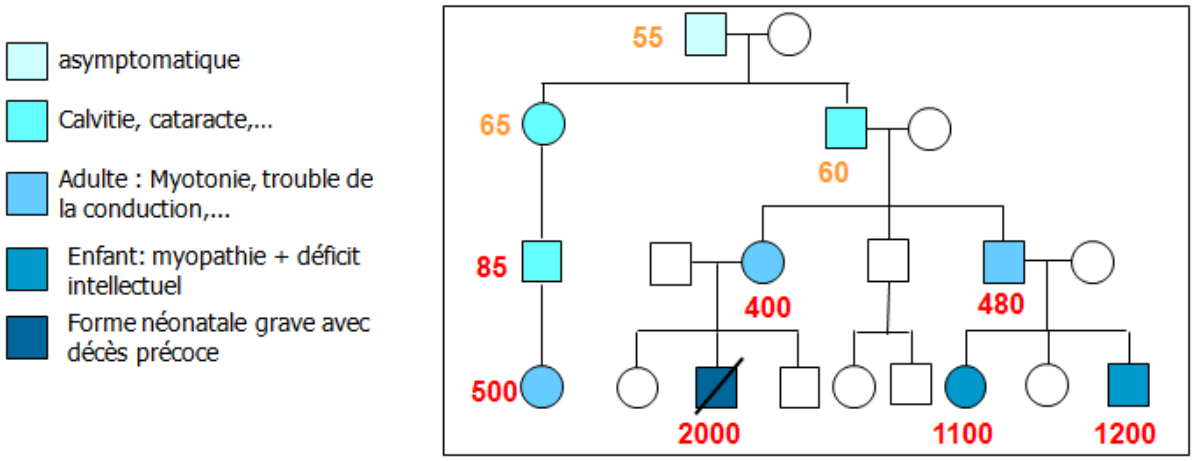
Ici, on est porteur d'une mutation et on va exprimer différemment la maladie : soit le **Degré de sévérité** de la maladie va être variable, soit **tous les signes cliniques** ne sont pas systématiquement présents. Notamment dans certaines myopathies associées à des atteintes cardiaques, dans une même famille on va en avoir avec une atteinte C et d'autres non : c'est ca l'expressivité variable.

L'expression de la maladie peut aussi varier selon le sexe du parent atteint qui va transmettre la maladie (comme dans la dystrophie myotonique de Steinert). Ce sont les femmes qui risquent de transmettre la forme congénitale (forme grave) de la maladie qui débute en période néonatale, voir parfois en anténatale, avec les arthrogryposes ?.

Un mot sur une MNM qu'est le ***syndrome d'immobilisme fœtal :*** les fœtus ne bougent pas et ils ont les articulations bloquées (mains et pieds « bots »). C'est souvent un signe d'immobilité donc soit une myopathie, soit une amyotrophie spinale (assez rare) car quand elle s'exprime avant la naissance ca peut donner une arthrogrypose ? (8emin), soit la maladie de Steinert. Dans le bilan systématique, quand on a une grossesse où on détecte ce genre d'anomalies, on va tester ces maladies en anténatales.

Mutation Instable avec un phénomène d'Anticipation :

On va illustrer cette nuance avec la maladie de Steinert (= dystrophie myotonique de type 1). C'est une maladie avec un phénomène d'anticipation : il y a une mutation instable à savoir un codon qui se répète un certain nombre de fois. La norme est >40, prémutés : 50-80, mutés >80.



On va avoir des arrières grands-parents asymptomatiques puis au fur et à mesure des générations, l'apparition progressive de signes cliniques tout d'abord minimes (cataracte, calvitie, diabète). Puis de plus en plus sévères lors des transmissions aux enfants : avec une forme infantile (donc avec un faible nombre de répétition qui peut être transmis par le père ou la mère) avec un retard mental des difficultés scolaires, une myopathie (le phénomène de myotonie n'apparaît pas toujours dans l'enfance d'où un diagnostic des fois difficile chez les enfants que l'on va plutôt faire chez les parents).

Rmq : il faut faire la distinction avec la forme congénitale : forme grave au dessus de 2500 répétitions (l'homme ne transmet pas de forme à plus de 1500 répétitions) où l'enfant décède dans les 1eres années de vie, qui ne sera transmise que par la mère.

Pathologie qui s'exprime selon 4 formes cliniques qui diffèrent par l'âge de début (et la sévérité) et dont la gravité de la maladie est fonction **du nombre de répétition** (nombre de répétitions de triplets CTG même si caa ne reste pas une règle en soit) :

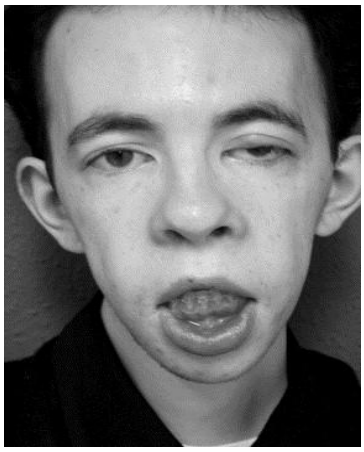
- **Bénigne** (entre 50 et 150 repét) : asymptomatique, calvitie, cataracte
- **Adulte** (entre 300 et 1000) : myotonie et trouble de la conduction
- **Juvénile** (entre 1000 et 1500) : atteinte musculaire plus discrète / ++ atteinte cognitive et comportementale
- **Néonatale** (>1500) : grave avec décès précoce : arthrogryppose, retard mental, décès précoce

Question *: pourquoi la femme transmet elle plus de répétition ?*

R *: cette mutation est instable et il y a d'autres facteurs qui rentrent en compte mais on ne sait pas vraiment pourquoi. En dessous de 400, l'homme va amplifier plus (alors que la femme ne va pas beaucoup amplifier). Mais passer ce cap des 400, à l'instabilité s'ajoute des phénomènes de méthylation qui se rajoutent quand la femme transmet et on arrive rapidement à des répétitions supérieures à 1500.*

Cette maladie commence vers l'âge de 30ans et l'on va retrouver comme signes cliniques :

- **Myotonie** : *lenteur anormale et indolore à la décontraction musculaire que l'on retrouve surtout au niveau des mains* (on va serrer la main du patient)
- **Déficit musculaire** : faciès sympathique (ptosis, sourire transversale, visage figé et très peu expressif avec une hypotonie au niveau de la bouche « avec celle-ci souvent entre ouverte »)




- **Troubles du rythme et/ou de conduction cardiaque** (important de les détecter : risque de mort subite ++) -> formes asymptomatiques sont moins à risque
- **Cataracte**
- **Atteinte endocrinienne** (diabète, hypogonadisme, azoospermie)
- **Troubles neurologiques centraux** (hypersomnie, troubles cognitifs)

- **Calvitie précoce**

Cette pathologie présente une évolution lente et progressive jusqu'à la dégradation qui peut être rapide et une mortalité accrue (notamment par complications pulmonaires et cardiaques).

Au niveau de la génétique, on a :

- Une transmission autosomique dominante avec un **phénomène d'anticipation** (d'où l'importance du conseil génétique bien que délicat de part la grande variabilité d'expression clinique inter- et intrafamiliale)
- Une **Transmission maternelle des formes très grave néonatales** : ++ diagnostic prénatal

Les mutations de novo :

Il y a certaines maladies dominantes et il faut bien que ça commence par quelqu'un (généralement soit on a une maladie qui se transmet de génération en génération, soit la maladie apparaît chez un individu ou la parenté précédente). Et donc on n'a pas forcément ces familles avec une transmission verticale. Il suffit d'avoir deux générations pour l'évoquer. Puis quelques fois on a un cas sporadique (apparition donc de cette mutation de novo). Ici, pas de risque pour les autres apparentées mais un risque de 50% chez la descendance. Cela peut se voir dans certaines myopathies telles que la neurofibromatose de type 1, la sclérose tubéreuse de Bourneville.

Q : la mutation de novo apparaît elle dans les cellules germinales ?

R : En fait c'est très difficile. On va prendre l'exemple de la maladie de Duchenne qui est une maladie transmise par le chromosome X. Il faut savoir que ces mutations de novo sont assez fréquentes. Donc cette mutation est survenue soit au stade embryonnaire (donc là pas de risque de récurrence pour un autre enfant du couple). Par contre on n'a pas les moyens de déterminer où ça c'est passé. On va faire le test chez les parents, si on ne trouve pas la mutation (en l'occurrence dans le Duchenne, on va le faire que chez la mère puisque c'est le chromosome X) cela ne veut pas dire qu'elle n'est pas présente au niveau des ovocytes. Donc on n'a pas de moyens de déterminer si cette mutation est survenue au stade embryonnaire ou dans les ovocytes (avec ici un risque de récurrence de 10 à 15%). C'est ce que l'on appelle le mosaicisme germinal.
Donc dans les ovocytes, pour les maladies liées à l'X (mais dans les maladies dominantes liées à l'autosome caa va être dans les ovocytes soit dans les spz), on va avoir une population avec mutation et une autre sans. Le risque est pas de 50%, mais entre 0 et 50 et on a malheureusement pas les moyens de le déterminer donc on propose en systématique par précaution : un diagnostic pré-natal.

Concernant ce mosaicisme germinal, il est lié à la présence de deux populations de cellules, l'une étant porteuse d'une mutation, l'autre non. Il sera important de le prendre en compte notamment pour la transmission.

B) Maladies de transmission autosomiques récessives

Pour que la maladie s'exprime, il faut qu'il y est deux copies du gène (les deux allèles) soient porteuses de la mutation. Les maladies les plus fréquentes étant :

- L'amyotrophie spinale infantile (+++ fréquente avec un risque de récurrence important pour les apparentés)
- l'ataxie de Friedreich : ataxie cérébelleuse avec neuropathie périphériques (maladie relativement fréquente qu'il faut garder en tête pour l'enquête familiale en recherchant les couples à risque d'avoir un enfant malade)
- ou encore les maladies métaboliques.

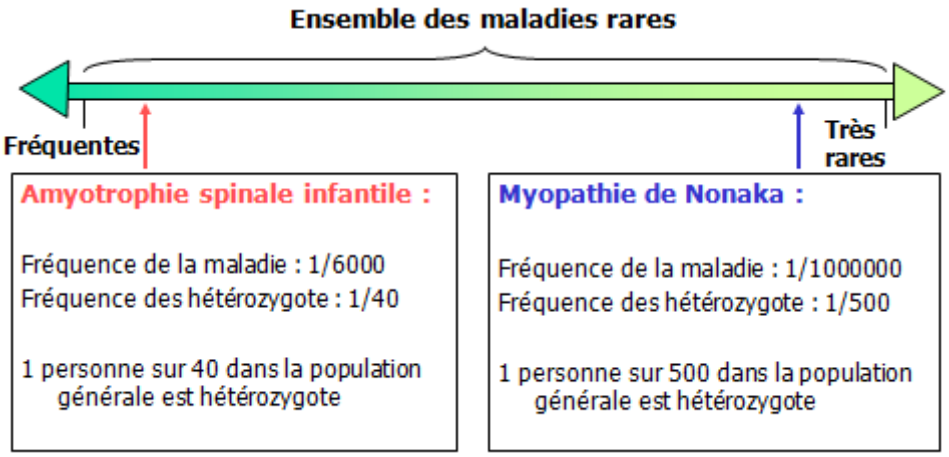
Dans tous les cas, il est important **d'identifier le risque de part la rareté de leur apparition.**

Donc, lorsque la maladie est autosomique récessive, il faut que les 2 chromosomes transmis portent un même gène non fonctionnel pour que la maladie s'exprime. Les parents sont indemnes et hétérozygotes (le plus souvent mais à confirmer par une prise de sang), le risque est de 25% de transmettre la maladie à chaque enfant (touche 1 fratrie). Touche également les deux sexes.

Le risque pour les couples apparentés va être fonction de :

- **la Fréquence de la maladie** (dépistage ++)
  ➔ détermine la fréquence des hétérozygotes dans la population générale
  ➔ Et donc la probabilité que le conjoint soit hétérozygote
- **la Fréquence de la maladie** (ou de certaines mutations en fonction des origines géographiques, exemple des myopathies maghrébines ou gamma-sacroglycanopathies)
- **La Consanguinité :** union de sujets apparentés (plus de risque d'être porteurs du même allèle récessif originaire d'un ancêtre commun et notamment dans les pathologies rares)

Illustration de la fréquence des pathologies :



Les transmissions récessives liées à l'X

Ici les femmes sont porteuses mais n'expriment pas la maladie donc conductrice avec un risque de 50% d'avoir un garcon malade et une fille conductrice. C'est le cas pour la myopathie de Duchenne et Becker ou encore la myopathie d'Emery-Dreyfuss .

Quelques femmes sont conductrices et ce qui va amener à l'expression de la maladie, c'est un 2e évènement (homozygotie, syndrome de turner, X inactivée).

Q : L'inactivation concerne elle tout le chromosome ou seulement le gène ?
R : Elle concerne tout le gène. Chez les filles, on retrouve un *degré* d'inactivation d'un des deux chromosomes X. Cette inactivation complète n'apparaît qu'avec des maladies.

Donc : Les chromosomes sexuels X et Y déterminant le sexe de l'enfant, la maladie va s'exprimer seulement chez les garçons. Alors que les femmes sont conductrices (elles transmettent le chromosome X porteur du gène non fonctionnel).

Les transmissions dominantes liées à l'X

Trait porté par des gènes du chromosome X qui se manifeste chez les hommes et chez les femmes (qui pourront dans ce cas être conductrices et/ou symptomatiques). Pathologie très rares où l'on retrouve : Charcot-Marie-Tooth dominante liée à l'X, Déficit en Ornithine transcarbamylase.

Rmq : les femmes sont symptomatiques mais à un moindre degré vis-à-vis des garçons où le phénotype est généralement catastrophique avec des décompensations à type de comas par exemple et des décès souvent précoces. Tandis que les femmes vont avoir un dégout par rapport aux protéines animales (provocant des douleurs abdominales et de la somnolence). Ce sont des femmes de petite taille et auront de petits symptômes musculaires.

Les transmissions maternelles liées à l'ADN Mitochondrial :

Dans cette transmission les hommes et les femmes sont (souvent) atteints de la **même manière** avec une **transmission uniquement par les femmes** (aucune transmission père – enfant : différence avec les maladies liées à l'X où le père peut transmettre à la fille mais pas aux garçons).

Petit rappel sur la mitochondrie :

Présente dans le cytoplasme de la cellule, on en retrouve plusieurs dans la cellule. Elle présente sur ça membrane la chaîne respiratoire mitochondriale qui est déficitaire dans les maladies mitochondriales. Elle possède différents éléments dont plusieurs molécules d'ADN mitochondriales. Etant en grand nombre dans la cellule, ce qui va être important des ces maladies mitochondriales c'est le taux de mitochondries mutées. Lorsqu'un certain seuil est dépassé, la maladie va s'exprimer. Cependant il faut faire la distinction avec les maladies qui sont liées à une anomalie d'un gène nucléaire ayant une fonction sur la CRM.

Ce qu'il faut retenir avec les maladies mitochondriales c'est qu'elles :

- Peuvent survenir à n'importe quel âge
- S'exprimer de n'importe quelle facon : un ou plusieurs organes (hétérogénéité clinique)
- Peuvent avoir tous les modes de transmissions possibles

Exemple de phénotype de maladie mitochondriale : **Fatigabilité à l'effort**

« Patient montant un escalier et ne pouvant plus rien faire après ». Cette fatigabilité à l'effort va leur donner des douleurs musculaires, essoufflement, dyspnée, et quelque fois vomissement (pas forcément pour un effort très intense). Maladie NM très difficile à diagnostiquer parce que les signes cliniques ne sont pas spécifiques et au niveau des examens complémentaires : les enzymes musculaires ne sont pas forcément augmentées. Il faut passer par la biopsie musculaire pour mettre en évidence des FRR, COX – ou une surcharge en lipides.

Autre signe évocateur d'une maladie mitochondriale : l'**Ophtalmoplégie Progressive Externe Chronique (CPO):**

➔ Peut commencer à l'adolescence ou à 70ans ! C'est un ptosis (UNI ou BI-latéral) et progressivement une paralysie occulomotrice (*on a des personnes qui ne vont plus pouvoir regarder ni à droite ni à gauche ou en haut et en bas : on a un regard fixé*). L'apparition est tellement progressive que la diplopie (vision double) n'apparaît pas.

On parle de myopathie oculaire (les muscles périorbitaires sont les muscles les plus sensibles à un déficit de la CRM donc vont être les 1er à être touchés). Ce signe là peut être associé à pleins d'autres signes. Et un phénotype très évocateur d'une pathologie mitochondriale, c'est : **CPO associé à une neuropathie sensitive et une dysarthrie.**

II) Intérêts et Limites des Analyses génétiques

A l'heure actuelle, nous n'avons pas encore accès à une thérapeutique curative (bien que les progrès en matière de thérapie génique soient encourageants), alors quels sont les intérêts pour le patient d'avoir recours à une analyse génétique ?

1- Mettre enfin un nom sur sa maladie

2- Bénéficier d'une prise en charge optimale et adaptée

3- Accéder à un conseil génétique fiable

4- Être éventuellement inclus dans des essais thérapeutiques

5- Pour faire progresser les connaissances sur la maladie

Révision et Précision du diagnostic

- **Pourquoi un diagnostic peut-il être erroné ou imprécis ?**

➔ De part la **similitude clinique** avec une autre maladie ou tout simplement l'atypie de la symptomatologie (ou encore de part l'évolution clinique avec le temps)
➔ Par **l'absence à l'époque de technologies** modernes d'analyse ou **l'indisponibilité** des tests génétiques
➔ Gène lié à la maladie **non encore identifié** du diagnostic ou **difficile à étudier** (très grand et/ou très complexe)

Il reste important d'établir un diagnostic (moléculaire) **précis** de ces maladies génétique notamment par l'identification de l'anomalie génétique. La certitude diagnostique permettant ainsi une **prise en charge adaptée** et la mise en place d'un **conseil génétique**

Quel est le but du conseil génétique ? INFORMER

- du risque de transmettre la maladie à sa descendance ou aux enfants à venir
- le risque pour les autres membres de la famille

Importance de ce diagnostic car un nouveau diagnostic entrainera un **conseil génétique différent** pour la famille. Ce diagnostic va permettre de proposer :

- un Diagnostic **prénatal** ou **préimplantatoire**
- Diagnostic **symptomatique** rapide (ex : pour un membre de la famille commençant à développer des signes cliniques)
- Diagnostic **présymptomatique**

Eléments nécessaires au Conseil génétique :

Il va être établi en fonction de tout ce que l'on vient d'aborder. Les notions de mode de transmissions (autosomique dominante, récessive, lié à l'X…) et les nuances (mosaicisme germinal, mutation de novo..) qui sont plutôt spécifiques aux maladies dominantes. Le conseil génétique reste **spécifique** pour **chaque maladie génétique** (voir pour chaque famille).

III) Les difficultés et les limites de la génétique

Tout d'abord ce sont des analyses généralement **longues** (bien qu'elles puissent être rapides comme dans le cadre de l'amyotrophie spinale où l'on peut rendre le résultat en 3j si degré d'urgence il y a). En général, le résultat arrive entre 1 et 2mois après la demande. De plus, les laboratoires sont **spécialisés** (tous les laboratoires ne font pas toutes les analyses).

Ensuite, il y a encore deux possibilités :

- Soit les tests génétiques sont **facilement accessibles,** et une **simple prise de sang** suffit comme dans le cadre de l'Amyotrophie spinale infantile, Maladie de Steinert, ou la myopathie FSH
- Soit **un nouveau bilan complet** est nécessaire pour **orienter le test génétique :** +/- EMG, dosages sanguins (enzyme musculaire), imagerie (IRM cérébral pour certaines myopathies où l'on a des leucodystrophies) et biopsie musculaire

Les répercussions :

- **Anxiété** (attente des résultats et peur de l'annonce)
- **Déception** (reste des incertitudes, pas toutes les réponses, pas de traitement curatif)
- **Conseil génétique** (conséquence pour les enfants voir les petits-enfants)

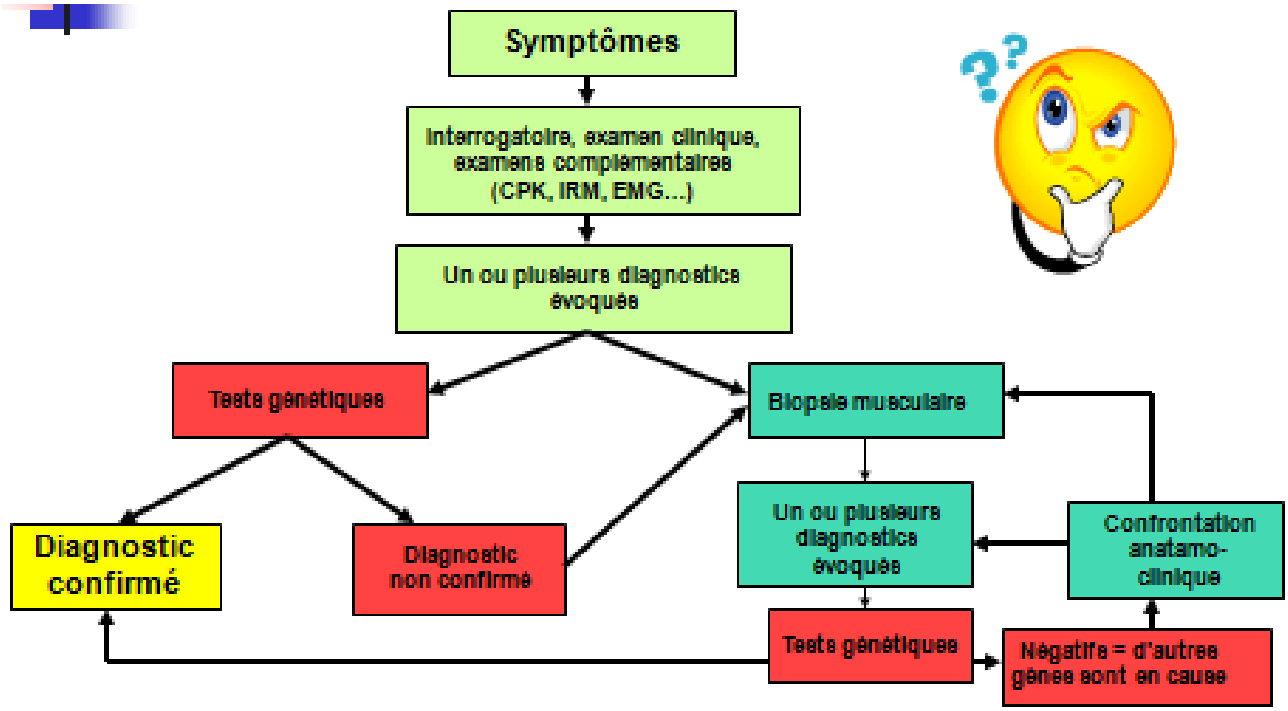
Les limites des analyses génétiques :

- **Jusqu'où aller dans la précision ?** Ex : *Amyotrophie spinale proximale* (=infantile)
  Précision: délétion du gène *SMN1* => Degré de gravité ? Nombre de copies du gène *SMN2*

> **Petit rappel sur l'ASI : type 1, 2, 3 et 4**
>
> - Type 1 : les enfants débutent la maladie avant 6mois et en général décèdent avant 1an
> - Type 2 : la maladie commence avant 1an (donc il n'arrive pas à marcher, et on établit le diagnostic au moment où ils doivent marcher). Ces enfants ne marchent pas, ils n'ont pas de réflexes, ils ont une amyotrophie, une fasciculation (à rechercher au niveau de la langue aussi). Ces enfants ne bougent pas sauf au niveau céphalique où la mobilité est conservée et leurs capacités cognitives ne sont en rien altérées.
> - Type 3 : ils marchent et vont avoir un tableau ressemblant à une myopathie avec la démarche dandinant. Handicap moins prononcé avec un décès retardé.
> - Type 4 : forme adulte qui est encore moins sévère.

- **Informer les apparentés à risque de transmettre la maladie ou d'être atteint** :
  C'est au malade que revient la responsabilité d'informer les membres de sa famille

Processus du diagnostic d'une MNM



Les différentes techniques d'analyses moléculaires :

- Séquençage du gène : lire la succession de nucléotides et rechercher les mutations (ex : délétion)
- RT PCR : analyse ARNm (pas systématiquement fait) → Mutations dans régions introniques (et notamment les sites d'épissages)
- Analyse de liaison → recherche région homozygote en commun dans les différents cas de la famille (de moins en moins fait)
- Exome : séquençage de toutes les régions codantes (analyse de tous les gènes du génome, fiabilité assez importante mais on peut passer à côtés de certaines mutations comme les mutations introniques)
- Séquençage haut débit avec puces de recaptures (ciblage des gènes d'intérêt)

On repasse en revue les principales pathologies :

- **Maladies du motoneurone** : ASI, Maladie de Kennedy, SLA = maladie de Charcot (caractérisée par une atteinte du motoneurone central et périphérique où l'on retrouve 5 à 10% de forme familiale)
- **Maladies de Charcot-Marie-Tooth** : neuropathies classées en :
  - ➔ Démyélinisant : dominant CMT1a, DX, récessif
  - ➔ Axonale : dominant CMT2a, Dominant lié à l'X , récessif

  Puis on va croiser avec le mode de transmission !

- **Syndromes myasthéniques congénitaux :** ils sont un peu difficiles à diagnostiquer. Sur l'EMG, on va voir un tracé **décrément** avec des analyses qui trouvent rarement le gène mis en cause.
- **Les Canalopathies :** elles vont entrainer des **paralysies périodiques** (variabilité) ou des **myotonies** (non dystrophiques)

- **Myologie** : avec les Dystrophies, les Syndromes myotoniques, ou encore les Myopathies congénitales

Hétérogénéité et Dystrophie Musculaire :

L'Hétérogénéité souligne une expression différente malgré des caractères de base communs. Elle s'applique ici à 3 niveaux :
- Génétique → beaucoup de gènes impliqués
- Allélique → grande diversité de mutations
- Clinique → différentes formes clinques

Illustration avec les myopathies de Duchenne et de Becker : le même gène impliqué pour une expression différente de la pathologie :
- **Duchenne** : forme **sévère** associant perte de la marche vers 10ans et décès 20-30 ans (insuffisance cardiaque +++)
- **Becker** : forme **modérée** associant difficulté à la marche, espérance vie quasi-normale (absence d'insuffisance cardiaque)

C'est une des seules myopathies avec laquelle on envisage une thérapie génique basée justement sur cette différence entre Duchenne et Becker (protéine avec partie manquante chez Duchenne).

Sur quel principe fonctionne la thérapie génique ?

Thérapeutique qui consiste à **faire pénétrer des gènes dans les cellules** (ou les tissus) d'un individu via un vecteur viral pour traiter une maladie dans le but de **remplacer** ou complémenter un **allèle mutant** défectif :

- par un **allèle fonctionnel** ou à surexprimer
- une **protéine** dont l'activité aurait un impact thérapeutique

Plus facile à envisager dans les pathologies musculaires de part leur disponibilité (masse musculaire).

On va procéder à ce qu'on appelle : un **saut d'exon**.

- Ce saut d'exon consiste à raccorder l'ARNm afin d'éviter l'apparition de la mutation et donc du codon stop. On modifie ainsi l'épissage en formant une protéine plus courte mais fonctionnelle. On ne s'oriente **pas vraiment vers une guérison** mais vers le **passage d'un phénotype non fonctionnel à un actif.**

Diagnostic génétique à donc plusieurs visées:

- Pour soi même
- Mais aussi un conseil génétique pour la famille
- Améliorer les connaissances scientifiques